

Université de Montréal

**Étude électrophysiologique, pharmacologique et anatomique des mécanismes
impliqués dans la modulation de l'excitabilité des afférences fusoriales
du noyau mésencéphalique du trijumeau**

Par

Dorly Verdier

Département de Physiologie

Faculté de Médecine

Thèse présentée à la faculté des études supérieures

en vue de l'obtention du grade de

Philosophiae Doctor (Ph.D)

en sciences neurologiques

Juin 2004

©Dorly Verdier, 2004



W

4

U58

2005

V.004

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

Cette thèse intitulée :

**Étude électrophysiologique, pharmacologique et anatomique des mécanismes
impliqués dans la modulation de l'excitabilité des afférences fusoriales
du noyau mésencéphalique du trijumeau**

Présentée par:

Dorly Verdier

Sera évaluée par un jury composé des personnes suivantes:

| | |
|--------------------------|---------------------------|
| Dr Vincent Castellucci : | Président-rapporteur |
| Dr Arlette Kolta: | Directrice de recherche |
| Dr James P. Lund : | Co-directeur de recherche |
| Dr Serge Rossignol : | Membre du jury |
| Dr Kenneth C. Marshall : | Examineur externe |



RÉSUMÉ

Il est de plus en plus évident que le flux d'information se propageant des récepteurs sensoriels vers le système nerveux central subit une régulation constante par les circuits neuronaux qui génèrent les mouvements rythmiques. L'étude dont cette thèse est l'objet porte sur un groupe de neurones sensoriels primaires innervant les fuseaux neuromusculaires des muscles de fermeture de la mâchoire et ayant comme particularité d'avoir leurs corps cellulaires localisés à l'intérieur du système nerveux central dans le noyau mésencéphalique du trijumeau. Au sein du noyau, ces neurones sont contactés par des boutons contenant une variété de neurotransmetteurs et établissent des jonctions électrotoniques entre eux. Des études précédentes ont démontré que l'excitabilité de ces neurones était modulée pendant la mastication fictive (Kolta *et al.* 1990, Westberg *et al.* 2000) et qu'ils semblaient fonctionnellement compartimentalisés en ce sens qu'une partie du neurone semblait agir en tant qu'interneurone pendant la mastication fictive (Kolta *et al.* 1995, Westberg *et al.* 2000).

Les résultats de la présente étude suggèrent que la compartimentalisation fonctionnelle de ces neurones sensoriels pourrait être réalisée via l'activation des récepteurs GABA_A résultant de l'activation d'interneurones GABAergiques locaux lesquels forment des synapses GABAergiques localisées, non pas aux terminaisons, mais sur l'arbre axonal lui-même. Cette étude fournit également la première description de potentiels postsynaptiques dans ces neurones sensoriels primaires suite à l'activation des aires adjacentes. Ces potentiels pour la plupart consistaient en des potentiels postsynaptiques excitateurs médiés par l'activation des récepteurs glutamatergiques

NMDA et non-NMDA. Très souvent, ces réponses conduisaient à la génération de potentiels d'action. Finalement, les résultats démontrent que les inputs synaptiques ont causé un rephasage et une augmentation de l'amplitude des oscillations membranaires présentes dans ces neurones, suscitant même parfois une décharge répétitive. L'ensemble de ces résultats démontre que l'excitabilité de ces neurones sensoriels primaires est précisément régulée par les neurones qui composent le GPC suggérant qu'ils ne sont pas de simples relais de l'information sensorielle, mais qu'ils peuvent jouer un rôle intégratif crucial dans la genèse des patrons masticatoires.

Mots clés : Afférences primaires, inhibition présynaptique, décharge antidromique, mastication, génération de patron central, inputs synaptiques, fuseaux neuromusculaires, noyau mésencéphalique du trijumeau, oscillations du potentiel membranaire.

ABSTRACT

There is increasing evidence that the stream of information propagating from the sensory receptors towards the central nervous system are under constant regulation by the neuronal circuits which generate rhythmic movements. The present study concerns a group of primary sensory neurons innervating the muscle spindles of the jaw closing muscles that have their cell bodies located inside the central nervous system in the mesencephalic trigeminal nucleus. Within this nucleus, these neurons are contacted by boutons containing a variety of neurotransmitters and establish electrotonic connections among themselves. Previous studies demonstrated that the excitability of these neurons is modulated during fictive mastication (Kolta *et al.* 1990, Westberg *et al.* 2000) and that they seem to be functionally compartmentalized, in that a part of the neuron seems to act as an interneuron during fictive mastication (Kolta and al.1995, Westberg and al. 2000).

The results of the present study suggest that the functional compartmentalization of these sensory afferents could be caused by the activation of GABA_A receptors by local interneurons. These form synapses that are located, not on the central terminals of the afferents, but on the major branches of the axonal tree itself. This study also supplies the first description of postsynaptic potentials generated in these primary sensory neurons by activation of neighboring areas. Most of these potentials consisted of excitatory postsynaptic potentials mediated by the activation of glutamatergic NMDA and non-NMDA receptors. These synaptic inputs often led to the generation of action

potentials. They also increased the amplitude and reset the rhythm of oscillations present in these neurons, sometimes leading to repetitive firing. Together these results show that the excitability of these primary neurons is controlled by neurons that are part of the CPG suggesting that they are not simple relays of the sensory information, but that they can play a crucial integrative role in the generation of the masticatory pattern.

Keywords: Primary afferents, presynaptic inhibition, antidromic firing, mastication, central pattern generation, synaptic inputs, muscle spindle afferents, mesencephalic trigeminal nucleus, membrane potential oscillations.

TABLE DES MATIÈRES

| | |
|-------------------------------|------|
| RÉSUMÉ | III |
| ABSTRACT..... | V |
| LISTE DES TABLEAUX..... | XVI |
| LISTE DES FIGURES | XVII |
| LISTE DES ABBRÉVIATIONS | XIX |
| REMERCIEMENTS | XXII |

SECTEURS DE LA THÈSE

| | |
|---|-----|
| CHAPITRE I: INTRODUCTION..... | 1 |
| CHAPITRE II: PREMIÈRE PUBLICATION | 158 |
| CHAPITRE III: DEUXIÈME PUBLICATION..... | 188 |
| CHAPITRE IV: DISCUSSION GÉNÉRALE..... | 238 |

Premier Chapitre

INTRODUCTION

| | |
|--|-----------|
| 1. DESCRIPTION DE LA MASTICATION | 3 |
| 2. CONSIDÉRATIONS MÉTHODOLOGIQUES | 7 |
| 2.1 LES ÉTUDES <i>IN VIVO</i> | 7 |
| 2.2 LES MÉTHODES DE TRAÇAGE NEURO-ANATOMIQUE..... | 10 |
| 2.3 LES ÉTUDES <i>IN VITRO</i> | 13 |
| 3. LA MASTICATION EN LABORATOIRE | 15 |
| 4. INNERVATION ORO-FACIALE | 19 |
| 5. ORGANISATION DU TRONC CÉRÉBRAL | 21 |
| 6. LE NOYAU MOTEUR TRIGÉMINAL..... | 28 |
| 6.1 COMPOSITION DU NVMT..... | 28 |
| 6.2 PROPRIÉTÉS INTRINSÈQUES DES MOTONEURONES TRIGÉMINAUX..... | 30 |
| 6.3 INPUTS LOCAUX AU NVMT | 31 |
| 6.4 COMPORTEMENT DES MOTONEURONES TRIGÉMINAUX PENDANT LA MASTICATION. | 36 |
| 7. LE NOYAU MÉSENCÉPHALIQUE DU TRIJUMEAU | 41 |
| 7.1 COMPOSITION DU NVMES..... | 41 |
| 7.1.1 <i>Morphologie des corps cellulaires</i> | 41 |
| 7.1.2 <i>Classification fonctionnelle des neurones sensoriels du NVmes</i> | 43 |
| 7.1.2.1 Afférences fusoriales | 44 |

| | |
|---|----|
| 7.1.2.2 Afférences parodontales | 48 |
| 7.1.2.3 Afférences avec une double innervation périphérique | 50 |
| 7.2 PROPRIÉTÉS INTRINSÈQUES DES NEURONES SENSORIELS DU NVMES | 51 |
| 7.2.1 <i>Accommodation</i> | 52 |
| 7.2.2 <i>Rectification entrante</i> | 54 |
| 7.2.3 <i>Les oscillations membranaires</i> | 55 |
| 7.2.4 <i>Conductances calciques</i> | 57 |
| 7.3 INTERACTION CELLULAIRE DANS LE NVMES | 57 |
| 7.3.1 <i>Couplage électrotonique entre les neurones du NVmes</i> | 57 |
| 7.3.2 <i>Interaction synaptique entre les neurones du NVmes</i> | 59 |
| 7.4 PROJECTIONS CENTRALES DES NEURONES SENSORIELS DU NVMES..... | 60 |
| 7.4.1 <i>Projections centrales des afférences fusoriales du NVmes</i> | 60 |
| 7.4.2 <i>Projections centrales des afférences parodontales du NVmes</i> | 65 |
| 7.4.3 <i>Connexion entre les neurones sensoriels du NVmes et les motoneurones trigéminaux</i> | 67 |
| 7.5 AFFÉRENCES AU NVMES | 69 |
| 7.5.1 <i>Projections au NVmes</i> | 70 |
| 7.5.2 <i>Nature neurochimique des projections au NVmes</i> | 71 |
| 7.5.3 <i>Ultrastructure des terminaisons synaptiques dans le NVmes</i> | 79 |
| 7.5.4 <i>Récepteurs membranaires des neurones du NVmes</i> | 80 |
| 7.5.5 <i>Réponses physiologiques des neurones du NVmes</i> | 83 |
| 7.6 COMPORTEMENT DES NEURONES SENSORIELS DU NVMES PENDANT LA MASTICATION | 89 |

| | |
|--|------------|
| 8. LA FORMATION RÉTICULÉE DU TRONC CÉRÉBRAL ET LE CNST | 93 |
| 8.1 COMPOSITION DE LA FORMATION RÉTICULÉE ET DU CNST | 93 |
| 8.2 PROPRIÉTÉS INTRINSÈQUES DES NEURONES DE LA FORMATION RÉTICULÉE ET DU CNST | 95 |
| 8.3 INPUTS ET OUTPUTS DES NEURONES DE LA FORMATION RÉTICULÉE ET DU CNST ... | 98 |
| 8.3.1 <i>Inter-connectivité au sein de la formation réticulée et du CNST</i> | 98 |
| 8.3.2 <i>Input cortical</i> | 102 |
| 8.3.3 <i>Input périphérique</i> | 103 |
| 8.3.4 <i>Inputs convergents aux neurones de la formation réticulée et du CNST</i> | 107 |
| 8.3.5 <i>Inputs du raphé et de la PAG</i> | 108 |
| 8.3.6 <i>Output thalamique</i> | 109 |
| 8.3.7 <i>Output au NVmt</i> | 110 |
| 8.3.8 <i>Output aux noyaux moteurs NVII et XII</i> | 114 |
| 8.4 COMPORTEMENT DES NEURONES DE LA FORMATION RÉTICULÉE ET DU CNST PENDANT LA MASTICATION | 115 |
| 9. CONTRÔLE NEURONAL DE LA MASTICATION | 120 |
| 9.1 MODÈLES DE GPC MASTICATOIRE..... | 121 |
| 9.2 PHARMACOLOGIE DU GPC MASTICATOIRE | 133 |
| 10. FEEDBACK SENSORIEL ET MASTICATION..... | 136 |
| 11. LES MOUVEMENTS RÉFLEXES DE LA MÂCHOIRE | 139 |
| 11.1 NEUROPHYSIOLOGIE DES RÉFLEXES DE FERMETURE ET D'OUVERTURE DE LA MÂCHOIRE..... | 140 |

| | |
|---|------------|
| 11.1.1 <i>Neurophysiologie du réflexe de fermeture de la mâchoire</i> | 140 |
| 11.1.2 <i>Neurophysiologie du réflexe d'ouverture de la mâchoire</i> | 141 |
| 11.2 MODULATION DES RÉFLEXES DE LA MÂCHOIRE PENDANT LA MASTICATION | 145 |
| 12. INHIBITION PRÉSYPNAPTQUE ET DÉPOLARISATION DES | |
| AFFÉRENCES PRIMAIRES | 148 |
| 13. MODULATION DE L'EXCITABILITÉ DES AFFÉRENCES FUSORIALES | |
| DU NVMES PENDANT LA MASTICATION FICTIVE | 153 |
| 14. OBJECTIFS DE L'ÉTUDE | 155 |

Deuxième Chapitre: première publication

GABAERGIC CONTROL OF ACTION POTENTIAL PROPAGATION ALONG
AXONAL BRANCHES OF MAMMALIAN SENSORY NEURONS

| | |
|--|------------|
| ABSTRACT..... | 161 |
| MATERIALS AND METHODS | 164 |
| PREPARATION OF SLICES | 164 |
| ELECTROPHYSIOLOGY | 165 |
| DRUG APPLICATION | 166 |
| LABELLING | 167 |
| IMMUNOHISTOCHEMISTRY | 167 |
| RESULTS | 169 |
| CLOSE APPPOSITION OF IMMUNOREACTIVE GABAERGIC FIBERS AND CENTRAL AXONS | 169 |
| AXONAL APPLICATION OF GABA IMPEDES PROPAGATION OF ANTIDROMIC ACTION POTENTIAL | 169 |
| SOMATIC APPLICATIONS OF GABA PRODUCE DIFFERENT EFFECTS FROM AXONAL APPLICATIONS | 172 |
| DISCUSSION | 174 |
| FIGURE LEGENDS..... | 177 |
| REFERENCES..... | 184 |

Troisième Chapitre: deuxième publication**SYNAPTIC INPUTS TO TRIGEMINAL PRIMARY AFFERENT NEURONS
CAUSE FIRING AND MODULATE INTRINSIC OSCILLATORY ACTIVITY**

| | |
|---|------------|
| ABSTRACT | 191 |
| INTRODUCTION | 192 |
| METHODS | 194 |
| PREPARATION OF SLICES | 194 |
| ELECTROPHYSIOLOGY | 195 |
| DRUG APPLICATION | 195 |
| LABELING | 196 |
| ANALYSIS | 196 |
| RESULTS | 198 |
| ANATOMY..... | 198 |
| ELECTROPHYSIOLOGICAL PROPERTIES | 198 |
| RESPONSES TO STIMULATION | 200 |
| <i>Action potentials caused by direct stimulation of the axon</i> | 200 |
| <i>Synaptic responses</i> | 201 |
| Monophasic PSPs | 202 |
| Synaptic action potentials | 203 |
| Biphasic PSPs | 204 |
| Effects on oscillatory activity | 205 |

| | |
|--|------------|
| DISCUSSION | 208 |
| INTRINSIC PROPERTIES | 208 |
| COUPLING | 209 |
| SYNAPTIC INPUTS..... | 209 |
| MONOPHASIC DEPOLARIZING POTENTIALS | 209 |
| BIPHASIC POTENTIALS | 211 |
| SYNAPTIC ACTION POTENTIALS..... | 212 |
| EFFECT OF PSPs ON INTRINSIC OSCILLATIONS | 214 |
| FUNCTIONAL IMPLICATIONS OF SYNAPTIC INPUTS TO NVMES NEURONS..... | 215 |
| FIGURE LEGENDS | 217 |
| REFERENCES | 230 |

Quatrième Chapitre
DISCUSSION GÉNÉRALE

| | |
|--|------------|
| 1. CONTRÔLE DE LA PROPAGATION DES POTENTIELS D’ACTION PAR DES SYNAPSES GABAERGIQUES AXONALES | 240 |
| 1.1 MÉCANISMES D’ACTION DU GABA | 242 |
| 1.2 APPLICATIONS SOMATIQUES VERSUS APPLICATIONS AXONALES DU GABA | 244 |
| 1.3 RÔLE FONCTIONNEL DES SYNAPSES GABAERGIQUES AXONALES..... | 246 |
| 1.3.1 <i>Identification des groupes neuronaux responsables de la décharge antidromique et de la compartimentalisation.....</i> | <i>247</i> |
| 1.3.2 <i>Objectifs de la compartimentalisation et des décharges antidromiques</i> | <i>250</i> |
| 1.4 INHIBITION PHASIQUE | 254 |
| 1.5 EXPÉRIENCES PROPOSÉES | 257 |
| 2. INPUTS SYNAPTIQUES AUX NEURONES DU NVMES | 261 |
| 2.1 MODULATION DU COUPLAGE ÉLECTROTONIQUE | 262 |
| 2.2 MODULATION DES PROPRIÉTÉS INTRINSÈQUES DES NEURONES DU NVMES..... | 265 |
| 2.2.1 <i>Modulation du courant I_h.....</i> | <i>265</i> |
| 2.2.2 <i>Modulation des oscillations membranaires.....</i> | <i>267</i> |
| 2.2.3 <i>Modulation des propriétés d’accommodation</i> | <i>268</i> |
| 2.3 EXPÉRIENCES PROPOSÉES | 269 |
| 3. CONCLUSIONS | 271 |
| RÉFÉRENCES..... | 274 |

LISTE DES TABLEAUX

Deuxième chapitre

SYNAPTIC INPUTS TO TRIGEMINAL PRIMARY AFFERENT NEURONS
CAUSE FIRING AND MODULATE INTRINSIC OSCILLATORY ACTIVITY

Table I : Responses of NVmes neurons to stimulation of adjacent areas.....221

LISTE DES FIGURES

Premier chapitre

| | |
|---|-----|
| Figure 1 : Les muscles de la mâchoire | 6 |
| Figure 2 : Exemple d'un set-up expérimental pour une étude <i>in vivo</i> | 9 |
| Figure 3 : Noyaux sensoriels et moteurs du système trigéminal | 25 |
| Figure 4 : Représentation d'une tranche transverse du tronc cérébral au niveau du pont | 27 |
| Figure 5 : Fluctuations du potentiel membranaire des motoneurones trigéminaux pendant le cycle masticatoire | 40 |
| Figure 6 : Projections centrales des afférences fusoriales trigéminales | 63 |
| Figure 7 : Inputs synaptiques aux neurones du NVmes..... | 78 |
| Figure 8 : Patron d'activité des muscles et des afférences sensorielles trigéminales pendant la mastication..... | 92 |
| Figure 9 : Organisation schématique des connections entre les neurones de PériV et PCRt | 101 |
| Figure 10 : Localisation du générateur de patron central masticatoire chez le cochon d'inde. | 124 |
| Figure 11 : Modèles précédents de générateur de patron central masticatoire..... | 126 |
| Figure 12 : Modèle actuel du générateur de patron central masticatoire | 132 |
| Figure 13 : Les réflexes d'ouverture et de fermeture de la mâchoire | 144 |

Deuxième chapitre

GABAERGIC CONTROL OF ACTION POTENTIAL PROPAGATION ALONG AXONAL BRANCHES OF MAMMALIAN SENSORY NEURONS

| | |
|--|-----|
| Figure 1 : Functional compartmentalization of jaw-closing muscle spindle afferents (from Kolta <i>et al.</i> 1995; Westberg <i>et al.</i> 2000)..... | 180 |
| Figure 2 : Illustration of the preparation used for recordings..... | 181 |
| Figure 3 : Block of conduction of antidromic action potentials..... | 182 |
| Figure 4 :Differences between somatic and axonal applications of GABA that cause depolarisation | 183 |

Deuxième chapitre (suite)

SYNAPTIC INPUTS TO TRIGEMINAL PRIMARY AFFERENT NEURONS CAUSE FIRING AND MODULATE INTRINSIC OSCILLATORY ACTIVITY

| | |
|--|-----|
| Figure 1 : Photomicrographs of NVmes neurons filled with neurobiotine. | 222 |
| Figure 2 : Electrophysiological properties of NVmes neurons | 223 |
| Figure 3 : Short-latency action potentials | 224 |
| Figure 4 : Monophasic depolarizing potentials | 225 |
| Figure 5 : Monophasic depolarizing potentials with slower kinetics | 226 |
| Figure 6 : All or none synaptic action potentials | 227 |
| Figure 7 : Characterization of biphasic PSPs | 228 |
| Figure 8 : Synaptic effects on membrane oscillations | 229 |

LISTE DES ABRÉVIATIONS

| | |
|----------|---|
| 4-AP : | 4-aminopyridine |
| 5-HT : | sérotonine |
| ACM : | aire corticale de la mastication |
| ACSF : | liquide cérébro-spinal artificiel |
| ADP : | après-dépolarisation |
| AHP : | après-hyperpolarisation |
| AMPA : | acide alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionique |
| APV : | D,L-2-amino-5-phosphonovaleric acid |
| BDA : | dextran amine biotynilée |
| ChAT: | choline acétyltransférase |
| CNST : | complexe nucléaire sensoriel du système trigéminal |
| CTB : | sous-unité B de la choléra toxine |
| CT-HRP : | “ <i>cholera toxin-coupled HRP</i> ” |
| DAP : | dépolarisation des afférences primaires |
| DiI : | 1,1'-dioctadecyl-3,3,3',3'-tetra-methylindocarbocyanine |
| DNQX : | 6,7-dinitro-quinoxaline |
| DY : | diamidino yellow |
| EMG : | électromyogramme |
| FB : | fast blue |
| GABA : | acide gamma-aminobutyrique |
| GAD : | acide glutamique décarboxylase |

| | |
|------------------|--|
| GC : | noyau gigantocellulaire |
| GPC : | générateur de patron central |
| GT : | ganglions trigéminaux |
| GRD : | ganglions des racines dorsales |
| HRP : | Peroxydase du Raifort |
| IntV : | région inter-trigéminale |
| KA : | kainate |
| mPeriV : | région peri-trigéminale médiane |
| NO : | oxide nitrique |
| NVII : | noyau facial |
| NVmes : | noyau mésencéphalique trigéminal |
| NVmt : | noyau moteur trigéminal |
| NVsnpr : | noyau trigéminal sensoriel principal |
| NVsp : | noyau spinal du trijumeau |
| NVspc : | sous-noyau caudalis du noyau spinal du trijumeau |
| NVspi : | sous-noyau interpolaris du noyau spinal du trijumeau |
| NVspo : | sous-noyau oralis du noyau spinal du trijumeau |
| NXII : | noyau hypoglosse |
| NMDA : | N-méthyl-D,L-aspartate |
| nPontC : | noyau pontis caudalis |
| PAG : | substance grise péri-aqueductale |
| PCRt : | formation réticulée parvocellulaire |
| PCRt- α : | la partie latérale de la formation réticulée parvocellulaire |
| PGC : | noyau paragigantocellulaire |

| | |
|-----------|---|
| PeriV : | région péri-trigéminal |
| PHA-L : | phaseolus vulgaris-leucoagglutinin |
| PPSE : | potentiel post-synaptique excitateur |
| PPSI : | potentiel post-synaptique inhibiteur |
| SCh : | succinylcholine |
| SLD : | short latency depolarization |
| TEA : | tetraethylammonium |
| TH : | tyrosine hydroxylase |
| TRDA : | dextran amine tetraméthylrhodamine |
| TTX: | térodotoxine |
| VPM : | noyau ventropostéromédian du thalamus |
| WGA-HRP : | <i>“Wheat germ agglutinin- coupled HRP”</i> |

Remerciements

Il est des expériences de vie qui augmentent notre niveau de conscience et font de nous des individus, sinon meilleurs, à tous le moins mieux outillés pour faire face aux nombreux défis qui jalonnent l'existence humaine. Cela vient de ce que ces expériences contribuent à façonner notre personnalité en nous apprenant à reconnaître et à tableur sur nos forces, à développer des stratégies pour surmonter certaines limites découlant de nos incapacités, à cerner nos priorités de vie et, à acquérir une certaine forme de discipline sans laquelle aucune réalisation importante ne peut être achevée. Le doctorat constitua pour moi une telle expérience. Pendant mon parcours, j'ai eu des modèles, des amis et des conseillers qui m'ont inspirée, aidée, soutenue. Je tiens ici à les remercier.

En tout premier lieu, je remercie Dieu duquel j'ai puisé une motivation et un courage de chaque jour qui m'ont permis de persévérer même à travers les moments plus difficiles.

Je remercie également Jean-Pierre, mon époux et ami, non seulement pour sa patience mais aussi du fait qu'il a toujours cru en ma réussite et qu'il s'est appliqué à faire tout ce qui est en son pouvoir pour en faciliter la réalisation. Merci de tout cœur!

Je remercie ma directrice et mon directeur de recherche, Dr Arlette Kolta et Dr James Lund, qui ont constitué pour moi des modèles inspirants. Tout au cours de mon doctorat, leur disponibilité, leurs nombreux conseils et leur participation active à toutes les étapes de ma formation, de la mise au point du projet de recherche jusqu'à l'écriture des deux articles, m'ont permis de comprendre que j'avais en eux des guides hors pairs.

Néanmoins, c'est à travers la lecture de la littérature qui a contribué à l'écriture de cette thèse que j'ai réalisé toute l'ampleur de leur contribution au domaine de recherche, l'originalité de leurs démarches expérimentales ainsi que la justesse de leurs raisonnements sur plusieurs fronts de recherche. Je les remercie humblement de m'avoir ouvert la porte de leurs laboratoires et de m'avoir guidée dans mon apprentissage.

Je tiens à remercier Marie-Josée Bourque qui m'a initiée à l'enregistrement intracellulaire et dont je souligne l'extrême compétence.

Je remercie également Sarah Meddahi, mon amie et confidente qui m'a accompagnée sur une bonne partie du parcours.

Je remercie Louise Grondin, notre technicienne dévouée et efficace, dont la bonne disposition, la gentillesse et l'aide technique m'ont été plus que précieuses.

Et finalement, je remercie les membres de mon comité de parrainage, Dr Réjean Dubuc et Dr Vincent Castellucci, pour leurs conseils et pour l'intérêt qu'ils ont manifesté dans ma formation.

Premier Chapitre

INTRODUCTION

L'information sensorielle acheminée par les afférences primaires n'a pas pour unique fonction de renseigner l'organisme des propriétés de l'environnement dans lequel il évolue, mais peut même, via les voies réflexes, avant même toute perception consciente, initier les comportements moteurs. Il s'avère donc essentiel, afin d'éviter que des mouvements involontaires ne viennent perturber le déroulement harmonieux des mouvements amorcés, que les circuits neuronaux qui génèrent les mouvements rythmiques soient en mesure d'exercer un certain contrôle sur le feedback sensoriel permettant un ajustement du gain des réflexes. En fait, en ce qui concerne le système trigéminal, une telle modulation du feedback sensoriel se révèle particulièrement capitale puisque la région orofaciale participe à des activités aussi variées que la perception de l'environnement, la communication et l'ingestion alimentaire, toutes importantes pour la survie. Cette thèse porte sur la modulation de l'excitabilité d'une sous-population d'afférences sensorielles dont la particularité est la position centrale de leurs corps cellulaires à l'intérieur du tronc cérébral. Ces neurones innervent les fuseaux neuromusculaires des muscles de fermeture de la mâchoire et de ce fait, agissent comme des senseurs fournissant un feedback de la longueur des muscles, de la position de la mâchoire et de la vitesse des mouvements aux motoneurones de fermeture de la mâchoire et aux neurones des circuits neuronaux qui génèrent le rythme masticatoire. Il existe des évidences que l'excitabilité de ces afférences primaires est phasiquement modulée pendant la mastication, mais le mécanisme de cette modulation n'a pas encore été élucidé. L'étude dont cette thèse est l'objet, tente de faire la lumière sur ce point.

Dans un premier temps, une revue de la littérature sera entreprise dans laquelle nous allons aborder les concepts généraux qui permettront de comprendre la mastication

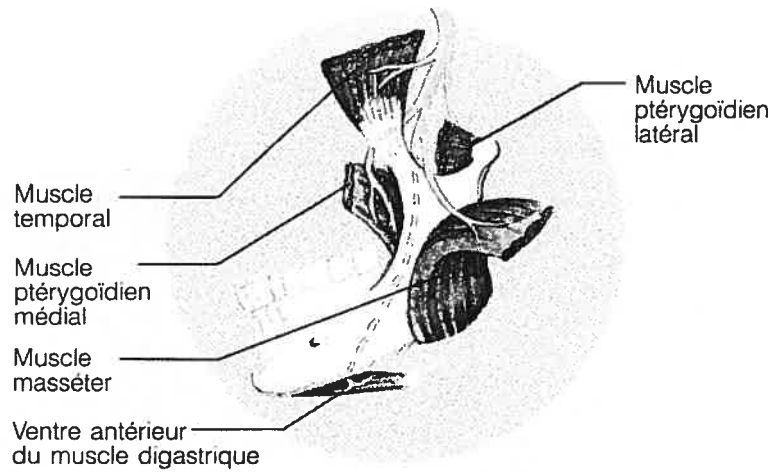
et d'identifier les groupes neuronaux impliqués dans ce comportement oro-moteur. Dans ce volet, nous nous attarderons sur la littérature concernant les afférences du NVmes et apporterons des précisions sur les propriétés intrinsèques de ces neurones, leurs inputs et outputs ainsi que sur leur comportement pendant la mastication. Toujours dans ce volet, nous nous intéresserons aux groupes neuronaux adjacents afin de déterminer leurs propriétés intrinsèques et de connectivité ainsi que leur comportement pendant la mastication. En dernier lieu, nous présenterons les évidences d'une modulation de l'excitabilité des afférences fusoriales des muscles de fermeture de la mâchoire. Le corps de la thèse est constitué de deux articles exposant les résultats de l'étude. Le dernier chapitre consiste en une discussion générale dans laquelle les résultats de l'étude seront interprétés et mis en contexte avec les connaissances générales et dans laquelle également des expériences faisant suite au projet actuel seront proposées.

1. DESCRIPTION DE LA MASTICATION

La mastication, qui représente la phase orale de la digestion, est un mouvement si naturel qu'il ne semble nécessiter aucun apprentissage conscient. Cependant, ce mouvement rythmique ne paraît simple que tant que l'on ne s'arrête pas à l'analyser, parce qu'alors, on réalise que le système masticatoire est capable d'élaborer un certain nombre de patrons complexes pour permettre le traitement d'aliments de différentes tailles et textures. Ce comportement oro-moteur nécessite une interaction complexe et coordonnée entre les muscles masticatoires, faciaux et linguaux en vue de permettre le positionnement, l'incision, la réduction, la trituration et la déglutition des aliments.

Néanmoins, dans sa forme la plus simple, la mastication est souvent définie comme l'ouverture et la fermeture alternée de la mâchoire résultant de la contraction des muscles masticatoires. Chez les mammifères, il y a trois groupes de muscles qui réalisent la fermeture de la mâchoire (les muscles temporalis, masséters et ptérygoïdes médians et latéraux) et deux groupes de muscles qui en permettent l'ouverture (les muscles digastriques antérieurs et mylohyoïdes). Ces muscles sont organisés bilatéralement et permettent de mouvoir la mandibule relativement à l'articulation temporomandibulaire. La disposition des muscles masticatoires par rapport à la mandibule chez l'humain est illustrée à la figure 1. La mastication est plus communément décrite chez le lapin du fait que c'est l'animal qui présente le mouvement le plus naturel dans les conditions expérimentales. L'analyse suivante est tirée de la revue de Lund (1991) et décrit les phases de la mastication chez cet animal. À l'examen, il apparaît que du moment que la nourriture a été ingérée jusqu'au moment où elle est prête pour la déglutition, les lapins utilisent trois types basiques de cycles qui diffèrent en forme, en durée et en nombre de phases. Le premier type de cycle consiste en des séries préparatoires. Ces séries servent à positionner la nourriture sur les dents postérieures à l'aide de la langue. Elles contiennent deux phases, une phase d'ouverture et une phase de fermeture rapide et présentent peu de mouvements latéraux. Dès l'instant que la nourriture est positionnée entre les dents, les séries de réduction visant à briser les aliments en fines particules débutent. Cette étape, chez plusieurs espèces dont l'homme, contient 3 phases : une phase d'ouverture, une phase de fermeture lente, et une phase de fermeture rapide. Étant donné que la plupart des animaux mastiquent de façon unilatérale, la mâchoire présente un mouvement latéral vers le côté en travail pendant la fermeture rapide. La phase de fermeture lente commence avec la

décélération qui se produit alors que les dents pénètrent dans la nourriture. Les muscles de fermeture ne sont pas très actifs pendant la fermeture rapide, mais l'activité dans ces muscles augmente rapidement dans les millisecondes qui suivent le début de la fermeture lente et cette activité continue d'augmenter pendant la première moitié de cette phase. Alors que la mâchoire inférieure se déplace médialement pendant la fermeture lente, la nourriture est écrasée entre les molaires supérieures et inférieures. L'amplitude verticale du mouvement diminue graduellement pendant les séries de réduction au fur et à mesure que les particules de nourriture deviennent de plus en plus petites. Ultiment, cette étape, sous l'action de la salive, conduit à la génération du bol alimentaire. L'étape de pré-déglutition vise à positionner la bouchée de nourriture à l'arrière de la cavité orale et présente 5 phases : les phases de fermeture rapide et lente et trois phases d'ouverture. Il est important de préciser, à cette étape, que dans la majorité des études consultées qui seront citées dans cette revue de littérature, la mastication fait référence le plus souvent aux séries de mouvements de l'étape de la réduction et comporte donc trois phases. Dans la prochaine section, nous allons nous familiariser avec les différentes approches qui ont été utilisées dans l'étude du contrôle neuronal de la mastication.

Figure 1

Branches motrices du nerf
mandibulaire (V_3)

Les muscles de la mâchoire
Marieb 1993

2. CONSIDÉRATIONS MÉTHODOLOGIQUES

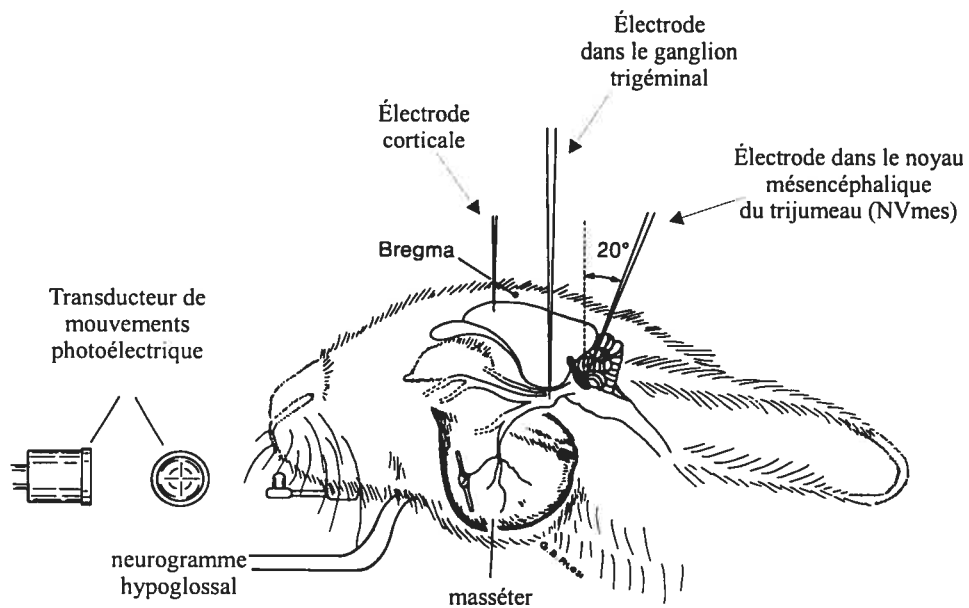
Les mécanismes neuronaux qui génèrent et contrôlent les mouvements rythmiques de la mâchoire et les mouvements réflexes impliquant les muscles masticateurs ont été investigués avec une panoplie de techniques. Cette section servira à présenter brièvement les différentes procédures expérimentales employées pour caractériser la circuiterie du tronc cérébral impliquée dans la génération des patrons et qui ont fourni une description des décharges neuronales pendant l'exécution des mouvements.

2.1 Les études *in vivo*

La majorité des éléments recueillis sur le contrôle neuronal de la mastication ont été obtenus lors d'études *in vivo* sur des animaux adultes anesthésiés. Ces études emploient plus communément le lapin, le cochon d'inde, le chat et le rat. Au cours de ces études, l'animal anesthésié est placé dans un appareil stéréotaxique et, des électrodes sont insérées dans les muscles de la mâchoire pour enregistrer leur activité électromyographique (EMG). Parfois, un transducteur de mouvement, le plus souvent un capteur photoélectrique, est utilisé comme moniteur des mouvements masticatoires à l'aide d'une source lumineuse fixée sur le menton de l'animal. Généralement, lorsque requise, la mastication est évoquée par une stimulation électrique répétitive de certaines régions du cerveau. Également, des électrodes de stimulation sont insérées dans les nerfs isolés chirurgicalement en périphérie pour activer de façon sélective différents types de fibres afférentes. Certaines études stimulent plusieurs nerfs différents.

Conjointement, des enregistrements extra ou intracellulaires sont obtenus de populations neuronales à l'intérieur du tronc cérébral à l'aide de micro-électrodes positionnées selon des coordonnées stéréotaxiques suite à une craniotomie exposant la surface du tronc cérébral concernée. Assez souvent, en plus des coordonnées stéréotaxiques, la stimulation des nerfs en périphérie peut permettre de localiser avec précision la position de certains noyaux. Par exemple, lors d'un enregistrement d'un motoneurone, la stimulation électrique du nerf qui dessert le muscle qu'il innerve va évoquer un potentiel d'action qui sera conduit dans l'axone et qui va envahir le soma. Une telle activation directe constitue un critère électrophysiologique fiable du positionnement correct de l'électrode d'enregistrement. Étant donné que les afférences fusoriales examinées dans cette étude ont leurs corps cellulaires positionnés centralement, ce critère est communément utilisé pour les identifier. Un autre critère d'identification repose sur la réponse physiologique à une stimulation sensorielle appropriée. Par exemple, les neurones de second ordre qui reçoivent un input cutané vont décharger lorsque leur champs récepteur sur la peau est stimulé. De même, les afférences fusoriales déchargent lorsque le muscle qu'elles innervent est étiré ou palpé. Au cours de ces expériences *in vivo*, des substances pharmacologiques peuvent être administrées de façon systémique, par des injections intra-péritonéales ou intraveineuses, ou localement par microiontophorèse, dans le but de moduler l'activité des neurones étudiés ou d'affecter les mouvements masticatoires. La figure 2 tirée de l'étude de Kolta *et al.* (1990) illustre un exemple intéressant de ce genre de préparation.

Figure 2



Exemple d'un set-up expérimental utilisé au cours d'une étude *in vivo*. Une électrode de stimulation est positionnée dans l'aire masticatoire corticale pour induire la mastication. Une autre électrode est positionnée dans le NVmes pour permettre des enregistrements extracellulaires. Une troisième électrode est positionnée dans le ganglion trigéminal pour les stimulations périphériques. On peut voir schématisé, l'axone d'une afférence innervant un fuseau neuromusculaire dans le muscle masséter. La palpation du muscle permet l'identification des afférences fusoriales lors des enregistrements extracellulaires dans le NVmes. Dans cette expérience, l'activité masticatoire rythmique est enregistrée dans le nerf hypoglosse. *Kolta et al. (1990)*.

2.2 Les méthodes de traçage neuro-anatomique

Dans les études consultées traitant du contrôle neuronal de la mastication, divers traceurs sont utilisés. Les plus communément employés sont la peroxydase du Raifort (HRP) et ses conjugués («*Wheat germ agglutinin- coupled HRP*» (WGA-HRP) et «*Cholera toxin- coupled HRP*» (CT-HRP)), le phaseolus vulgaris-leucoagglutinin (PHA-L), la sous-unité B de la choléra toxine (CTB), les dextrans amines biotynilées (BDA), la biotinamide et la biocytine. Des traceurs fluorescents sont aussi communément utilisés tels que le fast blue (FB), le diamidino yellow (DY), la dextran amine tetraméthylrhodamine (TRDA). Des virus neurotrophiques sont également utilisés pour tracer des chaînes de neurones et ainsi étudier les connections multi-synaptiques qui composent un circuit. Plusieurs revues sont disponibles qui décrivent les protocoles d'utilisation de ces traceurs dans le marquage des voies neuronales chez les mammifères (Angellucci *et al.* 1996; Brandt et Apkarian 1992; Babic *et al.* 1994; Vercelli *et al.* 2000).

Certains de ces traceurs se prêtent aussi bien à des protocoles d'injection intracellulaire qu'extracellulaire. Et, quoique la plupart d'entre eux permettent un marquage rétrograde et antérograde, un traceur donné voyage souvent mieux dans une direction que dans l'autre. Par exemple, la HRP permet de marquer aussi bien rétrogradement qu'antérogradement, alors que la PHA-L et la WGA-HRP sont surtout efficaces dans la direction antérograde. Plusieurs méthodes sont employées pour injecter ou appliquer le traceur. Pour marquer les neurones à l'intérieur du système

nerveux central lors des études *in vivo*, une micro-électrode contenant le traceur dissout dans une solution saline permettant des enregistrement électrophysiologiques est positionnée à l'aide des coordonnées stéréotaxiques et le traceur est injecté par microiontophorèse. Cette injection peut se faire extracellulairement ou intracellulairement. Lors des injections intracellulaires une chute de potentiel membranaire démontre que l'on a pénétré la cellule qui est alors caractérisée électrophysiologiquement et injectée. Pour marquer les terminaisons des afférences primaires et être à même de localiser leurs sites de projection dans le système nerveux central, ou pour marquer les corps cellulaires des motoneurones, des injections ou des applications de traceurs peuvent être effectuées à l'aide d'une micro-seringue ou d'une micro-pipette dans les ganglions ou dans les tissus en périphérie. Parfois, les nerfs sont tout simplement sectionnés et placés dans la solution contenant le traceur.

Après un temps de survie qui dépend du traceur employé, les animaux sont perfusés et le tissu cérébral est sectionné, les procédures histochimiques de révélation du traceur sont alors effectuées. Les coupes peuvent ensuite être examinées en microscopie photonique pour étudier l'arbre dendritique, la forme la taille des corps cellulaires, pour déterminer les sites de projections et pour détecter des appositions entre des boutons terminaux marqués et des neurones postsynaptiques. L'utilisation de la microscopie électronique permet de connaître l'ultrastructure des terminaisons, de démontrer les spécialisations synaptiques et de localiser de façon précise les sites de contact sur l'élément postsynaptique. La microscopie électronique permet d'effectuer une analyse qualitative (forme des vésicules, symétrie de la connection, etc...) et quantitative

(nombre de boutons sur le soma, les dendrites, taille des boutons, etc...) détaillée en vue d'une caractérisation précise de la connection synaptique dans un micro-circuit donné.

Parfois, plusieurs traceurs sont utilisés simultanément qui peuvent être distingués par la taille, la couleur et la texture de leurs produits de réaction. Par exemple, dans l'étude de Luo et Dessem (1999), le marquage rétrograde des motoneurones trigéminaux par une injection de HRP dans le muscle a été combiné au marquage d'une afférence fusoriale par une injection intracellulaire de biotinamide, ce qui a permis de déterminer et de caractériser la projection monosynaptique de cette afférence sur un motoneurone dûment identifié.

Finalement, lorsque combinées à des techniques de marquages immunologiques, ces techniques de traçage neuro-anatomique fournissent des éléments d'information utiles pour la caractérisation des propriétés neurochimiques des voies neuronales. En effet, il est possible de cette manière de retracer l'origine d'un input d'une nature neurochimique spécifique. Il est possible également, en utilisant des anticorps contre plusieurs neurotransmetteurs, d'estimer la proportion relative d'input excitateur et inhibiteur que reçoit un groupe de neurone spécifique. De même, il est possible de marquer les récepteurs membranaires, les sous-unités ou les protéines qui les composent sur un groupe de neurones spécifique.

2.3 Les études *in vitro*

Bien que des progrès importants ont été réalisés dans les recherches utilisant les préparations *in vivo*, une caractérisation détaillée de la contribution des propriétés membranaires intrinsèques aux patrons moteurs rythmiques ou de leur modulation par les neurotransmetteurs est difficilement réalisable dans ce genre de préparation. Les principales limitations techniques des préparations *in vivo* viennent de la difficulté à maintenir des enregistrements intracellulaires de longue durée dans les neurones à cause des pulsations dues à la respiration et la pression sanguine et, de l'incapacité d'exercer un contrôle précis de l'environnement extracellulaire par des manipulations pharmacologiques tout en maintenant des conditions stables. Également, il est difficile d'être assuré de cibler la bonne population neuronale lorsque les coordonnées stéréotaxiques constituent le seul critère de positionnement disponible dans les cas où le neurone enregistré ne peut être activé directement. Le développement de la technique des tranches cérébrales a permis de surmonter ces difficultés techniques. S'il est vrai que cette préparation se révèle réductionniste, il n'en reste pas moins que ce niveau d'investigation est nécessaire pour comprendre comment s'effectue le contrôle des patrons de décharge, car les réponses électriques des neurones sont déterminées par les propriétés intrinsèques de leur membrane.

Lors des études *in vitro* sur des tranches de tronc cérébral, celui-ci est sectionné en tranches de 300 à 400 μm dans une solution rappelant la composition du liquide cébrospinal (aCSF) qui est refroidie et oxygénée. Les tranches sont ensuite placées dans une chambre d'enregistrement et constamment perfusées avec l'aCSF oxygéné.

Des enregistrements extra et intracellulaires sont obtenus à l'aide de micro-pipettes remplies d'une solution saline concentrée ou d'une solution à base de potassium respectivement. Des électrodes de stimulations sont aussi utilisées pour évoquer des réponses antidromiques et synaptiques dans les neurones enregistrés et ainsi caractériser la connectivité dans un circuit donné. Des substances pharmacologiques peuvent être appliquées dans le bain ou localement pour affecter la transmission synaptique et/ou l'excitabilité neuronale en bloquant ou en activant certains récepteurs ou canaux ioniques de la membrane neuronale. Les enregistrements intracellulaires peuvent également être combinés avec des injections de traceur. Par exemple, le marquage intracellulaire permet l'identification et la caractérisation anatomique des neurones enregistrés au cours d'une expérimentation. Une autre application intéressante par exemple, est la possibilité de travailler sur des neurones identifiés marqués de façon rétrograde au préalable par une injection de traceur dans les tissus en périphérie comme c'est le cas dans les deux études incluses dans cette thèse.

D'autres études *in vitro* utilisent des préparations de tronc cérébral entier isolé de rats postnataux (de 0 à 3 jours généralement). Cette préparation est intéressante du fait qu'elle conserve l'intégrité d'une plus grande partie des réseaux neuronaux que ne le permet la préparation de tranches de tronc cérébral. Elle favorise aussi un contrôle plus absolu du milieu extracellulaire que ne le permet la préparation *in vivo*. Toutefois, la faiblesse de cette préparation vient de ce qu'elle nécessite de jeunes animaux dont les circuits ne sont pas encore arrivés à maturité. De ce fait, il est difficile de déterminer si les résultats obtenus dans ces études peuvent être extrapolés à l'adulte. À cet égard, pour ce qui est de la mastication, Westneat et Hall (1992) ont enregistré l'activité EMG

de plusieurs muscles de la mâchoire de rats âgés de 6 à 21 jours et ont trouvé que des EMGs dont les paramètres évoquant la mastication apparaissent à l'âge de 12 jours. Ces activités EMG mûrissent vers le patron adulte autour de 18 à 21 jours. Par conséquent, il paraît évident que les circuits neuronaux qui contrôlent la mastication sont encore très immatures entre les jours postnataux 0 à 3.

Toutes ces techniques d'investigations ont apporté des contributions importantes qui ont permis de mieux cerner les circuits neuronaux à la base des comportements oro-moteurs. En principe, les différentes approches présentées dans cette section se complètent. Par exemple, la révélation d'une connection entre deux groupes de neurones spécifiques par une méthode de traçage neuro-anatomique va conduire à la mise au point d'une procédure expérimentale *in vivo* ou *in vitro* qui fournira une confirmation physiologique des données anatomiques et permettra une caractérisation de cette connection par des techniques électrophysiologiques, immunohistochimiques et pharmacologiques appropriées.

3. LA MASTICATION EN LABORATOIRE

Expérimentalement, la façon plus commune d'inciter des mouvements rythmiques de la mâchoire et de la langue ressemblant à de la mastication est la stimulation répétitive d'une région du cortex nommée aire corticale masticatoire (ACM) (Bremer 1923; Rioch 1934; Ferrier 1986; Kawamura et Tsukamoto 1960; Sumi 1969; Dellow et Lund 1971). Cette aire est située en-dessous du cortex moteur primaire dans la partie la plus inférieure du gyrus pré-central chez les humains (Foerster 1931) et les

singes (Luschei *et al.* 1971), dans le gyrus orbital chez les chats (Magoun *et al.* 1933; Morimoto et Kawamura 1973), et sur la surface rostrolatérale du lobe frontal chez les lapins (Kawamura et Tsukamoto 1960; Sumi 1970). Les expériences démontrent que les mouvements masticatoires sont représentés kinésiotopiquement sur la surface corticale et que des sites différents de stimulation peuvent évoquer des patrons masticateurs différents (Bremer 1923, Lund *et al.* 1984b). Par exemple, des mouvements masticatoires présentant une amplitude verticale très grande peuvent être évoqués dans un site, alors qu'un autre site va évoquer un patron avec des mouvements latéraux plus prononcés et une amplitude verticale moins grande. En fait, les trois types basiques de cycles présentés dans la section I peuvent être évoqués par des stimulations corticales (Lund *et al.* 1984b). Cependant, l'input cortical n'est pas absolument requis, car même après une ablation corticale, et quoique des déficits sont observés en ce qui a trait à l'enchaînement des différentes séquences masticatoires qui aboutissent à la déglutition, il est encore possible d'induire la mastication par une stimulation sensorielle adéquate (Enomoto *et al.* 1987).

Il y a aussi des évidences que la stimulation de différents sites sous-corticaux, incluant les ganglions basaux, le tractus cortico-bulbaire, les structures limbiques, le thalamus, la formation réticulée du mésencéphale, peut aussi déclencher des mouvements rythmiques de la mâchoire et évoquer différents patrons de mastication (Lund et Dellow 1971).

Également, il est possible d'évoquer des mouvements masticatoires par une stimulation sensorielle. Bremer (1923) a été en fait le premier à démontrer que la

stimulation de divers sites oraux semble évoquer différents patrons de mastication chez le lapin décérébré. Mais là encore, il apparaît que le feedback sensoriel n'est pas absolument requis pour produire des mouvements rythmiques de la mâchoire, car une dénervation extensive, malgré qu'elle produit une diminution de la régularité et de l'efficacité des mouvements masticatoires, n'empêche pas la mastication (Inoue *et al.* 1989).

En fait, Dellow et Lund (1971) ont démontré de façon décisive que les systèmes neuronaux rudimentaires suffisants pour initier et maintenir les mouvements rythmiques de la mâchoire sont localisés dans le tronc cérébral. Dans cette étude, ils ont sectionné la moelle épinière d'animaux décérébrés paralysés et ont coupé les nerfs branchiaux et cervicaux pour enlever tout input afférent somatique. Malgré ces manipulations extensives, ils ont quand même pu enregistrer une activité rythmique dans le nerf trigéminal en stimulant la voie cortico-bulbaire du tronc cérébral. À cet égard, il est important de préciser qu'une activité rythmique enregistrée dans les nerfs moteurs ou dans les motoneurones lorsque tout mouvement est éliminé par un blocage chimique de la jonction neuromusculaire est décrite en terme de « rythmes fictifs ». On parle de rythme fictif dans le sens que cette activité rythmique se produit de façon alternée dans les groupes de motoneurones qui innervent les muscles antagonistes. Dans notre cas particulier, il s'agit de « mastication fictive ». Cette activité fictive représente en fait le patron de base du mouvement rythmique généré par un groupe de neurones du système nerveux central, défini comme le générateur de patron central (GPC), en absence de toute rétroaction sensorielle. L'expérience de Dellow et Lund nous apprend donc que le GPC de la mastication est localisé à l'intérieur du tronc cérébral et que son activation par

l'input cortical est responsable de l'output rythmique observé dans les branches motrices.

Ce qu'il faut comprendre cependant, c'est que localiser le GPC, ce n'est pas l'identifier. En fait, un immense fossé semble séparer ces deux étapes, car même à l'heure actuelle, plus de trois décennies plus tard, notre connaissance des éléments qui composent le GPC de la mastication est encore très fragmentaire.

Maintenant qu'il est établi que le GPC de la mastication est localisé à l'intérieur du tronc cérébral, il importe, à cette étape, d'identifier les éléments du système trigéminal et du tronc cérébral auxquels il sera fait référence tout au long de la revue de littérature. Dans les sections qui suivent nous traiterons, dans un premier temps, de l'innervation oro-faciale car, au cours des études qui seront présentées, différentes ramifications du nerf trigéminal serviront de sites de stimulation ou d'enregistrement et, il est important de connaître leur cible en périphérie pour être à même de comprendre l'interprétation que feront les auteurs des résultats obtenus. Ensuite, nous décrirons de façon succincte les principaux groupes neuronaux qui composent le tronc cérébral et qui ont été investigués dans l'étude du contrôle neuronal de la mastication. Ces sections serviront également à nous familiariser avec la nomenclature et la terminologie qui seront employées tout au long de la revue de littérature.

4. INNERVATION ORO-FACIALE

Le nerf trigéminal transmet l'information sensorielle de la face et de la cavité orale et assure l'innervation motrice des muscles de la mastication. Le nerf trigéminal est donc un nerf mixte, fonctionnellement équivalent aux nerfs spinaux. En périphérie, ce nerf se divise en trois branches : le nerf ophtalmique, le nerf mandibulaire et le nerf maxillaire. Les branches ophtalmique et maxillaire sont purement sensorielles alors que la branche mandibulaire contient des fibres motrices et sensorielles. Ces branches sortent du crâne à travers 3 ouvertures : la fissure orbitale supérieure, le foramen rotundum, et le foramen oval. La branche ophtalmique du nerf trigéminal innerve les mécanorécepteurs cutanés et les nocicepteurs des régions orbitale et frontale ainsi que les mécanorécepteurs et les nocicepteurs des muqueuses sinusales. Les études sur le contrôle neuronal de la mastication se sont surtout intéressées aux branches maxillaires et mandibulaires car ce sont ces deux branches qui innervent la mâchoire.

La branche mandibulaire se ramifie pour assurer l'innervation des muscles de la mâchoire et de la partie inférieure de la cavité orale ainsi que de la partie inférieure du visage. Les études consultées dans cette revue de la littérature se sont intéressées à plusieurs ramifications de ce nerf. Une de ces ramifications, le nerf lingual, un nerf purement sensoriel, transporte les afférences de bas-seuil des mécanorécepteurs et les afférences de haut-seuil des thermorécepteurs et des récepteurs gustatifs de la langue. Une deuxième ramification, le nerf alvéolaire inférieur, lui-aussi purement sensoriel, innerve la cavité orale inférieure et le menton. Ce nerf contient les afférences de bas-seuil des mécanorécepteurs parodontaux et les afférences cutanées du menton et de la

lèvre inférieure. Il contient également les afférences de haut-seuil des nocicepteurs de la pulpe des dents mandibulaires. Une troisième ramification émet des branches qui innervent les muscles de la mâchoire. Chacune des sous-ramifications innervant les muscles porte le nom du muscle spécifique innervé. Dans les nerf masticatoires voyagent des fibres de gros calibre ou de calibre moyen myélinisées (du groupe Ia et du groupe II) qui médient la proprioception, mais également des fibres de petit-calibre myélinisées (groupe III) et des fibres non myélinisées (groupe IV) (Morimoto *et al.* 1982) et, il y a des évidences électrophysiologiques que ces dernières médient la nociception (Hayashi 1984). Chez certaines espèces, dont le rat, seuls les muscles de fermeture sont pourvus de fuseaux neuromusculaires (Lund *et al.* 1978; Dubner *et al.* 1978).

La branche maxillaire du nerf trigéminal se divise en plusieurs branches pour innervent la mâchoire supérieure, la partie supérieure de la cavité orale, la cavité nasale la lèvre supérieure et le nez. Deux branches sont particulièrement utilisées pour les activations périphériques lors des études sur la mastication : le nerf infraorbital et le nerf alvéolaire supérieur. Le nerf infraorbital contient les afférences cutanées de bas-seuil des mécanorécepteurs des vibrisses, pour les animaux qui en possèdent, et de la lèvre supérieure ainsi que les afférences de haut seuil des nocicepteurs de ces régions. Le nerf alvéolaire supérieur innerve la cavité orale supérieure. Ce nerf contient les afférences de bas-seuil des mécanorécepteurs parodontaux et les afférences de haut-seuil des nocicepteurs de la pulpe des dents maxillaires.

À l'exception des afférences innervant les fuseaux neuromusculaires et d'une sous-population des afférences innervant les mécanorécepteurs des parodontes, les corps cellulaires des fibres sensorielles trigéminales sont regroupés dans les ganglions trigéminaux (GT) en périphérie.

5. ORGANISATION DU TRONC CÉRÉBRAL

Le tronc cérébral qui comprend le mésencéphale, le pont et le bulbe rachidien est impliqué dans le contrôle de divers comportements moteurs tels que la locomotion (Grillner 1981, pour révision), les mouvements des yeux (Robinson 1981, pour révision), la respiration (Wyman 1977; Feldman 1976) et les mouvements de la mâchoire, du visage et de la langue (Dubner *et al.* 1978; Nakamura *et al.* 1979; Luschei et Goldberg 1981, pour révision). La figure 3 tirée du Kandel et Schwartz (2^e ed) illustre les divers noyaux sensoriels et moteurs du tronc cérébral. Plusieurs paires de nerfs crâniens émergent du tronc cérébral, mais les seuls qui nous intéressent, outre le nerf trigéminal, en raison de leur implication dans la mastication, sont les nerfs facial et hypoglosse. Les fibres motrices innervant les muscles du visage voyagent dans le nerf facial et leurs corps cellulaires, à l'intérieur du tronc cérébral, constituent le noyau facial (NVII) identifié dans la partie de gauche de la figure 3. Les fibres motrices qui innervent la langue voyagent dans le nerf hypoglosse et leurs corps cellulaires constituent le noyau hypoglosse (NXII) identifié dans la partie de gauche de la figure 3. Ces deux noyaux sont localisés dans le bulbe rachidien.

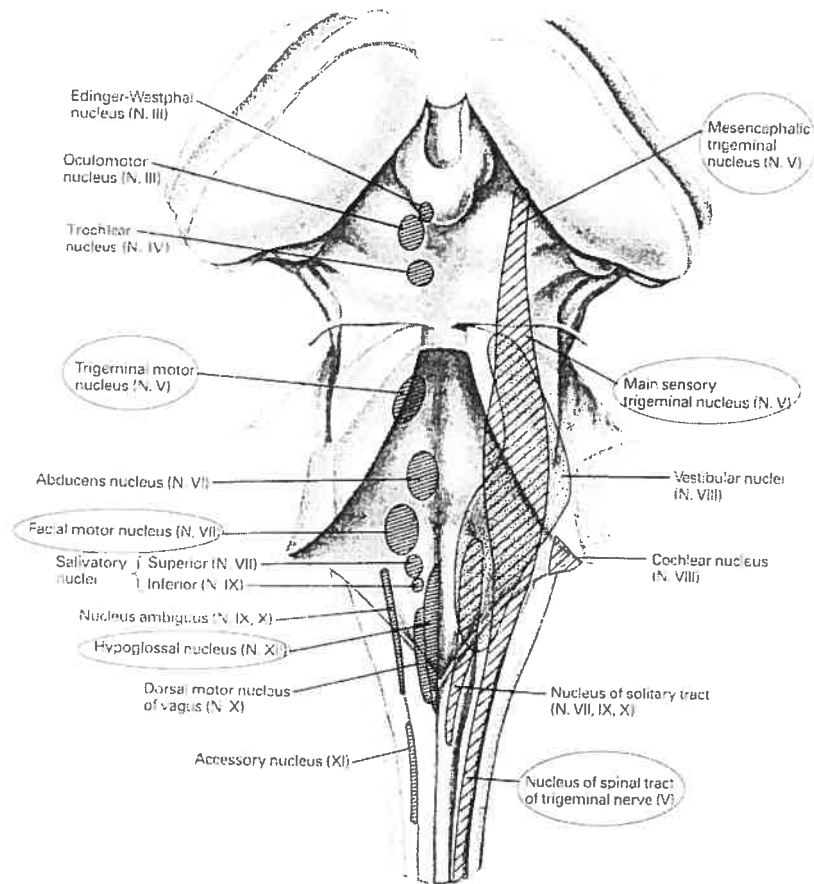
C'est au niveau du pont que le nerf trigéminal se rattache au tronc cérébral. Les branches centrales des axones moteurs et sensoriels entrent et sortent du tronc cérébral séparément en tant que les racines trigéminales motrices et sensorielles. Les corps cellulaires des fibres motrices qui voyagent dans la racine motrice du nerf trigéminal constituent les noyaux moteurs trigéminaux (NVmt) qui occupent, de chaque côté du tronc cérébral, une position centrale dans le pont (figure 3 à gauche).

Les corps cellulaires des fibres sensorielles qui innervent les fuseaux neuromusculaires des muscles de fermeture de la mâchoire et qui voyagent dans la racine motrice du nerf trigéminal constituent le noyau mésencéphalique du trijumeau (NVmes) (figure 3 à droite). Le NVmes s'étend des collicules supérieurs dans le mésencéphale jusqu'à l'extrémité caudale du noyau principal du nerf trigéminal (NVsnpr) (figure 3 à droite). Au sein de ce noyau, on retrouve aussi les corps cellulaires d'une partie des afférences innervant les mécanorécepteurs des parodontes dont les axones entrent dans le tronc cérébral via les racines trigéminales sensorielle et motrice. L'axone des afférences fusoriales émet une branche collatérale, analogue à la branche centrale des neurones primaires proprioceptifs spinaux, qui projette directement via le tractus trigéminal au NVmt. Cet arrangement fournit un arc réflexe monosynaptique aux motoneurones similaire à l'arc réflexe d'étirement médié par les fibres afférentes Ia dans la moelle épinière. Des informations supplémentaires plus détaillées seront fournies ultérieurement sur l'organisation de ce noyau et sur sa connectivité avec les autres groupes neuronaux du tronc cérébral.

Les branches centrales des neurones des ganglions trigéminaux pénètrent ventralement dans le pont via la racine sensorielle trigéminal. Plusieurs axones bifurquent en une branche ascendante et une branche descendante et projettent à des régions précises du NVsnpr ou du noyau spinal trigéminal (NVsp) (figure 3 à droite). Les branches ascendantes projettent au NVsnpr ipsilatéral et les branches descendantes forment le tractus spinal trigéminal et se terminent dans le NVsp ipsilatéral. Ensemble, le NVsnpr et le NVsp constituent le complexe nucléaire sensoriel du système trigéminal (CNST) qui s'étale du pont à la partie rostrale de la moelle épinière. Marfurt et Rajchert (1991) ont injecté du WGA-HRP dans le ganglion trigéminal du rat unilatéralement et ont retrouvé des terminaisons marquées dans les quatre divisions du CNST ipsilatéralement. Le NVsnpr, qui constitue la partie la plus rostrale du CNST présente une forme en arachide sur le plan transverse et une forme ovoïde sur le plan horizontal. Il est entouré latéralement et ventralement par le tractus trigéminal alors que la concavité médiane du noyau fait face au NVmt. Rostralement, le NVsnpr atteint le même niveau que la partie rostrale du NVmt, alors que caudalement, il s'étend jusqu'à la partie rostrale du noyau facial (NVII). Le NVsp est fonctionnellement subdivisé en 3 sous-noyaux : l'oralis (NVspo), l'interpolaris (NVspi) et le caudalis (NVspc). Le NVspo s'étend rostrocaudalement autant que le NVII. Il est entouré latéralement par le tractus trigéminal et médialement par la formation réticulée parvocellulaire (PCRt). Caudalement, on retrouve le NVspi. Ce sous-noyau spinal commence au pôle caudal du noyau facial et s'étend jusqu'au niveau du tournant médian de la substance gélatineuse du NVspc correspondant à un niveau légèrement caudal à l'obex. Le NVspi est entouré du tractus trigéminal latéralement et du PCRt médialement. Le sous-noyau caudalis est entouré latéralement par le tractus spinal trigéminal et médialement par les noyaux

réticulaires dorsal et ventral de la médulla. À ce niveau, on retrouve le NXII en position dorsale. Caudalement, le NVspc s'étend jusqu'à la corne dorsale de la moelle épinière.

Figure 3

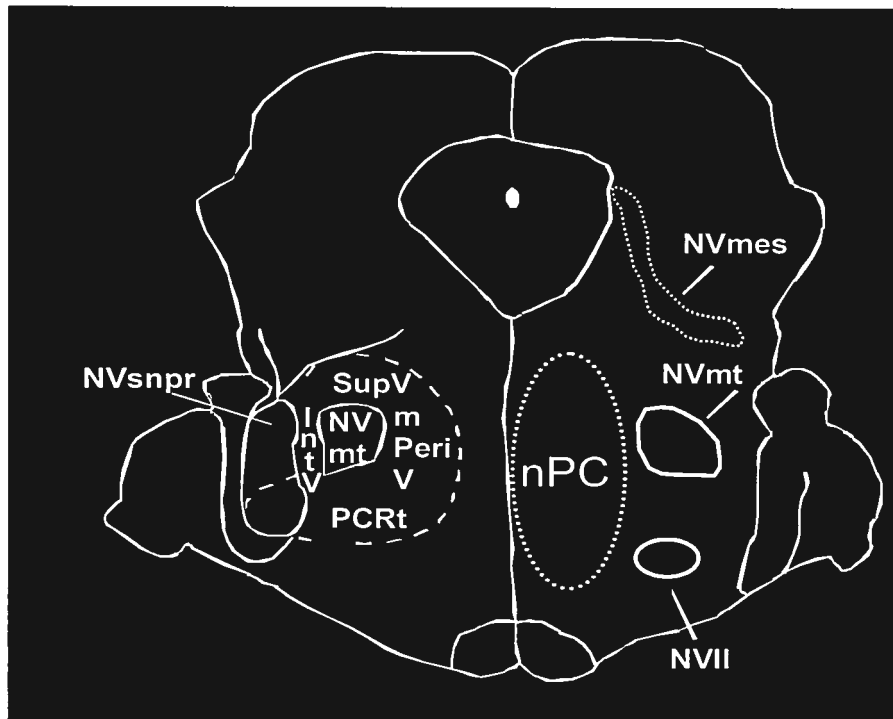


Les noyaux moteurs (côté gauche) et les noyaux sensoriels (côté droit) des nerfs crâniens dans une vue dorsale du tronc cérébral. *Kandel & Schwartz, deuxième édition.*

Outre les noyaux moteurs V, VII et XII et les noyaux sensoriels trigéminaux, parmi les structures du tronc cérébral qui nous intéressent et qui sont impliquées dans la mastication, nous retrouvons la formation réticulée. Selon que l'on se situe dans le mésencéphale, le pont ou le bulbe rachidien, la formation réticulée sera désignée comme la formation réticulée mésencéphalique, pontique et bulbaire (ou médullaire) respectivement. La formation réticulée est aussi communément divisée en une partie médiale et latérale. Au niveau du pont, la formation réticulée médiale correspond au noyau pontis caudalis (nPontC) alors que la formation réticulée latérale est constituée des régions qui bordent le NVmt. La région qui borde le NVmt a été originellement désignée comme la région h par Meessen et Olszewski (1949). Dans la nomenclature actuelle, cette région a été subdivisée en plusieurs sous-régions. La formation réticulée dorsale intercalée entre le NVmt et le NVmes, est désignée comme la région supratrigéminale (SupV). La formation réticulée intercalée entre le NVmt et le NVsnpr, se nomme la région intertrigéminale (IntV), alors que la formation réticulée intercalée entre le nPontC et NVmt est désignée comme la région pérित्रigéminale médiale (mPériV). Collectivement, SupV, IntV, et mPériV sont nommées la région pérित्रigéminale (PériV). Ventralement au NVmt on retrouve la partie rostrale du PCRt. La figure 4 présente un plan transverse du tronc cérébral au niveau du pont sur lequel les noyaux qui nous intéressent sont identifiés. À partir de l'extrémité rostrale du NVII, qui correspond à la jonction ponto-bulbaire, la formation réticulée médiane comprend les noyaux gigantocellulaire (GC) et paragigantocellulaire (PGC). La formation réticulée médullaire latérale est constituée de la partie caudale du PCRt.

Figure 4

Représentation d'une tranche transverse du tronc cérébral au niveau du noyau moteur du trijumeau



Légende:

- NVmot: noyau moteur trigéminal
- NVmes: noyau mésencéphalique du trijumeau
- SupV: région supra-trigéminal
- PCRt: formation réticulée parvocellulaire
- IntV: région intertrigéminal
- mPeriV: région péri-trigéminal médiane
- NVsnpr: noyau principal sensoriel
- NVII: noyau facial
- nPC: noyau pontis caudalis

6. LE NOYAU MOTEUR TRIGÉMINAL

6.1 Composition du NVmt

Des études anatomiques ont divisé le NVmt en deux sections fonctionnelles: une région ventromédiane contenant les motoneurones innervant les muscles d'ouverture de la mâchoire et une région dorsolatérale contenant les motoneurones innervant les muscles de fermeture de la mâchoire (Limwongse et DeSantis 1977; Lynch 1985; Mizuno *et al.* 1975; Mizuno *et al.* 1980; Sasamoto 1979; Jacquin *et al.* 1983). On pensait avant que tous les motoneurones innervant les muscles de la mâchoire avaient leurs corps cellulaires dans le NVmt. Cependant, des travaux récents montrent une population secondaire de petits neurones dans le groupe k, un groupe de neurones situé ventrolatéralement au NVmt, innervant les muscles masséters et digastriques (Donga *et al.* 1992; Saad *et al.* 1997). À l'instar des motoneurones spinaux, les motoneurones trigéminaux sont cholinergiques. En effet, des études d'immunohistochimie ou d'hybridation *in situ* ont révélé la présence de la choline acétyltransférase, un marqueur spécifique des neurones utilisant l'acétylcholine comme neurotransmetteur, dans ces motoneurones (Lauterborn *et al.* 1993; Ichikawa et Shimizu 1998; Saad *et al.* 1999). Fonctionnellement, deux groupes de motoneurones peuvent être identifiés au sein du NVmt. Les motoneurones α innervent les fibres musculaires des muscles, alors que les motoneurones γ innervent les fibres musculaires des fuseaux neuromusculaires aussi nommées fibres intrafusales. Chez le rat, cette dichotomie fonctionnelle est associée à une dichotomie dans la morphologie des neurones. En effet, la taille cellulaire des neurones innervant les muscles de fermeture présente une distribution bimodale

(Limwongse et DeSantis 1977; Jacquin *et al.* 1983; Bae *et al.* 2002). Les motoneurones α sont des cellules multipolaires de grande taille (28-42 μm) dont l'arbre dendritique très étendu présente de nombreuses ramifications. Ces ramifications s'étendent au-delà des limites du noyau dans la formation réticulée adjacente et dans le NVmes (Lingenhöhl et Friauf 1991). Les motoneurones γ sont des neurones de plus petite taille (8-14 μm) qui possèdent un arbre dendritique moins étendu que celui des motoneurones α . L'axone des motoneurones trigéminaux rejoint la racine motrice et ne présente pas de collatérale (Shigenaga *et al.* 1988c), ce qui implique que ces neurones ne sont pas soumis à une inhibition récurrente, comme il en est des motoneurones spinaux. De nombreuses évidences suggèrent l'existence, au sein du NVmt, d'une sous-population d'interneurones (Ter Horst *et al.* 1990; Jüch *et al.* 1993; Bourque et Kolta 2001). Lorsque remplis par des injections intracellulaires de neurobiotine, ces interneurones ont un diamètre moyen de 14 μm , allant de 11 à 19 μm (Bourque et Kolta 2001). Des études immunohistochimiques ont révélé que cette sous-population d'interneurones était composée de petits neurones GABAergiques (rat : Ginestal *et al.* 1993; Li *et al.* 1996; lapin : Kolta *et al.* 2000), glycinergiques (rat : Li *et al.* 1996; Rampon *et al.* 1996) et glutamatergiques (lapin : Kolta *et al.* 2000). Dans une étude récente utilisant des tranches de tronc cérébral de rats, Bourque et Kolta (2001) ont enregistré des potentiels postsynaptiques excitateurs et inhibiteurs dans PériV et PCRt suite à des stimulations électriques dans le NVmt ce qui démontre que ces interneurones projettent aux pré-motoneurones trigéminaux. De plus, des fibres commissurales ont pu être retracées jusqu'au NVmt contralatéral suite à des injections de traceurs dans le NVmt d'un côté du tronc cérébral (Ter Horst *et al.* 1990; Bourque et Kolta 2001) suggérant que certains

de ces interneurones sont commissuraux. De par leur projection contralatérale, ces interneurones pourraient être impliqués dans la coordination bilatérale de la mâchoire.

6.2 Propriétés intrinsèques des motoneurones trigéminaux

Moore et Appenteng (1990), au cours d'une étude réalisée sur des rats anesthésiés, ont effectué des enregistrements intracellulaires dans les motoneurones de fermeture de la mâchoire identifiés à l'aide d'une stimulation électrique du nerf masséter. Ils ont observé l'apparition d'une rectification entrante lors d'injection de courant hyperpolarisant dans environ 32% des neurones enregistrés. Presque tous les neurones enregistrés montraient une décharge répétitive avec l'injection de courant dépolarisant dont la fréquence augmentait en fonction de la dépolarisation. Cependant, une adaptation de la décharge était observée en ce sens que la fréquence de décharge des premiers potentiels d'action évoqués au début du pulse était beaucoup plus élevée que pour le reste du pulse. Chandler *et al.* (1994), quant à eux, ont effectué des enregistrements intracellulaires dans les motoneurones trigéminaux du cochon d'inde à l'aide d'une préparation de tranches de tronc cérébral sans toutefois tenter de discriminer entre les motoneurones d'ouverture ou de fermeture. Ils rapportent que ces neurones sont silencieux, c'est à dire qu'ils ne présentent aucune activité spontanée. Tout comme dans l'étude de Moore et Appenteng, 30% de ces neurones ont démontré une rectification entrante lors des injections de courant négatif. Cette rectification entrante était bloquée par l'application de césium et serait attribuée au courant cationique I_h activé par l'hyperpolarisation membranaire. La présence de ce courant dans les motoneurones peut être considérée comme un facteur contribuant au contrôle de

l'amorce des bouffées rythmiques de décharges dans les motoneurones de fermeture pendant la mastication, en ce sens qu'il favorise un rebond dépolarisant à la levée de l'hyperpolarisation membranaire. Une rectification entrante était également observée suite à une injection de courant dépolarisant infraseuil. Cette rectification était médiée par un courant sodique persistant (I_{NAP}) et était bloquée par l'application de tétródotoxine (TTX). Lors d'injection de courant dépolarisant suprathreshold, un potentiel d'action était généré qui pouvait être bloqué par une application de TTX. Dans plusieurs neurones, l'AHP présentait un décours biphasique, étant constituée d'une AHP rapide de courte durée et d'une AHP plus prolongée séparées par une ADP. La composante lente de l'AHP résultait de l'activation d'une conductance K^+ calcium-dépendante car, elle a été abolie par la substitution d'une partie du Ca^{2+} extracellulaire par du Mn^{2+} ainsi que par l'application d'apamine un bloqueur des canaux SK. Cette conductance serait impliquée dans le contrôle de la fréquence de décharge des motoneurones. La présence d'un courant potassique responsable de la rectification retardée ($I_{\text{K-DR}}$) dont le blocage pharmacologique par l'application de 4-aminopyridine (4-AP) et de tétraéthylammonium (TEA) causait une augmentation de la durée des potentiels d'action a également été démontrée.

6.3 Inputs locaux au NVmt

Li et ses collaborateurs (1995) ont tenté, au cours d'une étude réalisée sur des rats, de déterminer la projection des neurones de la formation réticulée et du CNST aux pools de motoneurones d'ouverture et de fermeture de la mâchoire. Pour ce faire, ils ont injecté des traceurs fluorescents dans la fraction dorsolatérale (dl) ou dans la fraction

ventromédiane (vm) du NVmt de différents animaux pour examiner l'emplacement des neurones marqués rétrogradement. Ils ont observé que les corps cellulaires marqués rétrogradement, indépendamment du site d'injection, étaient distribués largement dans les régions pontique et bulbaire de façon bilatérale avec une prédominance ipsilatérale. Suite à une injection dans NVmt.dl, ils ont observé des neurones marqués bilatéralement avec une prédominance ipsilatérale dans les régions parabrachiales, dans SupV, dans IntV, dans PCRt, dans les parties dorsales du NVsnpr, du NVspo et du NVspi. Le NVmes était aussi marqué ipsilatéralement. Un nombre considérable de neurones marqués étaient observés dans la partie latérale du nPontO, dans les parties latérale et ventromédiane du nPontC et dans les noyaux dorsalis, magnus, pallidus, obscurus du raphé. Il y avait très peu de cellules marquées dans le PAG, dans le locus coeruleus, dans le GC et les régions adjacentes et dans le NVspc. Suite à une injection dans NVmt.vm, le patron de distribution des neurones marqués rétrogradement était similaire, mais quelques différences étaient observées. Très peu de cellules étaient observées dans le NVmes et dans SupV. Au niveau du NVsnpr, du NVspo et du NVspi les cellules marquées rétrogradement étaient localisées dans les parties intermédiaires. Il y avait également plus de neurones marqués dans le GC que dans le cas de l'injection dans NVmt.dl.

Des injections de traceurs rétrogrades dans le NVmt sans distinction des pools de motoneurones d'ouverture et de fermeture, ont révélé des résultats similaires chez le lapin (Kolta *et al.* 2000), le cochon d'inde (Turman et Chandler 1994a,b) et le chat (Fort *et al.* 1990) quant à la localisation des pré-motoneurones trigéminaux. En plus de ces

régions, il faut aussi ajouter les interneurons du NVmt contralatéral (Ter Horst *et al.* 1990; Kolta *et al.* 2000; Bourque et Kolta 2001).

Outre, les noyaux du raphé contribuant à l'innervation sérotoninergique du NVmt (Li *et al.* 1993c; Fort *et al.* 1990), les autres pools de prémotoneurones sont formés de sous-populations de neurones glutamatergiques, GABAergiques et glycinergiques (Brodal *et al.* 1988; Ginestal *et al.* 1993; Turman et Chandler 1994a,b; Li *et al.* 1996; Rampon *et al.* 1996; Kolta *et al.* 2000). Les noyaux Kolliker Fuse, parabrachiaux et subcoeruleus contribuent également un input catécholaminergique, alors que le PCRt et le noyau réticulaire dorsal en plus des inputs GABAergique, glycinergique et glutamatergique fournissent un input cholinergique au NVmt (Fort *et al.* 1990). L'innervation noradrénergique du NVmt provient des groupes cellulaires A4 et A5 du tegmentum dorsolatéral pontique (Grzanna *et al.* 1987; Vornov et Sutin 1983).

Bae *et al.* (1999) ont examiné la distribution des terminaisons GABAergiques, glycinergiques et glutamatergiques à l'aide de marquages immunohistochimiques sur les motoneurones α du masséter du chat marqués par injection intracellulaire de HRP. Ils ont trouvé que 48% des terminaisons contenaient du glutamate, et que 50% contenaient du GABA et/ou de la glycine. Un peu moins de 3% des terminaisons ne montraient aucune immunoréactivité, suggérant un neurotransmetteur autre que le GABA, la glycine et le glutamate. Ces résultats suggèrent que les inputs glutamatergiques, glycinergiques et GABAergiques sont les plus déterminants du comportement des motoneurones trigéminaux. Ces résultats révèlent également un apport équivalent d'excitation et d'inhibition aux motoneurones de fermeture de la mâchoire. Dans une

autre étude utilisant des rats, Nakamura *et al.* (1975) ont rapporté que la stimulation de la formation réticulée médiale de la médulla évoque des PPSIs monosynaptiques dans les motoneurones du masséter et des PPSEs monosynaptiques dans les motoneurones du digastrique.

Kolta (1997) a démontré par une étude *in vitro* utilisant le rat, que la stimulation électrique des interneurones contenus dans la région péritrigéminal et dans le PCRt cause des réponses excitatrices glutamatergiques médiées par les récepteurs non-NMDA et des réponses inhibitrices médiées par le GABA et la glycine dans les motoneurones trigéminaux. Dans cette étude, les réponses excitatrices étaient prédominantes. Néanmoins, il est impossible de déterminer la balance d'excitation et d'inhibition, car les PPSEs masquaient souvent des réponses inhibitrices. Cet état de fait peut également expliquer que les récepteurs NMDA ne semblaient pas contribuer aux réponses excitatrices. Néanmoins, les motoneurones trigéminaux possèdent des récepteurs NMDA fonctionnels (Turman *et al.* 1999). Il est possible que la stimulation simultanée d'un input excitateur et inhibiteur ne permet pas une dépolarisation suffisamment importante pour activer ces récepteurs. Dans les conditions physiologiques naturelles, ces inputs sont très probablement activés de façon séquentielle. Kim et Chandler (1995) ont démontré que l'activation des récepteurs NMDA, par l'application d'un agoniste de ces récepteurs, dépolarise les motoneurones trigéminaux, augmente leur résistance d'entrée, produit des plateaux de potentiel et induit des bouffées de décharge rythmiques qui augmentent en durée et en fréquence de potentiels d'action selon le niveau de dépolarisation.

Pour ce qui est de l'input sérotoninergique aux motoneurones trigéminaux en provenance du raphé, Nagase *et al.* (1997) rapportent que la stimulation électrique du complexe pallidus-obscurus du noyau du raphé produit des PPSEs à une latence monosynaptique dans les motoneurones d'ouverture et de fermeture de la mâchoire. Ces PPSEs étaient abolis presque complètement (~ 70%) par l'application de méthysergide, un antagoniste des récepteurs 5-HT₂. En effet, Kolta *et al.* (1993) ont démontré à l'aide d'une technique d'autoradiographie des récepteurs que les motoneurones trigéminaux expriment les récepteurs 5-HT₂ et 5-HT₃. L'hypothèse, proposée par les auteurs de l'étude pour expliquer ce blocage partiel, est que les neurones stimulés contenaient, en plus de la sérotonine, un autre transmetteur excitateur. Hsiao *et al.* (1997) ont démontré, à l'aide d'une préparation *in vitro* de tranches de tronc cérébral de cochon d'inde, que la sérotonine augmente l'excitabilité membranaire en affectant différentes conductances intrinsèques membranaires. En effet, l'application de 5-HT semble causer une diminution du courant de fuite K⁺; une augmentation du courant I_h; l'activation du courant I_{NAP} et la diminution du courant K⁺ calcium-dépendant qui régit l'AHP de ces motoneurones. La modulation de ces conductances produit une dépolarisation lente et prolongée associée à une augmentation de la résistance membranaire ce qui résulte en une augmentation de l'excitabilité membranaire. Également, dans une étude ultérieure (Hsiao *et al.* 1998), cette même équipe a démontré que la sérotonine induit une bistabilité du potentiel de membrane qui est caractérisée par une région de pente négative de la résistance dans la courbe I-V (courant-voltage) qui serait médiée par l'activation des canaux calciques de type L (sensibles à la nifedipine) et des canaux sodiques persistants.

Vornov et Sutin (1986), ont testé l'effet des inputs noradrénergiques à ces cellules en stimulant électriquement les neurones sources pendant qu'ils enregistraient intracellulairement les motoneurones trigéminaux. Ils rapportent qu'une stimulation de la région du lemnisque latéral, la source de l'innervation noradrénergique du NVmt (Vornov et Sutin 1983), évoque un PPS dépolarisant de longue durée (75-250ms) et de forme complexe qui était parfois précédée d'une composante hyperpolarisante dans les motoneurones trigéminaux.

6.4 Comportement des motoneurones trigéminaux pendant la mastication

Goldberg et ses collaborateurs (Goldberg et Tal 1978; Goldberg *et al.* 1982) ont effectué des enregistrements intracellulaires dans les motoneurones trigéminaux pendant des mouvements de la mâchoire évoqués par une stimulation corticale sur des cochons d'inde anesthésiés. Dans ces expériences, ils stimulaient l'ACM et enregistraient simultanément l'activité EMG du muscle digastrique comme moniteur des mouvements. Une stimulation à basse fréquence (< 10Hz) de l'ACM contralatéral au site de l'EMG et au site d'enregistrement produisait une brève contraction du muscle digastrique. Cependant, une stimulation à haute fréquence (15-80Hz) induisait des mouvements rythmiques de la mâchoire ayant une fréquence cyclique d'environ 3Hz. Un cycle correspondait à une bouffée dans l'EMG du digastrique, donc la phase d'ouverture de la mâchoire, et une période inter-bouffée (i.e. une période de silence dans l'EMG), correspondant à la phase de fermeture de la mâchoire. Les enregistrements intracellulaires étaient réalisés dans les motoneurones d'ouverture et de fermeture de la

mâchoire. Lors des enregistrements dans le pool des motoneurones de fermeture, l'identification des motoneurones α , par opposition aux motoneurones γ , reposait sur la latence monosynaptique de leur réponse à une stimulation dans le NVmes. En effet, il a été reporté que la stimulation du NVmes excite monosynaptiquement les motoneurones α (Kidokoro *et al.* 1968) et di ou tri-synaptiquement les motoneurones γ (Sessle 1977). Donc, on peut présumer que les enregistrements obtenus dans ces deux études provenaient de motoneurones α d'ouverture et de fermeture de la mâchoire.

Ces auteurs ont observé que la stimulation corticale évoquait un potentiel hyperpolarisant dans les motoneurones de fermeture d'une latence d'environ 7ms concomitant avec l'activité EMG dans le muscle digastrique. Lorsqu'ils enregistraient intracellulairement dans les motoneurones d'ouverture de la mâchoire, ils observaient une dépolarisation se produisant à une latence d'environ 8 ms. Ces résultats indiquent que la stimulation corticale résulte en une dépolarisation des motoneurones d'ouverture presque simultanée à l'hyperpolarisation des motoneurones de fermeture.

Pendant les mouvements rythmiques, les enregistrements intracellulaires dans les motoneurones de fermeture ont démontré des fluctuations cycliques du potentiel membranaire qui étaient corrélées avec l'occurrence de bouffées d'activité dans l'EMG du digastrique. Pendant la période de bouffée d'activité dans l'EMG du digastrique, il y avait une hyperpolarisation dans les motoneurones de fermeture. Immédiatement après la fin de l'activité dans l'EMG du digastrique, le potentiel membranaire dépolarisait pour atteindre un niveau plus dépolarisé que le niveau de repos. Des potentiels d'action étaient fréquemment générés pendant cette période de dépolarisation. À l'analyse, il

apparaît que ces fluctuations cycliques représentent en fait la sommation de potentiels postsynaptiques individuels qui se sont révélés en phase avec chaque stimulation corticale.

Pour ce qui est des motoneurones d'ouverture, les résultats démontrent que la stimulation corticale évoquait un potentiel dépolarisant dans les motoneurones du digastrique concomitant avec l'activité EMG. À l'analyse, les dépolarisations cycliques observées dans les motoneurones d'ouverture représentaient la sommation de PPSEs individuels qui se sont révélés en phase avec chaque stimulation corticale. Pendant les phases inter-bouffée, la stimulation corticale n'évoquait pas de réponse ou évoquait parfois un très faible potentiel dépolarisant. Aucune hyperpolarisation n'était observée dans les motoneurones du digastrique.

Chandler *et al.* (1994) ont tenté d'envisager de quelle manière les conductances membranaires des motoneurones trigéminaux influent sur leur activation rythmique. Ils proposent que pendant la phase d'hyperpolarisation des motoneurones de fermeture de la mâchoire, il y aurait une activation du courant I_h , qui limiterait l'hyperpolarisation membranaire. De plus, en raison de son inactivation lente, ils considèrent que ce courant pourrait faciliter l'amorce de la phase dépolarisante et de la décharge cellulaire pendant la transition entre l'ouverture et la fermeture de la mâchoire. Également, considérant que I_{NAP} est activé en dessous du seuil de décharge, ils proposent que ce courant pourrait contribuer à augmenter l'amplitude et prolonger la durée des PPSEs individuels se produisant pendant la phase dépolarisante de l'activité motoneuronale au cours des mouvements rythmiques de la mâchoire. L'activation de I_{NAP} pourrait également

raccourcir le temps d'amorce de la décharge en bouffées et augmenter la décharge répétitive pendant la phase d'activation du cycle.

Les motoneurones γ n'ont pas fait l'objet d'investigations intracellulaires. Les données recueillies quant à leur comportement pendant la mastication sont inférées à partir d'enregistrements extracellulaires de leur activité dans les extrémités coupées des nerfs masticatoires de chats pendant des mouvements cycliques de la mâchoire (Appenteng *et al.*, 1980; Taylor *et al.*, 1981; Gottlieb et Taylor 1983). Dans ces études, les fibres des motoneurones γ du masséter étaient distinguées des fibres des motoneurones α sur la base de leur fréquence de décharge au repos (> 11 impulsions/seconde), leur vitesse de conduction plus lente (< 35 mètres/seconde), et par une absence d'activation lors de l'étirement du muscle. Ces enregistrements ont permis de distinguer deux types de motoneurones γ qui ont été classifiés en motoneurones γ dynamiques et motoneurones γ statiques. Les motoneurones γ dynamiques innervant les masséter augmentent leur taux de décharge tout juste avant le début des mouvements de la mâchoire et maintiennent cette décharge de façon tonique pendant la mastication. Les motoneurones γ statiques, d'autre part, sont activés en même temps que les motoneurones α pendant la phase de fermeture. Lorsqu'activés, les motoneurones γ causent la contraction des fibres intrafusales et contribuent ainsi à réguler la sensibilité des terminaisons des afférences innervant les fuseaux neuromusculaires.

La figure 5 tirée de la revue de Lund *et al.* (1985) résume le comportement des motoneurones trigéminaux pendant la mastication.

Figure 5

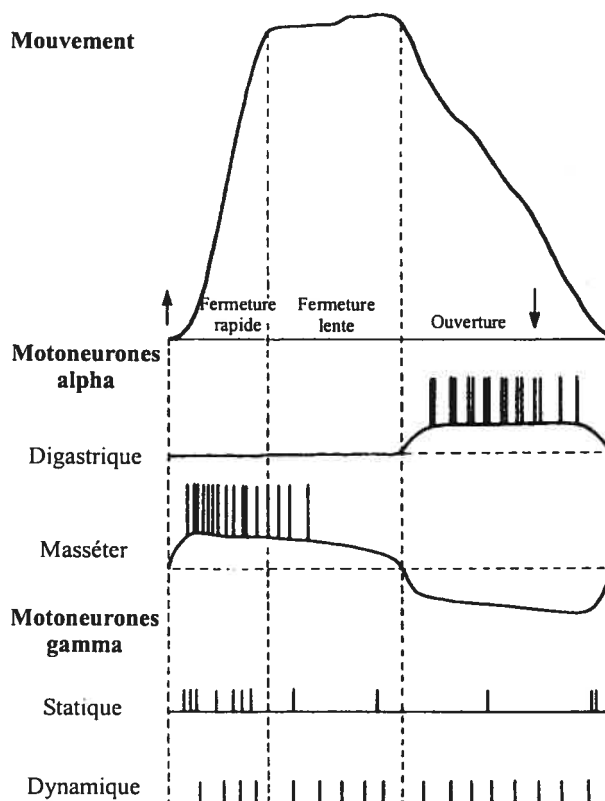


Diagramme schématique illustrant les changements de potentiels membranaires dans les motoneurones du digastrique et du masséter au cours d'un cycle masticaire. Notez que les motoneurones du masséter sont hyperpolarisés pendant la phase d'ouverture mais que le potentiel membranaire des motoneurones du digastrique reste près du potentiel de repos pendant la fermeture. Les motoneurones gamma statiques sont co-activés avec les motoneurones alpha pendant la fermeture, alors que les motoneurones gamma dynamiques sont actifs pendant tout le cycle. Le déplacement de la mâchoire est montré dans le haut de la figure et le cycle a été divisé en trois phases. *Lund et al. 1985.*

7. LE NOYAU MÉSENCÉPHALIQUE DU TRIJUMEAU

7.1 Composition du NVmes

Le NVmes est situé sur le bord latéral de la PAG et, tel que mentionné précédemment, il s'étend du niveau des collicules supérieurs jusqu'à l'extrémité caudale du NVsnpr. Rostralement, les neurones du NVmes sont organisés en une ligne de cellules qui borde la PAG. Au niveau du pont, le noyau s'élargit en forme d'un triangle interposé entre le locus coeruleus et le noyau parabrachial dorsalement au NVmt. Chez le rat, selon une estimation de Rokx *et al.* (1986), ce noyau contiendrait de 1000 à 1600 cellules et couvrirait une étendue rostro-caudale d'environ 4.5mm, 60% des cellules étant localisées dans le tiers caudal du noyau.

7.1.1 Morphologie des corps cellulaires

Lorsque la morphologie des corps cellulaires est considérée, il apparaît que le NVmes est composé de 3 sous-populations de cellules nerveuses (Lazarov 2000, 2002; Luo *et al.* 1991, 1995). Les cellules les plus abondantes consistent en de larges cellules unipolaires sphériques ou ovoïdes lesquelles, chez le rat (Luo *et al.* 1991), ont un diamètre de 30 à 48 μm avec un tronc axonal dont le diamètre varie de 3 à 7.5 μm . Un groupe moins nombreux de cellules unipolaires de taille un peu plus petite est aussi observé dont le diamètre du corps cellulaire mesure de 11 à 28 μm avec un tronc axonal de 1.5 à 3 μm de large. D'après les études immunohistochimiques de Copray *et al.* (1990c), de Turman et Chandler (1994b) et de Lazarov (2000), les neurones unipolaires du NVmes sont glutamatergiques. Finalement, mélangées aux cellules unipolaires, un

nombre relativement restreint de cellules multipolaires de tailles variées a été observé. Il est établi qu'une partie de ces neurones multipolaires sont des neurones sensoriels primaires. En effet, dans une étude menée sur des chats, Nomura *et al.* (1985) ont effectué une application de HRP sur les extrémités coupées des nerfs masséter, temporal, ptérygoïde, alvéolaires supérieur et inférieur, et ont observé que 40% des cellules marquées dans le NVmes étaient multipolaires et possédaient de 1 à 9 dendrites. De plus, il apparaît qu'une plus grande proportion d'afférences fusoriales que d'afférences parodontales seraient multipolaires, car des applications d'HRP limitées aux extrémités coupées des nerfs alvéolaires supérieur et inférieur ne révélaient que 2% de cellules multipolaires. Lors des application d'HRP recouvrant tous les nerfs (les nerfs musculaires et les nerfs alvéolaires), 5% des neurones n'étaient pas marqués, mais les auteurs ne précisent pas leur morphologie. Il existe une possibilité qu'une partie des neurones multipolaires du NVmes ne sont pas des afférences sensorielles mais des interneurones lesquels, selon une étude immunohistochimique effectuée chez le chat par Lazarov et Chouchkov (1995), seraient possiblement GABAergiques. Ceci semble être également le cas dans le NVmes du rat, car Ginestal *et al.* (1993) rapportent également la présence de neurones GABAergiques dans le NVmes. Les neurones multipolaires au sein du NVmes seraient moins nombreux chez le rat que chez le chat. Liem *et al* (1991), lors d'une étude ultrastructurale du NVmes du rat ont estimé que ces neurones, pour la plupart bipolaires, représentaient 5% des neurones du NVmes. Luo *et al.* (1991), quant à eux, ont injecté intracellulairement avec du HRP des cellules du NVmes du rat identifiées par leur réponse de courte latence (2.9 ± 0.9 ms) à la stimulation du nerf massétérique. Ils ont observé qu'environ 22% des cellules présentaient un corps cellulaire bipolaire (9%) ou multipolaire (13%). Les cellules bipolaires avaient un corps

cellulaire en fuseaux ou ovoïde dont le diamètre variait de 20 à 23 μm . Les cellules multipolaires étaient de grande taille (32 à 38 μm) avec un corps cellulaire ovoïde ou fusiforme ou de petite taille (15-20 μm) avec un corps cellulaire fusiforme ou étoilé. Dans une deuxième étude, Luo et ses collaborateurs (1995) rapportent que 3 de 45 (6%) cellules injectées intracellulairement étaient multipolaires. Dans cette étude, les afférences fusoriales étaient identifiées par l'augmentation de leur décharge pendant l'ouverture de la mâchoire. Compte tenu de la différence importante entre les pourcentages des deux études et, considérant qu'une latence moyenne de 2.9 ms pour une activation antidromique est relativement longue, il existe une possibilité qu'une partie des cellules injectées dans la première étude ont été malencontreusement identifiées et ne seraient peut-être pas des afférences primaires. D'autres études utilisant des rats, rapportent des valeurs de latences d'activation antidromique des neurones du NVmes par une stimulation du nerf masséter inférieures à 1ms (Appenteng *et al.* 1985, Lingenhölh et Friauf 1991).

7.1.2 Classification fonctionnelle des neurones sensoriels du NVmes

Il a déjà été mentionné, au cours des sections précédentes, que les neurones sensoriels primaires du NVmes peuvent être fonctionnellement séparés en deux groupes majeurs : les afférences fusoriales et les afférences parodontales. Ces deux groupes d'afférences montrent une distribution topographique différentielle de leurs corps cellulaires dans le noyau. En effet, les afférences musculaires sont distribuées sur toute l'étendue rostrocaudale du noyau sans démontrer une organisation somatotopique relativement aux différents muscles masticatoires alors que les afférences des récepteurs parodontaux sont principalement concentrées dans la partie caudale du noyau (Jerge

1963; Cody *et al.* 1972; Linden 1978; Gottlieb *et al.* 1984; Capra *et al.* 1984, 1985; Nomura et Mizuno 1985). De plus, des études précédentes ont indiqué qu'environ 20% des neurones du NVmes du chat (Gottlieb *et al.* 1984; Nomura et Mizuno 1985) et environ 10-15% chez le singe (Hassanali 1997) connectent les afférences parodontales alors que le reste innerve les muscles de fermeture. Les sections qui suivent visent à apporter des précisions sur ces deux groupes fonctionnels de neurones.

7.1.2.1 Afférences fusoriales

Il importe de préciser, dans un premier temps, que puisque les muscles d'ouverture de la mâchoire du rat contiennent peu ou presque pas de fuseaux neuromusculaires (Dubner *et al.* 1978), on ne retrouve pas de neurones les innervant dans le NVmes (Limwong et DeSantis 1977; Shigenaga *et al.* 1988a)

En périphérie donc, les terminaisons des afférences fusoriales contactent les fuseaux neuromusculaires. Le fuseau neuromusculaire est une structure réceptorielle de forme allongée constituée d'une couche de tissu conjonctif contenant des fibres musculaires (nommées fibres intrafusales) entourées d'une capsule remplie de fluide. Il existe deux types de fibres intrafusales, les fibres à sac nucléaire (avec des noyaux regroupés au centre de la fibre) et les fibres à chaîne nucléaire (avec des noyaux répartis le long de la fibre). La région centrale des fibres intrafusales n'est pas contractile car elle est dépourvue de myofilaments. Cette partie du fuseau est innervée par des terminaisons dites primaires provenant de fibres sensibles de gros calibre de type Ia. Les régions polaires des fibres intrafusales, d'autre part, sont innervées par des terminaisons dites secondaires provenant de fibres sensibles de plus petit calibre de type II. C'est

l'étirement et la contraction des fibres intrafusales qui causent l'activation des afférences fusoriales. L'étirement de ces fibres se produit lorsque les muscles de fermeture sont étirés lors d'un abaissement de la mâchoire alors que leur contraction résulte de l'activation des motoneurones γ . En raison des propriétés visco-élastiques différentes de leurs sites d'innervations, les afférences fusoriales primaires et secondaires ne sont pas affectées de façon similaire par l'étirement du muscle. Les afférences primaires sont davantage sensibles à la vitesse de l'étirement alors que les secondaires sont plus sensibles au degré d'étirement. La fréquence de décharge des afférences primaires sera corrélée surtout à la vitesse de variation de longueur du muscle (sensibilité dynamique) alors que la fréquence de décharge de afférences secondaires reflètera plus fidèlement les changements de longueur du muscle (sensibilité statique). Un dernier point distinctif entre les afférences primaires et secondaires est l'innervation préférentielle des fibres à chaîne nucléaire par les afférences secondaires.

Les afférences fusoriales des muscles des membres sont classifiées selon différents critères tels que des différences dans le diamètre des fibres, dans leur vitesse de conduction et sur des estimations de leur sensibilité dynamique ou statique à l'étirement. Alors que les afférences fusoriales des muscles des membres peuvent être classifiées aisément en groupe I et groupe II sur la base de ces critères, il en est autrement des afférences fusoriales des muscles de la mâchoire (Cody *et al.* 1972,1975; Inoue *et al.* 1981; Shigenaga *et al.* 1990; Taylor *et al.* 1992). En fait, lorsque les critères énumérés ci-dessus sont considérés, une grande proportion des afférences fusoriales ne semble pas pouvoir être classifiée en primaire et secondaire, et de ce fait, une troisième catégorie dite «intermédiaire» a été désignée qui comprend les afférences fusoriales

possédant à la fois certaines caractéristiques des afférences fusoriales primaires et secondaires (Inoue *et al.* 1981). La différenciation la plus claire entre les types d'afférences fusoriales est révélée par l'administration de substances dépolarisantes telle que la succinylcholine (SCh) (Rack et Westbury 1966; Cody *et al.* 1972; Taylor *et al.* 1992). Cette substance pharmacologique qui exerce une action dépolarisante sur les muscles, affecte de façon différente la réponse des afférences primaires et secondaires à l'étirement dynamique (Cody *et al.* 1972). Gladden (1976) et Gladden et McWilliam (1977) ont démontré que cette substance induit une contraction des fibres intrafusales à sac, mais pas des fibres à chaîne nucléaire (voir aussi Boyd 1985). De ce fait, la SCh cause une augmentation importante de la réponse des afférences primaires (groupe Ia) à la phase dynamique de l'étirement du muscle. L'action différentielle de cette substance sur les deux types de fibres afférentes constitue donc un critère de distinction supplémentaire pour la classification des afférences fusoriales en primaire et secondaire.

Kishimoto *et al.* (1998), dans une étude menée sur des chats et utilisant des enregistrements intra-axonaux, nous livrent une description intéressante d'un protocole visant à classer les afférences fusoriales en primaire et secondaire à l'aide d'une analyse quantitative de leurs réponses à l'étirement avec la SCh. Pour la classification, ils se sont basés, dans un premier temps, sur l'index dynamique (ID) avec une moyenne de 117.6 ± 4.5 impulsions/seconde pour les afférences fusoriales primaires et de 30.4 ± 2.0 impulsions/seconde pour les afférences fusoriales secondaires. L'index dynamique représente la différence entre la fréquence de décharge à la fin de la phase dynamique de l'étirement du muscle et la fréquence de décharge 0.5 seconde après le début de la phase statique de l'étirement lors d'un protocole d'étirement et de maintien (par un

abaissement maintenu de la mâchoire). La SCh affectait significativement la valeur de ID des afférences fusoriales primaires qui chutait à 49 impulsions/seconde (versus 117) mais pas celle des afférences fusoriales secondaires qui changeait très peu (24 impulsions/seconde versus 30). Alors, leur critère de classification principal est devenu le delta ID pour une moyenne de 68.0 ± 5.3 impulsions/seconde pour les afférences Ia et de 6.3 ± 1.8 impulsions/seconde pour les afférences II. Mais de façon générale, ils considèrent qu'avant même l'injection de SCh, les afférences avec un ID plus élevé que 60 peuvent être considérées comme primaires et les afférences avec un ID inférieur à 12 peuvent être considérées comme secondaires.

Dessem *et al.* (1997), dans une étude effectuée sur des rats, ont classifié les afférences fusoriales par rapport à leur ID et leur patron de décharge pendant le protocole d'étirement et de maintien du muscle en présence de SCh. Ils nous fournissent une description de la décharge de ces neurones pendant le protocole d'étirement. D'après leurs observations, les afférences fusoriales primaires montrent une modulation importante de leur décharge pendant l'étirement du muscle. Au sommet de l'étirement, ces afférences démontrent une fréquence de décharge élevée (290-320 impulsions/seconde) et une réduction importante de leur décharge ou un silence pendant la relâche du muscle. Ces neurones présentaient aussi un ID élevé (168.2 impulsions/seconde) ce qui démontre une sensibilité dynamique importante, très certainement causée par la contraction des fibres à sac résultant de l'action de la SCh. Les afférences fusoriales secondaires, d'autre part, montrent une faible modulation de leur décharge pendant l'étirement. Ces afférences étaient caractérisées par leur faible sensibilité dynamique (10.5 impulsions/s), leur faible fréquence de décharge (au sommet

de l'étirement : 52-105 impulsions/seconde) et la réduction modeste de leur fréquence de décharge pendant la relâche du muscle. Ces afférences tendaient à décharger de façon continue pendant toutes les phases de l'étirement du muscle de fermeture de la mâchoire.

Les deux études qui viennent d'être citées avaient été entreprises dans le but de vérifier si ces deux types d'afférences démontraient des projections centrales différentes. Les résultats obtenus à cet égard seront élaborés ultérieurement.

7.1.2.2 Afférences parodontales

Les afférences parodontales sont des mécanorécepteurs dont les terminaisons situées dans les ligaments parodontaux ressemblent à des récepteurs de Ruffini non-encapsulés (Byers *et al.* 1986). Ces terminaisons entourent les racines dentaires et sont activées lorsqu'une pression est appliquée sur les dents. Jerge (1963), dans une étude effectuée sur des chats, a enregistré extracellulairement des neurones dans le NVmes. Il a trouvé des neurones qui répondaient à une pression sur les dents. Certains neurones innervaient une seule dent qu'il a désigné de type I, alors que d'autres innervaient de deux à six dents ainsi que les tissus adjacents qu'il a désigné de type II. Les deux types d'afférences parodontales montraient une adaptation de leur décharge à une pression maintenue et démontraient une sensibilité différentielle à la direction du stimulus. Il a remarqué également une distribution topographique différente des deux types d'afférences parodontales : les afférences parodontales de type I étaient localisées dans la partie centrale du noyau alors que celles de type II étaient localisées dans la partie

caudale du noyau. Linden (1978), toujours dans une étude utilisant des chats, rapporte des propriétés similaires.

Shigenaga et ses collaborateurs (1988, 1989) dans deux études effectuées sur des chats, ont effectué des enregistrements intra-axonaux d'afférences parodontales identifiées par leur réponse à la stimulation électrique du nerf alvéolaire supérieur ou inférieur et à une pression sur les dents. Ces auteurs ont classifié les afférences parodontales du NVmes en afférences à adaptation rapide et à adaptation lente. Les premières, selon leurs observations, sont caractérisées par une décharge transitoire lors d'une tape sur la dent. Les afférences parodontales à adaptation lente, d'autre part, déchargent de façon irrégulière lors d'une pression exercée sur la dent et augmentent leur taux de décharge en fonction de l'augmentation de la pression exercée. Au cours de leurs enregistrements, ils n'ont pas retrouvé d'afférences parodontales innervant plusieurs dents. Selon ces auteurs, les neurones enregistrés par Jerge (1963) et par Linden (1978) qui furent classifiés en tant qu'afférences parodontales de type II étaient probablement localisés à l'extérieur du NVmes.

Avant de conclure, il importe de préciser que les afférences parodontales du NVmes ne représentent qu'une partie de toutes les afférences parodontales du système trigéminal. Les corps cellulaires des autres afférences parodontales se trouvent localisés dans les GT. Ces afférences, tout comme les afférences parodontales du NVmes, démontrent une sensibilité différentielle à la direction du stimulus et peuvent être classifiées, comme dans les études de Shigenaga, en afférences à adaptation lente et en afférences à adaptation rapide. (Appenteng *et al.* 1982). Une étude effectuée par Byers

et Dong (1989) utilisant des rats, des chats et des singes a démontré que les terminaisons des afférences parodontales du NVmes sont plus concentrées à la base des racines dentaires alors que les terminaisons des afférences parodontales ganglionnaires sont plus nombreuses dans la région centrale des racines.

7.1.2.3 Afférences avec une double innervation périphérique

Au cours d'une étude effectuée sur des rats, Zhang *et al.* (1992) ont injecté des traceurs fluorescents différents dans le nerf masséter et dans le nerf alvéolaire inférieur et ont observé des neurones doublement marqués dans la partie caudale du NVmes suggérant qu'un même neurone sensoriel primaire du NVmes possède des collatérales périphériques lui permettant d'innover à la fois les ligaments parodontaux et les fuseaux neuromusculaires. Les neurones doublement marqués représentaient dans l'ensemble un faible pourcentage (allant de 2.8 à 11.8%) de tous les neurones marqués. C'est la seule expérience parmi les études consultées pour cette thèse qui rapporte une telle situation. En fait, c'est aussi la seule étude utilisant des injections simultanées de deux traceurs différents dans les nerfs trigéminaux dont les auteurs se sont intéressés à examiner la possibilité d'une double innervation périphérique. Cependant, plusieurs études dans lesquelles des enregistrements électrophysiologiques des neurones du NVmes étaient effectués et dans lesquelles l'innervation périphérique des neurones enregistrés était systématiquement vérifiée n'ont pas rapporté un tel phénomène. Le faible pourcentage de neurones présentant cette caractéristique peut expliquer cet état de fait. Il est également possible, mais peu probable, que les auteurs qui ont rencontré des cellules présentant des évidences d'une double innervation périphérique se sont contentés d'exclure ces cellules de leur analyse et n'ont pas cru bon de rapporter le phénomène.

Toutefois, Linden (1978) est catégorique. Il a enregistré, dans une étude utilisant des chats, 325 neurones mécanorécepteurs intraoraux dont 280 répondaient à la stimulation mécanique des dents et étaient localisés dans la partie caudale du NVmes et, il précise que aucun de ces neurones ne répondaient à l'ouverture de la mâchoire. Le jeune âge des animaux utilisés dans l'étude de Zhang *et al.* (1992) constitue un facteur qui pourrait expliquer leur résultat. En fait, cette expérience était effectuée sur 4 rats Sprague Dawley pesant de 150 à 200 g (i.e. âgés de 42 à 49 jours). Dans la majorité des études consultées utilisant des rats, des animaux de plus de 200g étaient utilisés. Alors, il existe une possibilité que cette double innervation périphérique relève d'un état transitionnel au cours du développement. Il est également possible que le marquage a traversé les jonctions gap ou qu'il y a eu une contamination des muscles lors des injections dans les nerfs.

7.2 Propriétés intrinsèques des neurones sensoriels du NVmes

Les études portant sur les propriétés intrinsèques des afférences contenues dans le NVmes sont relativement récentes (Henderson *et al.* 1982; Del Negro et Chandler 1997; Yoshida et Oka 1998; Khakh et Hendersen 1998; Pedroarena *et al.* 1999; Wu *et al.* 2001; Tanaka *et al.* 2003). Ces expériences ont été effectuées, dans tous les cas sauf un, sur des préparations de tranches de tronc cérébral. Étant donné que ces neurones projettent au NVmt et aux prémotoneurones qui contrôlent la musculature de la mâchoire, une bonne connaissance des conductances ioniques qui régulent leurs patrons de décharge permet de prédire et de comprendre de quelle manière ces cellules pourraient influencer les mouvements rythmiques de la mâchoire. La toute première

étude est celle d'Henderson *et al.* (1982) dans laquelle une analyse comparative des propriétés électrophysiologiques des cellules du locus coeruleus et des cellules du NVmes était effectuée à l'aide d'enregistrements intracellulaires sur des tranches de tronc cérébral de cochons d'inde. Cette étude a permis de démontrer que ces dernières présentent des propriétés qui les distinguent nettement des premières. Trois éléments caractérisaient particulièrement les cellules du NVmes, soient un potentiel d'action de courte durée (0.53 ± 0.04 ms versus 1.38 ± 0.15 ms pour les cellules du LC), la présence d'une accommodation de leur décharge pendant les pulses dépolarisants ainsi qu'une rectification dite anormale observée pendant les hyperpolarisations membranaires. La brièveté des potentiels d'action de ces cellules s'explique du fait d'une contribution faible ou nulle des conductances calciques dans leur génération, car selon les résultats de la présente étude, ces potentiels d'action étaient complètement abolis par la TTX. Yoshida et Oka (1998) ont effectué une étude des propriétés électrophysiologiques de neurones du NVmes dissociés en culture à partir de cerveaux de rats adultes, à l'aide d'enregistrements intracellulaires en configuration cellule entière, et ont rapporté des propriétés similaires à celles de l'étude d'Henderson et collaborateurs.

7.2.1 Accommodation

La première propriété des cellules du NVmes qui fut investiguée est l'accommodation de la décharge observée pendant les pulses dépolarisants. Une étude de Del Negro et Chandler (1997) effectuée sur des tranches de tronc cérébral de rat, a permis de démontrer que cette accommodation relève de l'activation d'un courant potassique sortant persistant à activation rapide sensible au 4-AP (I_{4-AP}). Le courant I_{4-AP} est activé entre -60 et -30 mV. Ce courant est donc actif au potentiel de repos.

Cependant, une dépolarisation membranaire aura pour effet de recruter davantage de canaux. Lorsque ce courant est bloqué par une application de 4-AP, une décharge répétitive est observée dans les neurones du NVmes. De nombreux autres courants potassiques sortants ont été révélés dans cette étude : un courant potassique sortant transitoire ($I_{\text{TOC-S}}$: TOC = transient outward current) lui aussi sensible au 4-AP, un courant potassique responsable de la rectification retardée ($I_{\text{K-DR}}$) et un courant potassique calcium-dépendant ($I_{\text{K-Ca}}$) tous deux sensibles au TEA ainsi qu'un courant potassique sortant transitoire rapide ($I_{\text{TOC-F}}$) insensible au 4-AP et au TEA. L'application de TEA sur ces cellules n'induit pas une décharge répétitive mais lors de ces applications, les potentiels d'action exhibaient une phase plateau et leur AHP était réduite. Ces plateaux pouvaient être bloqués par l'application de cadmium démontrant leur dépendance au calcium.

La présence de canaux ioniques sensibles au 4-AP a été rapportée sur les terminaisons périphériques (Kirchhoff 1992), l'axone (Kocsis *et al.* 1986,1987) et le corps cellulaire (Puil *et al.* 1989; Spigelman et Puil 1989) des neurones sensoriels ganglionnaires. Le blocage pharmacologique de ces canaux causait des décharges répétitives en bouffées à tous les sites. Il est également probable que les canaux ioniques sur les neurones du NVmes sont uniformément distribués sur toute leur surface, mais cela n'a pas été démontré.

Les canaux potassiques qui médient le courant $I_{\text{K-Ca}}$ sont impliqués dans la post-hyperpolarisation qui suit le potentiel d'action, ils jouent donc un rôle déterminant dans la fréquence de décharge neuronale.

7.2.2 Rectification entrante

La deuxième propriété relevée pendant les enregistrements des cellules du NVmes qui a été investiguée est la rectification entrante très prononcée qui apparaît avec une hyperpolarisation membranaire. Une étude de Khakh et Hendersen (1998), dans laquelle des enregistrements intracellulaires étaient effectués sur une préparation de tranches de tronc cérébral de rats, a permis de démontrer que cette rectification entrante observée en réponse à l'hyperpolarisation membranaire est causée par l'activation du courant I_h . C'est un courant cationique non sélectif voltage dépendant, lent à s'activer et à s'inactiver. Lorsqu'activé par l'hyperpolarisation membranaire, ce courant fait entrer des cations dans la cellule. L'étude de Khakh et Hendersen démontre que, dans les cellules du NVmes, ce courant s'active entre -62 et -132 ($V_{1/2} = -93\text{mV}$) et que son potentiel de renversement se situe autour de -57mV . Ce courant peut être bloqué par une application extracellulaire de césium ou de ZD7288, un agent bradycardiaque. L'application de ces drogues n'évoque pas de changement dans le potentiel membranaire des cellules indiquant que le courant I_h ne contribue pas au potentiel de repos. Une étude plus récente de Tanaka *et al.* (2003) démontre que l'application de ZD7288 prolonge la durée de l'AHP des neurones du NVmes ce qui suggère que ce courant peut contribuer à contrôler la fréquence de décharge dans les neurones du NVmes. En raison de son inactivation lente, ce courant persiste après le retour au potentiel membranaire de repos et contribue, une fois l'inhibition levée, à un rebond dépolarisant favorisant l'excitabilité cellulaire. Il a été postulé que ce courant facilite la transition entre un potentiel membranaire hyperpolarisé vers un potentiel dépolarisé et permet, de ce fait, de limiter l'effet d'un input inhibiteur. C'est donc un courant qui sera

souvent retrouvé dans des cellules impliquées dans un réseau dans lequel elles sont sujettes à une inhibition phasique tels que les motoneurones, par exemple. En fait, ce courant est fréquemment associé à des propriétés pacemaker. Dans une cellule qui n'est pas sujette à une inhibition d'origine synaptique, ce courant va surtout contribuer à hâter la phase repolarisante de l'AHP contribuant ainsi à une décharge soutenue présentant une fréquence élevée.

7.2.3 Les oscillations membranaires

Parmi les propriétés de ces cellules, l'une des plus intéressantes, est la présence d'oscillations consistant en des fluctuations sinusoïdales du potentiel membranaire ayant une amplitude de 1 à 5 mV (Pedroarena *et al.* 1999; Wu *et al.* 2001) se produisant à une fréquence élevée (~100Hz). Ces oscillations peuvent être observées au repos mais elles se produisent plus fréquemment suite à une injection de courant dépolarisant. L'amplitude de ces oscillations augmente avec le niveau de dépolarisation. Par contre, elles sont abolies par une hyperpolarisation membranaire. Ce qui rend cette activité oscillatoire intéressante, c'est que premièrement, il apparaît de toute évidence qu'elle contribue à une plus grande excitabilité cellulaire car elle donne souvent lieu à des bouffées de potentiels d'action dont la fréquence de décharge est corrélée à la fréquence des oscillations qui les ont précédées. De plus, dans bien des cas, ces oscillations ainsi que les bouffées de potentiels d'action qu'elles génèrent présentent un patron rythmique (Wu *et al.* 2001). Pedroarena *et al.* (1999) ainsi que Wu *et al.* (2001) ont démontré, à l'aide d'enregistrements intracellulaires sur une préparation de tranches de tronc cérébral de rats, que ces oscillations du potentiel membranaire sont générées de façon intrinsèque et ne dépendent pas d'inputs synaptiques, car elles persistent dans un milieu sans

calcium avec concentration de magnésium élevée qui prévient la transmission synaptique. Les conductances ioniques qui les engendrent consistent en un courant sodique entrant persistant (I_{NaP}) sensible au TTX ainsi qu'un courant potassique sortant (non-inactivating) sensible à de faibles doses de 4-AP (I_{4-AP}). Le courant sodique persistant contribue à la phase dépolarisante des oscillations du potentiel membranaire alors que le courant potassique serait responsable de la phase repolarisante. En fait, Wu et ses collaborateurs suggèrent que ces oscillations émergent de l'interaction entre des propriétés de résonance de ces cellules avec les courants mentionnés ci-dessus. Il ne semble pas y avoir d'implication de courants calciques ni de courants potassiques dépendants du calcium dans ce phénomène, car l'activité oscillatoire n'est pas modifiée par l'administration de bloqueurs de ces canaux (Pedroarena *et al.* 1999). Cette observation est d'importance car elle permet de distinguer cette activité oscillatoire des oscillations résultant des propriétés de bistabilité membranaire retrouvées dans de nombreux neurones impliqués dans des phénomènes rythmiques ou périodiques. Une activité oscillatoire similaire à celle observée dans les afférences du NVmes a aussi été enregistrée dans les neurones des ganglions des racines dorsales (GRD) tant *in vivo* (Amir *et al.* 2002) qu'*in vitro* (Amir *et al.* 1999). Dans les neurones des GRD, cette activité repose sur les mêmes bases ioniques que dans les cellules du NVmes et produit également une hyperexcitabilité cellulaire qui serait responsable des décharges ectopiques rencontrées dans les états de dysesthésies neuropathiques et de douleurs chroniques.

7.2.4 Conductances calciques

Lors de leur étude sur les neurones du NVmes dissociés, Yoshida et Oka (1998) ont révélé l'existence de deux conductances calciques voltage-dépendantes dans ces neurones en supprimant les courants potassiques (en remplaçant le potassium par du césium) et en augmentant la concentration extracellulaire de calcium dans un médium sans sodium. L'un des courants calciques mis en évidence présentait un seuil d'activation élevé (il s'activait entre -20 et -5 mV), une inactivation lente et donnait lieu à des plateaux de potentiel. Ce courant pouvait être aboli par l'application de nifedipine, ce qui signifie qu'il résultait de l'activation des canaux calciques de types L. Le deuxième courant calcique mis en évidence était un courant transitoire qui présentait un seuil d'activation faible (il s'activait entre -45 et -35 mV). Ce courant était bloqué par l'application de nickel.

7.3 Interaction cellulaire dans le NVmes

7.3.1 Couplage électrotonique entre les neurones du NVmes

La présence de couplage électrotonique entre les cellules du NVmes a été fréquemment rapportée (Hinrichsen et Larramendi 1968, 1969, 1970). Selon ces auteurs, les neurones du NVmes forment des agrégats de 2 à 9 cellules. Des agrégats de 2 à 3 cellules seraient distribués sur toute l'étendue du noyau. Mais des agrégats plus importants sont observés dans la partie caudale du noyau. Les adhésions cellulaires étaient observées entre les somas des cellules ou entre les somas et les segment initiaux de l'axone de d'autres cellules. De plus, il semble que le couplage soit régulé pendant le développement, car ces auteurs ont remarqué qu'il y avait moins de cellules couplées

chez la souris néonatale que chez la souris adulte. Baker et Llinas (1971), quant à eux, ont obtenu des évidences électrophysiologiques de couplage électrotonique entre les neurones du NVmes. À l'aide d'enregistrements intracellulaires, ils ont observé que la stimulation électrique du nerf trigéminal évoque une dépolarisation tout ou rien de courte latence, (0.18 ± 0.11 ms) et de faible amplitude (1.48 ± 1.25 mV) qu'ils ont baptisée SLD «*short latency depolarization*», dans environ 10% des neurones sensoriels primaires retrouvés dans le NVmes. Les SLD ont généré des potentiels d'action dans 65% des neurones dans lesquels elles étaient observées. Ils ont démontré que les SLD ne provenaient pas de l'activation directe, par la stimulation du nerf, de la cellule enregistrée, car elles n'entraient pas en collision avec les potentiels d'action orthodromiques évoqués par injection de courant dans la cellule enregistrée. Ils ont postulé que ces potentiels originaient du couplage électrotonique entre les neurones du NVmes et non pas d'un input synaptique du fait de leur latence extrêmement courte plus rapide que le délai synaptique minimal rencontré dans le SNC des mammifères, de leur caractère tout ou rien, et du fait qu'ils n'étaient pas affectés par les changements de voltage. Finalement, ils ont suggéré que dans les cas où un potentiel d'action pouvait être généré avec une SLD, en dépit de la faible amplitude de ces réponses, la jonction électrotonique était probablement localisée près du site d'initiation des potentiels d'action (couplage axo-somatique). Hinrichsen (1970) a également enregistré de petits potentiels à cinétique rapide similaires aux SLD de Baker et Llinas, qu'il a également attribués au couplage électronique en raison de leur cinétique rapide. Il a suggéré que ces réponses représentaient des potentiels d'action originant d'une ou de plusieurs cellules d'un agrégat qui étaient captés dans la cellule enregistrée via le couplage

électrotonique. Il a stipulé que via le couplage, les cellules d'un agrégat ont la possibilité d'être synchronisées en une unité fonctionnelle. Selon lui, cette synchronisation pourrait conduire à une amplification de l'input, puisque la décharge d'un seul élément pourrait produire la décharge de toutes les cellules assemblées. Selon Linden (1978), il est peu probable que les afférences fusoriales et les afférences parodontales du NVmes soient couplées, car lors des enregistrements dans ce noyau aucun neurone ne répondait à la fois à une stimulation musculaire et intra-orale.

7.3.2 Interaction synaptique entre les neurones du NVmes

Des évidences d'une interaction synaptique entre les cellules du NVmes ont été fournies par Luo et Dessem (1996) dans une étude effectuée sur des rats. Ces auteurs ont combiné une injection de HRP dans les muscles de fermeture de la mâchoire avec une injection intracellulaire de biotinamide dans une afférence fusoriale et ont observé des appositions entre des corps cellulaires et des boutons marqués fournissant une évidence morphologique d'une interaction synaptique entre les afférences fusoriales du NVmes.

Par rapport à cette interaction synaptique intranucléaire, la question se pose à savoir si les afférences fusoriales ne contactent pas également les interneurons dans le noyau. À cet égard, dans une autre de leur étude (Dessem et Luo 1999) dans laquelle le marquage intracellulaire avec de la neurobiotine d'afférences fusoriales identifiées physiologiquement a été combiné à des injections d'HRP dans les segments C2-C5 de la moelle épinière, ils rapportent la présence de cellules multipolaires marquées rétrogradement dans le NVmes qui sont contactées par des terminaisons contenant le traceur intracellulaire (Dessem et Luo 1999, figure 2 C). Les auteurs se sont contentés

de décrire le résultat sans lui attribuer une interprétation. Mais, une telle observation suppose l'existence d'une interaction synaptique entre les interneurons du NVmes et les afférences fusoriales. Et, si tel est le cas, cela pourrait expliquer la latence moyenne d'activation antidromique de 2.9 ± 0.9 ms obtenue par la stimulation du nerf masséter dans l'étude de Luo *et al.* (1991). Certaines des cellules injectées intracellulairement ont probablement été activées indirectement par une afférence fusoriale à laquelle elles étaient liées synaptiquement, ce qui a probablement contribué à cette latence élevée.

7.4 Projections centrales des neurones sensoriels du NVmes

Les afférences fusoriales et les afférences parodontales du NVmes projettent aux motoneurons. Mais, ces afférences projettent également à de nombreux autres groupes neuronaux dans le tronc cérébral et, les données démontrent une distribution préférentielle des projections centrales pour les différentes classes d'afférences. Dans cette section, nous n'allons pas établir une liste exhaustive des études traitant de ce sujet mais, nous allons nous intéresser seulement aux études qui ont déterminé les sites de projection de ces afférences à l'aide de marquage intracellulaire. Une telle sélectivité va permettre de souligner les différences dans les patrons de projection des afférences parodontales et des afférences fusoriales du NVmes.

7.4.1 Projections centrales des afférences fusoriales du NVmes

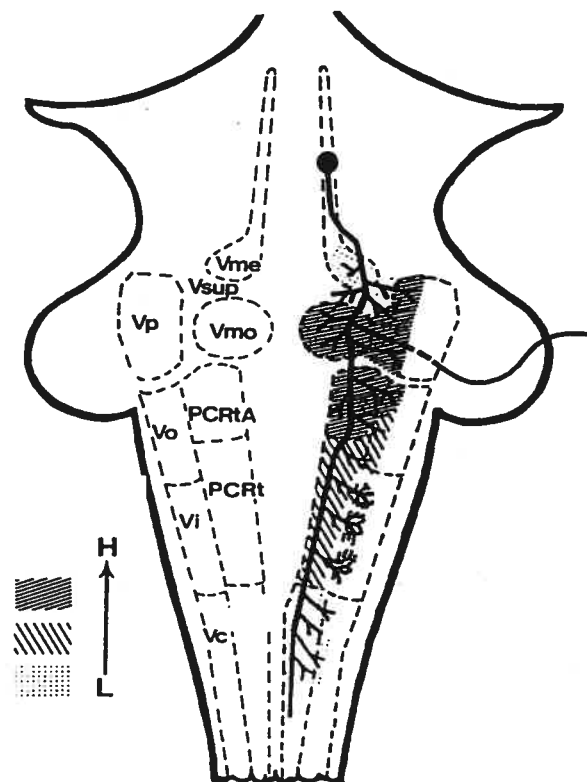
Les informations de cette section proviennent de diverses études de l'équipe de Luo et Dessem (Dessem et Taylor 1989; Luo et Li 1991; Luo *et al.* 1991, 1995, 2001; Dessem *et al.* 1997; Dessem et Luo 1999; Luo et Dessem 1999; Zhang *et al.* 2001,

2003). Dans ces études, utilisant les rats comme préparation, ces auteurs se sont intéressés à décrire et caractériser les projections centrales des afférences fusoriales marquées à l'aide d'injections intra-axonales de HRP ou de biotinamide. Dans une de ces études (Dessem *et al.* 1997), ils se sont préoccupés d'établir une distinction entre le type primaire et secondaire des afférences injectées, mais dans les autres études, cette distinction n'était pas établie. La figure 6 tirée de Luo *et al.* (1995a) résume et schématise les projections centrales des afférences fusoriales du NVmes.

Premièrement, tous les axones possédaient une branche périphérique qui quittait le tronc cérébral dans la racine motrice du nerf trigéminal, une branche ascendante dans le tractus du NVmes et une branche descendante dans le tractus de Probst. Ces axones bifurquaient soit à l'intérieur du NVmt ou en position légèrement dorsale à ce noyau. Des bifurcations légèrement caudales au NVmt ont aussi été observées à l'occasion. Une des branches se dirigeait rostralement à l'intérieur du tractus du NVmes et l'autre se dirigeait caudalement pour pénétrer dans le tractus de Probst. La branche rostrale se terminait en un corps cellulaire le plus souvent dépourvu de dendrite localisé dans le NVmes. Des collatérales émergeaient de toutes les divisions de l'axone. Des collatérales axonales possédant des boutons terminaux et des boutons en passant émergeaient de la branche périphérique et se dirigeaient dans le NVmt. Des collatérales axonales émergeaient également de la branche ascendante dans le tractus mésencéphalique et projetaient dans la région dorsale au NVmt. Des collatérales axonales émergeaient également de la branche descendante dans le tractus de Probst qui se dirigeaient ventro-latéralement dans le tronc cérébral.

Plus précisément, des collatérales axonales et des boutons étaient observés dans les parties dorsomédiane et dorsolatérale du NVmt, dans SupV, dans la partie dorsomédiane du NVsnpr et la formation réticulée adjacente, dans le noyau spinal oralis et la formation réticulée adjacente, dans le noyau interpolaris et la formation réticulée adjacente, dans le noyau caudalis et la partie dorsale de la formation réticulée médullaire. Les collatérales et les boutons terminaux étaient particulièrement abondants au niveau du NVmt, de SupV et de NVsnpr. Quelques terminaisons et collatérales étaient observées dans la partie caudale du NVmes avec des boutons qui contactaient le corps cellulaire de d'autres cellules dans le NVmes. Plusieurs collatérales émergeaient au niveau du tractus de Probst qui longe médialement le noyau spinal pour se diriger dans la division alpha du PCRt (PCRt- α , i.e. la partie latérale du PCRt), dans le PCRt et dans le NVspo. Au niveau de NVspi, de nombreuses collatérales avec de nombreux boutons émergeaient de l'axone central dans le tractus de Probst. Les terminaisons étaient retrouvées surtout dans le pôle dorsal et dans la partie médiane de NVspi. Au niveau de NVspc, des collatérales émergeaient du tractus de Probst et se dirigeaient vers la partie dorsale de la formation réticulée médullaire et dans les lamina IV et V du NVspc.

Figure 6



Schématisme des projections centrales des afférences fusoriales du NVmes. La densité relative des boutons dans les différentes régions est indiquée par la densité de l'ombragé. Vme: noyau mésencéphalique du trijumeau; Vsup: région supratrigéminal; Vmo: noyau moteur trigéminal; Vp: noyau sensoriel principal du trijumeau; Vo: noyau spinal oralis du trijumeau; Vi: noyau spinal interpolaris du trijumeau; Vc: noyau spinal caudalis du trijumeau Luo et al. 1995.

En plus de ces régions, il apparaît que les neurones du NVmes projettent au NXII. Zhang *et al.* (2001, 2003) ont injecté une dextran amine biotinylée dans le NVmes par microiontophorèse pour un marquage antérograde de ces neurones et ont injecté du HRP ipsilatéralement dans la langue pour marquer les motoneurones hypoglosses de façon rétrograde. Ils ont observé des terminaisons marquées et des synapses sur les dendrites et les corps cellulaires des motoneurones hypoglossaux, principalement dans la partie dorsale du noyau. Ces résultats démontrent qu'il existe une connection monosynaptique entre les neurones du NVmes et les motoneurones XII. Cette connection monosynaptique contribue probablement à l'activation réflexe des muscles extrinsèques de la langue qui se produit en réponse à une stimulation des afférences fusoriales des muscles de fermeture de la mâchoire (Morimoto *et al.* 1978).

Luo *et al.* (1991) rapportent également une projection des afférences fusoriales au noyau facial accessoire, un noyau adjacent au NVII qui contient des motoneurones innervant certains muscles faciaux ainsi que la partie postérieure du muscle digastrique.

Dessem *et al.* (1997) ont observé des collatérales émergeant du tronc commun des afférences fusoriales qui projetaient au cervelet.

Dans une autre étude, Dessem et Luo (1999) ont observé des cellules unipolaires et multipolaires dans le NVmes marquées rétrogradement par des injections d'HRP dans les segments C2-C5 de la moelle épinière, suggérant que certains neurones du NVmes projettent directement à la moelle épinière cervicale. Ils ont postulé que cette voie

neuronale pourrait être impliquée dans la coordination des mouvements de la tête et du cou pendant la mastication et la morsure.

La caractéristique morphologique qui distingue les afférences fusoriales primaires des afférences fusoriales secondaires selon l'étude de Dessem *et al.* (1997) est la distribution plus dense des collatérales axonales et des boutons en provenance des afférences secondaires dans la région dorsale au NVmt (i.e. SupV). Les afférences primaires, pour leur part, ont une projection plus importante au NVmt. Kishimoto *et al.* (1998), dans une étude utilisant des chats, rapportent exactement le même résultat. De plus, ils observent que les deux types d'afférences contactent les dendrites proximaux et distaux des motoneurones de fermeture de la mâchoire, mais qu'un plus grand nombre de contacts sur les dendrites proximaux est retrouvé pour les afférences primaires et, un plus grands nombre de contacts sur les dendrites distaux est retrouvé pour les afférences secondaires.

7.4.2 Projections centrales des afférences parodontales du NVmes

C'est l'équipe de Shigenaga qui s'est intéressée aux projections centrales des afférences parodontales du NVmes au cours d'études effectuées sur des chats (Shigenaga *et al.* 1988b, 1989; Bae *et al.* 1996). Dans leurs études, les afférences parodontales étaient identifiées par leur réponse à la stimulation électrique du nerf alvéolaire supérieur ou inférieur et à une pression sur les dents, et marquées à l'aide d'injections intra-axonales de HRP.

L'organisation générale de l'arbre axonal des afférences parodontales ressemblait à celle des afférences fusoriales en ce sens que l'axone était divisé en une branche périphérique qui quittait le tronc cérébral dans la racine motrice ou sensorielle du nerf trigéminal, une branche ascendante dans le tractus du NVmes et une branche descendante dans le tractus de Probst. Ces axones bifurquaient dorsalement au NVmt. Une des branches se dirigeait rostralement à l'intérieur du tractus du NVmes et l'autre se dirigeait caudalement pour pénétrer dans le tractus de Probst. La branche rostrale se terminait en un corps cellulaire le plus souvent dépourvu de dendrite localisé dans le NVmes. Tout comme pour les afférences fusoriales, des collatérales émergeaient de toutes les divisions de l'axone. Plus précisément, pour les afférences à adaptation lente, des collatérales et des boutons projetaient dans les parties dorsale et latérale du NVmt, dans SupV, dans IntV, dans le PCRt et dans NVsnpr. Les collatérales et les boutons terminaux étaient particulièrement abondants dans SupV. Les afférences parodontales à adaptation rapide, projetaient des collatérales dans la partie dorsolatérale du NVmt, dans SupV, dans IntV, dans NVsnpr et dans NVspo. Tout comme pour les afférences parodontales à adaptation lente, les collatérales et les boutons terminaux étaient particulièrement abondants dans SupV.

À cet égard, l'importante innervation de SupV par les afférences parodontales appuie la thèse de l'équipe de Shigenaga que les neurones innervant plusieurs dents enregistrés par Jerge (1963) et par Linden (1978) étaient probablement localisés à l'extérieur du NVmes. Il est possible en effet, que ces auteurs enregistraient près de la limite ventrale du NVmes dans SupV. Les neurones enregistrés à ce niveau recevaient

probablement un input convergent de plusieurs afférences parodontales ce qui pourrait expliquer un champ récepteur étendu.

7.4.3 Connexion entre les neurones sensoriels du NVmes et les motoneurones trigéminaux

De toute évidence, tant les afférences fusoriales que les afférences parodontales du NVmes projettent de manière sélective aux motoneurones de fermeture puisque leurs collatérales axonales terminent dans la partie dorsale du NVmt où se trouvent localisés ces motoneurones. Dans leur étude de 1996, Shigenaga et ses collaborateurs ont comparé l'arrangement synaptique des terminaisons des afférences fusoriales et des afférences parodontales du NVmes sur un motoneurone α du masséter. Ils rapportent que contrairement aux afférences fusoriales, les afférences parodontales n'établissaient pas de contacts synaptiques avec les corps cellulaires des motoneurones et en établissaient rarement avec les dendrites proximales mais, qu'elles contactaient préférentiellement les dendrites distales de ces neurones. Luo et Dessem (1999), pour leur part, ont combiné une injection de HRP dans les muscles masséter et temporalis pour marquer les motoneurones de fermeture de la mâchoire à une injection intracellulaire de biotinamide dans des afférences fusoriales et ont observé que 70% des boutons marqués avec la biotinamide formaient des synapses axo-dendritiques avec les motoneurones marqués rétrogradement. Un petit pourcentage (environ 30%) de synapses axo-somatiques étaient observés. Selon ces deux études, les terminaisons des neurones sensoriels du NVmes contenaient des vésicules synaptiques sphériques claires et établissaient le plus souvent des synapses asymétriques avec les motoneurones trigéminaux. Ces caractéristiques suggèrent que la connexion entre les neurones

sensoriels du NVmes et les motoneurones trigéminaux est excitatrice. En effet, nous avons déjà appris que les neurones sensoriels du NVmes sont glutamatergiques (Coprav *et al.* 1990; Turman et Chandler 1994b; Lazarov 2000). Plusieurs études électrophysiologiques utilisant des enregistrements intracellulaires rapportent qu'une stimulation électrique du NVmes ou une stimulation infra-seuil des nerfs innervant les muscles de fermeture produit des PPSEs monosynaptiques dans les motoneurones de fermeture de la mâchoire et ce, chez plusieurs espèces dont le rat (Kidokoro *et al.* 1968; Goldberg et Tal 1978; Goldberg *et al.* 1982; Appenteng *et al.* 1985; Lingenhöhl et Friauf 1991; Trueblood *et al.* 1996). Dans l'optique de déterminer le neurotransmetteur impliqué dans la transmission entre les neurones sensoriels du NVmes et les motoneurones trigéminaux, Chandler (1989) a testé l'effet d'applications iontophorétiques de plusieurs antagonistes des acides aminés excitateurs sur les potentiels de champs monosynaptiques évoqués dans ces motoneurones par une stimulation électrique du NVmes. Les résultats de cette étude, réalisée sur des cochons d'inde anesthésiés, révèlent un effet antagoniste de plusieurs bloqueurs à large spectre des récepteurs des acides aminés excitateurs (glutamate et aspartate) sur ces potentiels de champs monosynaptiques, mais seulement un effet minimal de l'APV, un bloqueur spécifique des récepteurs glutamatergiques NMDA. L'auteur a donc conclu de ces résultats que la transmission entre les neurones sensoriels du NVmes et les motoneurones trigéminaux est médiée par l'action d'un acide aminé excitateur principalement via l'activation des récepteurs non-NMDA. Dans une étude ultérieure effectuée sur une préparation de tranches de tronc cérébral de cochons d'inde, Chandler et ses collaborateurs (Trueblood *et al.* 1996) ont déterminé, à l'aide d'enregistrements intracellulaires des motoneurones trigéminaux dans un médium sans magnésium pour

prévenir le blocage des récepteurs NDMA, que les PPSEs enregistrés dans les motoneurones trigéminaux en réponse à une stimulation électrique du NVmes sont médiés par l'activation des récepteurs glutamatergiques NMDA et non-NMDA.

7.5 Afférences au NVmes

Il y a de nombreuses évidences que les corps cellulaires des cellules du NVmes sont contactés par des boutons dont certains établissent des contacts synaptiques (Hinrichsen et Larramendi 1968; Alley 1973; Nomura *et al.* 1985; Copray *et al.* 1991; Liem *et al.* 1991, 1992, 1993, 1997; Lazarov et Chouchkov 1995a, b; Liem et Copray 1996; Zhang *et al.* 1997; Lazarov *et al.* 2000; Chen *et al.* 2001; Honma *et al.* 2001). En effet, contrairement aux neurones sensoriels localisés dans les ganglions périphériques, les corps cellulaires des neurones du NVmes ne sont que partiellement couverts par les prolongements des cellules gliales (Coprax *et al.* 1990b) de telle sorte que la surface somatique est apte à recevoir des contacts synaptiques. De plus, d'après leurs observations en microscopie électronique, Copray *et al.* (1990b) rapportent que des synapses somatiques sont parfois même incluses dans le recouvrement astrocytique suggérant une recapture très efficace des neurotransmetteurs libérés à la synapse au sein de ce noyau. Dans les sections qui suivent, nous allons nous concentrer sur les inputs synaptiques au NVmes. Dans un premier temps, nous tenterons d'identifier les groupes neuronaux qui projettent à ce noyau, pour ensuite déterminer la nature neurochimique des boutons qui contactent les neurones qu'il contient. Par la suite, nous passerons en revue les études immuno-histochimiques qui ont permis de révéler les récepteurs membranaires retrouvés sur ces neurones ainsi que les études électrophysiologiques et

pharmacologiques qui ont examiné l'effet de l'activation de ces inputs ou l'effet des applications d'une panoplie de substances neuro-actives sur ces cellules.

7.5.1 Projections au NVmes

Plusieurs études utilisant des injections de traceurs antérogrades ont démontré que le NVmes reçoit des inputs de la formation réticulée du tronc cérébral et du CNST (Rokx *et al.* 1986, 1988; Minkels *et al.* 1991; Buisseret Delmas *et al.* 1997).

Par exemple, Rokx *et al.* 1986 ont injecté de la PHA-L dans SupV et ont montré que cette région projette ipsilatéralement au NVmes. Dans une autre étude, cette même équipe (Rokx *et al.* 1988) a effectué des injections de ce traceur antérograde dans le PCRt et a démontré une projection bilatérale de ce noyau aux neurones du NVmes. Des injections dans la partie dorsale de la formation réticulée médullaire ont démontré une projection ipsilatérale de cette région aux neurones du NVmes. Par contre, des injections dans la partie ventrale de la formation réticulée médullaire n'ont pas révélé de projection au NVmes. Des injections dans le noyau para-gigantocellulaire ont également révélé une projection de ce noyau au NVmes. Minkels *et al.* 1991 ont également observé des fibres axonales et de nombreux boutons marqués dans le NVmes bilatéralement suite à l'injection d'un traceur antérograde dans le PCRt.

Buisseret-Delmas *et al.* (1997) pour leur part ont démontré, également à l'aide de traceurs antérogrades (biocytine et BDA), l'existence d'une projection directe bilatérale du NVsnpr et du NVsp aux cellules du NVmes. Leurs observations suggèrent que des contacts synaptiques sont réalisés tant sur les corps cellulaires que sur les prolongements

des neurones du NVmes. Il y avait de nombreuses varicosités sur les fibres marquées dans le NVmes et plusieurs neurones du NVmes étaient entourés par des fibres marquées. Les fibres et les varicosités longeaient les neurones du NVmes et se terminaient occasionnellement par un bouton donnant l'impression d'un contact axosomatique direct. Les terminaisons marquées se voyaient dans la partie la plus caudale du NVmes. Les projections de NVspo et NVspi étaient les plus nombreuses, celles du NVsnpr étaient modérées et celles de NVspc étaient plus rares.

Il y a également des évidences que les cellules du NVmes reçoivent un input de l'hypothalamus (Yamamoto *et al.* 1988; Nagy *et al.* 1986; Inagaki *et al.* 1987), de la substance grise péri-aqueductale (Yamamoto *et al.* 1988), de l'amygdale (Kettrek et Price 1978), de la substance noire et de l'aire tegmentale ventrale (Lakke *et al.* 2000; Copray *et al.* 1990a). Également, plusieurs divisions du noyau raphé projettent au NVmes (Coprav *et al.* 1991; Li *et al.* 2000; Lazarov et Chouchkov 1995b).

7.5.2 Nature neurochimique des projections au NVmes

Coprav *et al.* (1990c) ont effectué une étude immunohistochimique utilisant des anticorps contre 17 neurotransmetteurs et neuropeptides pour déterminer la nature neurochimique des boutons contactant les neurones du NVmes du rat. Ils observent que les neurones pseudounipolaires du NVmes démontrent une immunoréactivité au glutamate et, dans une moindre mesure, pour l'aspartate. Dans cette étude, les auteurs expriment leurs réserves sur ce marquage comme pouvant refléter un marquage métabolique. Cependant, Turman *et al.* (1994b) ont montré que, en plus d'une immunoréactivité pour le glutamate, les neurones du NVmes montraient une

immunoréactivité pour la glutaminase confirmant que dans ces neurones le glutamate n'exerce pas seulement une fonction métabolique mais est utilisé comme neurotransmetteur. Dans l'étude de Copray *et al.* (1990c), aucune autre immunoréactivité pour aucun autre neurotransmetteur ou neuropeptide n'a été retrouvée dans les corps cellulaires des cellules pseudounipolaires du NVmes ce que confirme également Lazarov (2000) chez le chat. À part cela, de nombreuses fibres variqueuses et des terminaisons démontrant une immunoréactivité pour plusieurs neurotransmetteurs ont été observées.

L'étude de Copray *et al.* (1990c) montre que les neurones du NVmes étaient entourés étroitement de fibres immunoréactives pour la sérotonine qui s'étendaient également sur le locus coeruleus et le noyau parabrachial adjacents. À l'occasion, certains axones donnaient lieu à des varicosités et à des boutons apposés aux neurones du NVmes, donnant l'impression d'un contact axo-somatique direct. Ultérieurement, Copray *et al.* (1991) ont confirmé que les boutons immunoréactifs à la sérotonine observés sur le corps cellulaire, l'axone et les prolongements dendritiques des cellules du NVmes présentaient les spécialisations membranaires synaptiques conventionnelles. Liem *et al.* (1996) estiment que plus de la moitié (58%) des terminaisons contactant synaptiquement les corps cellulaires des neurones du NVmes seraient sérotonergiques. Lazarov et Chouchkov (1995b) rapportent également une innervation sérotoninergique des neurones du NVmes chez le chat. Ils précisent de plus qu'à de rares occasions, les varicosités axonales immunopositives à la sérotonine couvraient la surface neuronales de petites cellules à l'intérieur du NVmes suggérant un input sérotoninergique non seulement aux neurones sensoriels du NVmes mais également aux interneurones de ce

noyau. Chez le lapin, Kolta *et al.* (1993) rapportent la présence de fibres sérotonergiques à proximité des corps cellulaires et même du segment initial de l'axone des afférences fusoriales du NVmes marquées rétrogradement par l'application d'un traceur fluorescent sur le nerf massétérique. Des techniques de traçage combinées à une immunohistochimie contre la sérotonine ont révélé que l'input sérotoninergique aux neurones du NVmes origine des noyaux raphé méso-pontique, des noyaux raphé de la médulla ainsi que du noyau réticulaire gigantocellulaire (Copray *et al.* 1991; Li *et al.* 2000; Lazarov et Chouchkov 1995b).

Selon l'étude de Copray *et al.* (1990c), la majorité des neurones dans la partie caudale du NVmes étaient entourés par un dense réseau de fibres immunoréactives pour la dopamine qui s'étendait également sur le locus coeruleus et le noyau parabrachial adjacents. Dans une étude ultérieure (Liem *et al.* 1997), Copray et ses collaborateurs ont démontré qu'environ 20% des boutons synaptiques et des varicosités retrouvés dans le NVmes étaient dopaminergiques. La majorité (88%) des terminaisons synaptiques contenant de la dopamine établissaient des synapses avec des dendrites (ce qui pourrait signifier en fait que ces terminaisons contactaient surtout les interneurons du NVmes puisque cette étude est effectuée chez le rat lequel montre une faible incidence de cellules multipolaires dans le NVmes). Une minorité (12%) des boutons immunoréactifs à la dopamine contactaient les corps cellulaires des cellules du NVmes et représentaient en fait, 52% de toutes les synapses axo-somatiques. Liem *et al.* (1997) suggèrent qu'il puisse exister une colocalisation de la sérotonine et de la dopamine dans les fibres contactant les neurones du NVmes. En fait, plusieurs études rapportent la présence de neurones contenant la sérotonine dans les noyaux dopaminergiques tels que la substance

noire compacte et le groupe A10 (Steinbush 1984) et de neurones contenant de la dopamine dans les noyaux sérotonergiques du raphé (Descarries *et al.* 1986; Ochi et Shimuzu 1978). Il apparaît que l'input dopaminergique au NVmes du rat provient de plusieurs groupes de cellules dopaminergiques localisées dans la substance noire (Lakke *et al.* 2000), l'aire tegmentale ventrale et l'hypothalamus médian (Copray *et al.* 1990a). En fait, Lakke *et al.* (2000) démontrent même une organisation topographique de la projection des neurones de la substance noire aux neurones du NVmes. Il apparaît selon cette étude que les neurones localisés dans la partie latérale de la substance noire compacte projettent principalement à la partie caudale du NVmes alors que les projections des neurones de la partie médiane sont distribuées dans tout le NVmes.

Toujours selon l'étude de Copray *et al.* (1990c), un dense réseau granulaire de fibres immunoréactives au GABA présentant de nombreuses petites varicosités rondes était observé dans le NVmes. Ce réseau couvrait également les noyaux adjacents. Chen *et al.* (2001), au cours d'une étude de microscopie électronique, ont démontré que les terminaisons axonales immunopositives pour la «*glutamic acid decarboxylase*» (GAD; une enzyme impliquée dans la synthèse du GABA) dans le NVmes du rat établissaient des contacts synaptiques symétriques avec le soma des afférences fusoriales marquées par une injection de WGA-HRP dans le masséter. Lazarov et Chouchkov (1995a) et Lazarov (2000), relèvent eux aussi la présence d'un dense réseau de fibres GABAergiques à l'intérieur du NVmes et de terminaisons GABAergiques synapsant les corps cellulaires des neurones pseudo-unipolaires du NVmes chez le chat. De plus, leurs études démontrent la présence de quelques neurones de petite taille immunopositifs au GABA, tel que déjà mentionné, apposés aux neurones pseudo-unipolaires. Cet input

GABAergique aux neurones du NVmes peut être en partie intrinsèque étant donné la présence d'interneurones GABAergiques dans le noyau, mais peut provenir également de neurones localisés dans le PCRt, SupV et dans le CNST car tous ces groupes cellulaires qui projettent au NVmes, contiennent des neurones GABAergiques au sein de leur population (Ginestal et Matute 1993; Turman et Chandler 1994a; Li *et al.* 1996; Kolta *et al.* 2000).

Copray *et al.* (1990c) révèlent que les neurones du NVmes étaient également entourés de plusieurs fibres noradrénergiques qui originaient du locus coeruleus voisin dont quelques unes formaient des boutons terminaux à proximité des neurones. Dans une étude menée sur des chats, Lazarov (2000) a comparé des coupes sur lesquelles une immunohistochimie contre la tyrosine hydroxylase (TH) (une enzyme impliquée dans la synthèse des catécholamines) avec été réalisée et des coupes sur lesquelles une immunohistochimie contre la dopamine avait été effectuée. À partir des résultats de cette comparaison, il a estimé que les neurones du NVmes du chat étaient entourés de fibres et de varicosités noradrénergiques. Dans une autre étude, Lazarov et Chouchkov (1995) ont effectué une double immunohistochimie contre la TH et le GABA, et ces chercheurs observent que des fibres, des varicosités ainsi que des structures ressemblant à des boutons terminaux immunopositives pour la TH entouraient les neurones du NVmes mais que ces structures contactaient rarement les petits neurones GABAergiques. Dans cette même étude, ils affirment que les terminaisons TH n'établissaient pas de contacts synaptiques malgré les appositions observées suggérant une libération non-synaptique des neurotransmetteurs catécholaminergiques. Ceci est en contradiction avec les résultats de Liem *et al.* (1997) lesquels, chez le rat, rapportent

l'existence de synapses dopaminergiques sur les neurones du NVmes. L'input noradrénergique aux neurones du NVmes provient essentiellement du locus coeruleus adjacent (Grzanna *et al.* 1987; Copray *et al.* 1990c).

En plus de ces neurotransmetteurs, des fibres, des boutons et des varicosités immunopositifs pour plusieurs peptides étaient retrouvés dans le NVmes : la substance P, le peptide vasoactive intestinal, le neuropeptide Y, la leu-enképhaline, le bombésin/gastrin releasing peptide et la cholecystokinin. Tashiro *et al.* (1989) et Lazarov (2000) rapportent également la présence de plusieurs neuropeptides dans les terminaisons axonales contactant les cellules du NVmes du chat. Il a été suggéré que les neuropeptides dans les neurones agiraient en tant que neuro-modulateurs et seraient colocalisés avec les neurotransmetteurs classiques (Lundberg et Hokfelt 1983).

Finalement, l'étude de Copray (1990c) nous apprend qu'il n'y a pas de fibres immunoréactives pour l'adrénaline, la glycine et l'acétylcholine parmi les fibres contactant les neurones du NVmes. Lazarov (2000) n'a pas réussi non plus à détecter ces neurotransmetteurs dans le NVmes du chat.

À cause de leurs réserves quant à la signification de l'immunoréactivité au glutamate, Copray *et al.* (1990c) n'ont pas décrit les fibres et les terminaisons glutamatergiques dans le NVmes du rat. Cependant, Lazarov (2000) rapporte la présence de boutons glutamatergiques formant des synapses avec les dendrites des neurones du NVmes du chat. Cet input glutamatergique aux neurones du NVmes peut être en partie intrinsèque étant donné qu'il a été démontré que les neurones sensoriels du

NVmes se contactent l'un l'autre (Luo et Dessem 1996) et qu'ils sont glutamatergiques. Mais, une partie de l'input glutamatergique aux neurones du NVmes peut originer de neurones localisés dans le PCRt, SupV et dans le CNST car tous ces groupes cellulaires qui projettent au NVmes, contiennent des neurones glutamatergiques au sein de leur population (Turman et Chandler 1994b; Kolta *et al.* 2000).

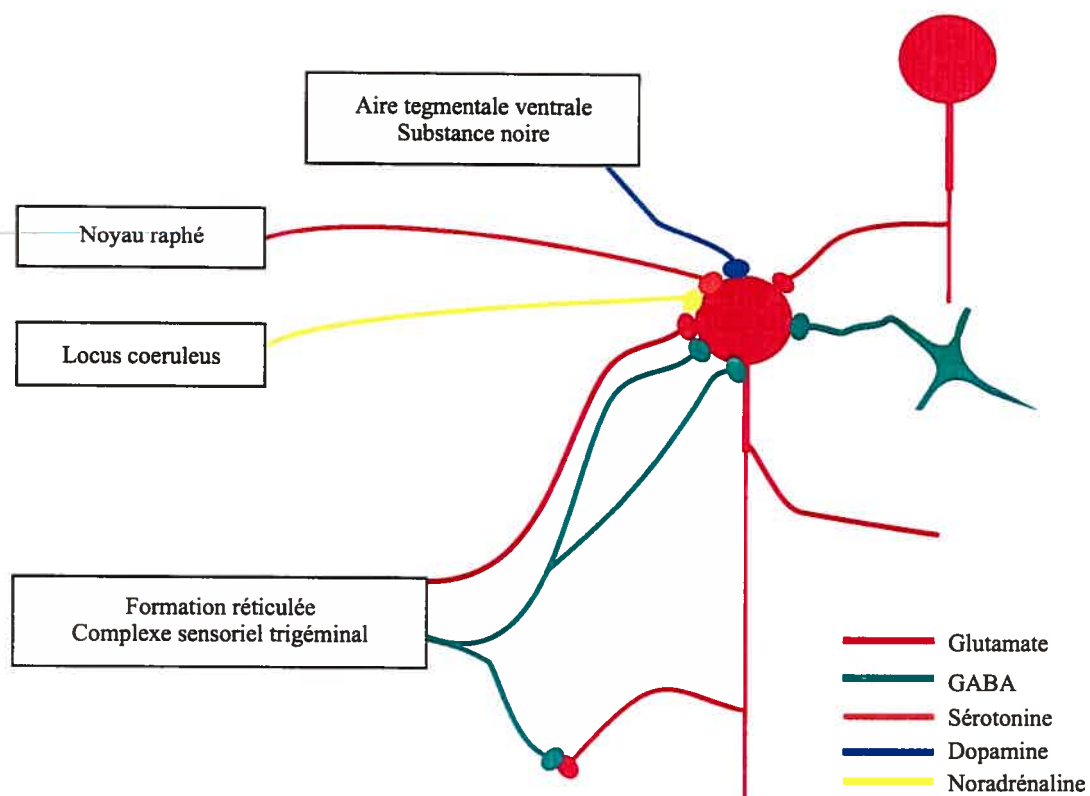
Un input histaminergique aux neurones du NVmes du rat a également été décrit qui originerait de l'hypothalamus (Inagaki *et al.* 1987). Cependant, Lazarov (2000) n'a pas détecté de fibres immunopositives pour l'histamine dans le NVmes du chat et, Copray et ses collaborateurs n'ont pas testé ce neurotransmetteur dans leur étude.

Également, un plexus immunopositif pour l'adénosine déaminase originant de l'hypothalamus postérieur et projetant au NVmes a été rapporté par Nagy *et al.* (1986) suggérant l'existence d'un input purinergique aux cellules du NVmes.

Pose *et al.* (2003) ont trouvé des fibres démontrant une immunoréactivité pour l'enzyme de synthèse de l'oxide nitrique (NOS) contactant les neurones du NVmes du rat. Ces fibres donnaient lieu à des structures en boutons terminaux sur le corps cellulaire, le segment initial de l'axone ainsi que le long de l'axone des afférences primaires dans le NVmes.

La figure 7 schématise les principaux inputs aux neurones du NVmes

Figure 7



Schématisation des inputs synaptiques aux neurones sensoriels du NVmes. À partir des études citées dans la section 7.5.2 intitulée "Nature neurochimique des projections au NVmes".

7.5.3 Ultrastructure des terminaisons synaptiques dans le NVmes

Liem et ses collaborateurs (1991) ont effectué une analyse des inputs synaptiques sur les neurones du NVmes en microscopie électronique. Cette étude révèle que chez le rat, les neurones du NVmes sont apposés avec 4 ou 5 boutons par 100 μm de périmètre cellulaire. Dans une étude ultérieure, Liem et ses collaborateurs (1992) ont compté 588 boutons dans la partie caudale du NVmes du rat, et moins de 8% d'entre eux formaient des synapses sur le soma des cellules. Lazarov (2000), quant à lui, dans une étude sur le chat, observe que 85% des terminaisons sur les neurones du NVmes formaient des synapses alors que 15% n'étaient pas impliquées dans des spécialisations membranaires synaptiques.

Honma *et al.* (2001) ont injecté intracellulairement du HRP dans une afférence fusoriale identifiée électrophysiologiquement ainsi que dans une afférence parodontale et ont comparé les terminaisons synaptiques sur ces deux types cellulaires. Ils rapportent une incidence de 10.7 boutons par 100 μm^2 de membrane postsynaptique sur l'afférence fusoriale et une incidence de 4.4 boutons par 100 μm^2 de membrane postsynaptique sur l'afférence parodontale. Ce résultat suggère que les afférences fusoriales reçoivent davantage de contacts synaptiques que les afférences parodontales. Il est un point intéressant à relever dans cette étude : les auteurs rapportent, pour les deux types d'afférence, la présence de synapses sur le segment initial de l'axone dans une proportion de 3.5%. Tous les boutons retrouvés sur le segment initial de l'axone étaient de type P, c'est-à-dire qu'ils contenaient un mélange de vésicules synaptiques

pléomorphiques caractéristiques des terminaisons GABAergiques (Yang *et al.* 1997a, b; Bae *et al.* 1999, 2000).

7.5.4 Récepteurs membranaires des neurones du NVmes

Des études d'immunohistochimie, d'hybridation *in situ* et d'autoradiographie des récepteurs ont permis de démontrer que ces cellules possèdent des récepteurs pour certains des neurotransmetteurs retrouvés dans les boutons qui les contactent.

Par exemple, Kolta *et al.* (1993), à l'aide d'une technique d'autoradiographie de récepteurs, ont trouvé que les neurones du NVmes du lapin possédaient un nombre abondant de récepteurs 5-HT₂, mais pas de récepteurs 5-HT₁ et 5-HT₃. Cornea-Hébert et collaborateurs (1999) ont également démontré, à l'aide d'une étude immunohistochimique, la présence de récepteurs 5-HT_{2A} dans les neurones du NVmes rat. Morales *et al.* (1998) ont démontré la présence de récepteurs 5-HT₃ dans les neurones du NVmes du rat, alors que Bonaventure *et al.* (1998) ont démontré l'expression d'ARNm codant pour le récepteur 5-HT_{1D} chez le cochon d'inde.

Lazarov et Pilgrim (1997) ont démontré, à l'aide d'une étude d'immunohistochimie et d'hybridation *in situ* chez le chat, la présence de cellules immunopositives pour le récepteur D₁ localisées sur toute l'étendue rostro-caudale du NVmes et de cellules immunopositives pour le récepteur D₂ concentrées dans la partie caudale du NVmes. Il est connu que les afférences primaires retrouvées dans le NVmes démontrent une ségrégation fonctionnelle en ce sens que les afférences fusoriales sont

distribuées sur toute l'étendue de noyau et que les afférences parodontales sont concentrées dans la partie caudale du NVmes. Les auteurs ont conclu que la distribution des récepteurs dopaminergiques sur les cellules du NVmes reflète la distribution différentielle des deux types d'afférences et laisse supposer que les afférences fusoriales possèdent le récepteur D_1 et que les afférences parodontales possèdent le récepteur D_2 . Cette ségrégation des récepteurs D_1 et D_2 à des sous-populations différentes des neurones du NVmes indique, selon eux, que les neurones du NVmes sont sujets à une régulation différentielle par l'input dopaminergique et que les deux types d'afférences primaires peuvent être modulés différemment par la dopamine. Il est concevable que la dopamine puisse exercer des effets opposés dans les deux sous-populations de cellules. Cette hypothèse est également soutenue par l'observation que la projection des neurones de la substance noire aux neurones du NVmes démontre une organisation topographique (Lakke *et al.* 2000) suggérant que l'innervation dopaminergique des afférences fusoriales et des afférences parodontales proviendrait de groupes neuronaux distincts.

Pour ce qui est du GABA, Hayar *et al.* (1997) ont démontré à l'aide d'une technique d'hybridation *in situ* que les neurones du NVmes expriment l'ARNm des sous-unités α_2 , β_2 et γ_2 du récepteur $GABA_A$. De même, Ishii et Kang (2002), à l'aide de la technique single-cell RT-PCR, ont démontré que le récepteur $GABA_A$ dans les neurones du NVmes est le plus souvent composé de deux sous-unités α , une sous-unité β et deux sous-unités γ . Les sous-unités les plus fréquemment détectées dans cette étude étaient α_2 , α_5 , β_1 , γ_1 , γ_2 . De plus, une immunoréactivité pour la sous-unité $GABA_B R1$ du récepteur $GABA_B$ a récemment été révélée dans les corps cellulaires des cellules du NVmes (Margeta-Mitrovic *et al.* 1999). Toutefois, une étude récente (Li *et al.* 2001)

révélaient l'absence de la sous-unité GABA_BR2 dans les neurones du NVmes, laquelle est absolument requise pour l'obtention d'un récepteur GABA_B fonctionnel suggérant que le récepteur GABA_B n'est pas impliqué dans la transmission GABAergique à ces neurones.

Mineff *et al.* (1998) ont effectué un marquage immunohistochimique de différentes sous-unités du récepteur AMPA dans le NVmes du rat. Il en ressort que les neurones pseudo-unipolaires du NVmes sont immunopositifs pour les sous-unités GluR2/3 et GluR4 et immunonégatifs pour la sous-unité GluR1. Cependant, les petits neurones multipolaires du NVmes sont immunopositifs pour les sous-unités GluR1, GluR2/3 et immunonégatifs pour la sous-unité GluR4. Turman *et al.* (2000) ont relevé la présence de ces mêmes sous-unités dans le NVmes sans cependant établir de distinction entre les types de cellule. Le récepteur AMPA consiste en un complexe hétéropentamérique composé d'au moins deux sous-unités différentes (Schoepfer *et al.* 1994; Wenthold *et al.* 1996). Les neurones pseudo-unipolaires et les neurones multipolaires du NVmes expriment différentes sous-unités du récepteur et peuvent donc former des complexes de récepteurs distincts avec une composition de sous-unités différente ayant des propriétés fonctionnelles différentes. De plus, Turman *et al.* (1999) ont effectué une étude immunohistochimique qui démontre que les neurones du NVmes expriment les sous-unités NR1 et NR2A/B du récepteur NMDA. Les neurones du NVmes expriment également des récepteurs KA (Petralia *et al.* 1994) ainsi que les ARNm codant pour les récepteurs métabotropiques mGluR4 et mGluR7 (Shigemoto et Mizuno 2000).

Mineff *et al.* (1998) ont effectué un marquage immunocytochimique sur des rats de la géphyrine une protéine qui est retrouvée dans le récepteur glycinergique et ont démontré que les corps cellulaires pseudo-unipolaires du NVmes sont immunonégatifs.

Finalement, Buell *et al.* (1996) ont démontré que les neurones du NVmes exprimaient des ARNm codant pour les sous-unités des récepteurs purinergiques P2X, alors que Rosin *et al.* (1998) rapportent l'existence de récepteurs adénosine A_{2A} dans le NVmes. Les neurones du NVmes sont également pourvus de récepteurs histaminergiques H₁ et H₃ (Sakata 1995).

7.5.5 Réponses physiologiques des neurones du NVmes

Malgré la profusion de données anatomiques démontrant que les neurones du NVmes sont contactés par de nombreux boutons contenant une variété de neurotransmetteurs, il n'existe pas dans la littérature actuelle d'évidence de réponse postsynaptique dans ces cellules. Hendersen *et al.* (1982) dans leur étude comparative entre les neurones du locus coeruleus et les neurones du NVmes rapportent qu'il était relativement aisé d'évoquer des potentiels synaptiques dans les cellules du locus coeruleus en stimulant électriquement la surface de la tranche mais, qu'aucun potentiel synaptique ne pouvait être évoqué dans les cellules du NVmes. En fait, en réponse à leurs stimulations électriques, ils ont observé de petits potentiels dépolarisants de faible amplitude et de courte durée (< 10mV; < 5ms) qui étaient suivis d'une faible hyperpolarisation. Ces réponses biphasiques persistaient dans un médium sans calcium ce qui démontre qu'elles n'étaient pas d'origine synaptique. Les auteurs ont postulé que ces réponses biphasiques provenaient de l'invasion électrotonique du neurone enregistré

par un potentiel d'action généré dans une cellule voisine couplée. En fait, les réponses biphasiques enregistrées dans cette étude rappellent les SLD de Baker et Llinas (1971; voir section 6.3.1). Baker et Llinas n'ont pas fait mention d'une phase hyperpolarisante dans les réponses qu'ils ont enregistrées, cependant leurs illustrations semblent démontrer que leurs SLD étaient suivies d'une légère hyperpolarisation. De même, Minkels et ses collaborateurs (1991) ont enregistré intracellulairement des afférences fusoriales et des afférences parodontales dans le NVmes et n'ont pas réussi à détecter de potentiel postsynaptique suite à une stimulation électrique dans le PCRt malgré qu'ils ont démontré dans cette même étude une projection de ce noyau au NVmes à l'aide d'un traceur antérograde.

Il apparaît qu'il est non seulement difficile d'enregistrer des potentiels postsynaptiques dans ces neurones, mais également que les cellules du NVmes semblent réfractaires à la plupart des neurotransmetteurs (Colonnier *et al.* 1979; DeMontigny et Lund 1980; Regenold *et al.* 1988). Par exemple, les neurones du NVmes sont extrêmement résistants à l'action neurotoxique de l'acide kainique (Colonnier *et al.* 1979; DeMontigny et Lund 1980), un analogue puissant du glutamate qui produit une dégénération neuronale dans la plupart des neurones en induisant une dépolarisation importante et prolongée (Olney *et al.* 1974). En fait, cette propriété des neurones du NVmes fut même exploitée dans une étude de Luschei (1987). Dans cette étude effectuée sur le chat, cet auteur a injecté une leucine radioactive dans ce noyau après lésion des neurones adjacents par l'acide kainique dans le but de déterminer de façon exclusive les sites de projection des cellules qui le composent. Également, au cours d'une étude *in vivo* chez le rat, DeMontigny et Lund (1980) ont appliqué par



microiontophorèse sur ces cellules de l'acide kainique, du glutamate, de l'aspartate, de l'histamine, de la dopamine, de la noradrénaline, de la glycine, de l'acétylcholine et du GABA sans percevoir d'effet de ces substances sur l'activité neuronale des neurones du NVmes évoquée par une stimulation périphérique. En fait, seule la sérotonine semble avoir causé une inhibition de la décharge des afférences fusoriales trigéminales. Regenold et ses collaborateurs (1988) n'ont pas réussi non plus, lors d'enregistrements intracellulaires dans les neurones du NVmes, à détecter un effet de l'adénosine et de plusieurs agonistes des récepteurs purinergiques sur ces neurones.

Cependant, il est possible que l'absence de réponse des neurones du NVmes aux applications de neurotransmetteurs dans les études citées ci-dessus puisse être imputable à des problèmes techniques ou à un mode d'application inadéquat. Car, s'il n'existe toujours pas, à l'heure actuelle, de rapport de réponses postsynaptiques dans les neurones du NVmes, plusieurs études récentes démontrent que ces neurones répondent à certains des neurotransmetteurs dont l'application n'avait produit aucun effet dans les études précédentes.

Dans une étude *in vitro* de tranches de tronc cérébral de rats, Pelkey et Marshall (1998) ont démontré qu'une application locale de glutamate cause une dépolarisation de 1 à 6 mV de longue durée (8 à 40 s) dans les neurones du NVmes via l'activation des récepteurs NMDA et non-NMDA. De plus, l'application d'agonistes des récepteurs glutamatergiques ionotropiques causait souvent une dépolarisation suffisante pour atteindre le seuil de décharge. Cette dépolarisation causait des oscillations desquelles émergeaient les potentiels d'action.

Dans une autre étude, Marshall et ses collaborateurs (Hayar *et al.* 1997) ont démontré qu'une application de GABA sur les afférences primaires du NVmes cause une dépolarisation membranaire pouvant atteindre 15 mV. Cette dépolarisation était accompagnée d'une diminution de la résistance d'entrée de la cellule allant jusqu'à 70%. De plus, le GABA semblait causer une augmentation de l'excitabilité en ce sens que la probabilité d'évoquer des potentiels d'action par une injection de courant dépolarisant ou au rebond d'un pulse hyperpolarisant était augmentée en présence de GABA. En fait, cette augmentation de l'excitabilité était observée surtout peu après le pic de la dépolarisation, après une récupération partielle de la résistance d'entrée. Cet effet du GABA pouvait être répété par l'application d'isoguvacine un agoniste GABA_A et bloqué par la bicuculline et le SR 95531 des antagonistes du même récepteur. Par contre, l'application de baclofen un agoniste GABA_B ne produisait pas de dépolarisation et n'affectait pas la résistance d'entrée des cellules enregistrées. Ces résultats suggèrent que le GABA exerce cette action dépolarisante via l'activation des récepteurs GABA_A. Si un tel résultat peut paraître surprenant étant donné que le GABA est considéré comme le principal neurotransmetteur inhibiteur dans le système nerveux central, il n'est pas inattendu. En effet, il est connu que le GABA dépolarise également les neurones des GRD (Feltz et Rasminsky 1974; Gallagher *et al.* 1978) et des GT (Puil et Spigelman 1988) via l'activation des récepteurs GABA_A. Le GABA dépolarise les afférences primaires des GRD et des GT parce que leur potentiel de renversement du chlore est plus dépolarisé que le potentiel membranaire de repos en raison d'une concentration intracellulaire de chlore plus élevée que les autres cellules du système nerveux. Par

conséquent, lorsque le GABA active le canal chlore, ces ions sortent de la cellule et causent une dépolarisation au lieu d'une hyperpolarisation.

Le GABA exerce également un effet dépolarisant dans le système nerveux immature. De nombreuses études le démontrent dans différentes populations neuronales. Ces études ne seront pas détaillées dans le cadre de cette thèse. Ce que nous voulons en tirer c'est de comprendre le mécanisme qui favorise un effet dépolarisant du GABA particulièrement lors de la transition entre une action dépolarisante du GABA vers une action hyperpolarisante lors de la maturation. Ces études ont permis de déterminer les changements cellulaires qui soutiennent cette transition. Il semble que dans les neurones immatures, la concentration intracellulaire de chlore est plus élevée de 20-40mM que dans les neurones du cerveau adulte. Cette concentration plus élevée relèverait d'une expression différentielle des co-transporteurs cation-chlore à différents stades du développement. Deux co-transporteurs sont importants dans la régulation de la concentration intracellulaire du chlore. Le NKCC1, un co-transporteur qui favorise l'accumulation de Cl^- dans la cellule et le KCC2, un co-transporteur qui favorise l'extrusion de cet ion (Sun et Murali 1999; Sung et al 2000). Le NKCC1, semble-t-il, est exprimé dans les stades précoces du développement, alors que le KCC2 ne serait exprimé que plus tardivement au cours de la maturation neuronale. Il y a des évidences que l'apparition du co-transporteur cation-chlore KCC2 constitue le facteur clé responsable du changement du potentiel de renversement du Cl^- qui convertit l'action dépolarisante du GABA en une action hyperpolarisante au cours du développement postnatal (Payne 1997; Rivera *et al.* 1999; Ben-Ari 2002 pour revue). Kanaka *et al.* (2001), à l'aide de la technique d'hybridation *in situ*, ont démontré que les neurones du

NVmes et les neurones des GRD des rats adultes n'expriment pas l'ARNm codant pour le co-transporteur KCC2 mais que par contre, ils expriment l'ARN pour le NKCC1. Donc, il semble que dans les neurones sensoriels primaires, le GABA reste dépolarisant même après la maturation du cerveau et ce, comme aux tous premiers stades du développement, parce que le co-transporteur KCC2 n'est tout simplement jamais exprimé.

Deux études rapportent un effet de l'ATP sur les neurones sensoriels du NVmes. La première étude, celle de Cook et collaborateurs (1997) démontre qu'une application d'ATP sur les neurones du NVmes cause une décharge continue de ces neurones. Ces auteurs rapportent que le courant évoqué par les applications d'ATP est bloqué par le suramin, un antagoniste des purinocepteurs cationiques P2X. Khakh *et al.* (1997) ont également appliqué de l'ATP ainsi que deux agonistes (ATP γ S et $\alpha\beta$ meATP) sur les neurones du NVmes. Ces substances ont provoqué un courant entrant dans les cellules testées (potentiel de maintien -62 mV) qui était accompagné d'une augmentation de la conductance membranaire. Ce courant, qui renversait autour de 0 mV, était affecté par l'application de suramin un antagoniste des purinocepteurs cationiques P2X. Ces deux études suggèrent que les neurones du NVmes possèdent des récepteurs purinergiques P2X fonctionnels dont l'activation résulte en une augmentation de l'excitabilité cellulaire.

Finalement, dans une étude récente, Pose *et al.* (2003) ont démontré, à l'aide d'enregistrements intracellulaires sur des tranches de tronc cérébral de rats que le NO augmente l'excitabilité des neurones du NVmes et modifie certaines de leurs propriétés

électrophysiologiques. L'application de DETA/NO (un donneur de NO) cause une dépolarisation membranaire de 1 à 6 mV. Au cours de cette dépolarisation, l'application d'un courant qui était infraseuil auparavant cause la génération de trains de potentiels d'action. L'application de DETA/NO cause aussi une diminution de la résistance d'entrée dans 80% des cellules. Le NO est une molécule neurotransmetteur/neuromodulateur particulière. Il peut être produit par les fibres nerveuses, et son récepteur est une enzyme cytosolique soluble. Par conséquent, il n'est nul besoin de structures pré et postsynaptiques spécialisées pour que la neurotransmission nitreurgique se produise. En raison de l'habilité du NO à diffuser à travers les membranes cellulaires, il est plus que probable que lorsque les fibres contactant les neurones du NVmes le produisent, la neurotransmission est automatique.

7.6 Comportement des neurones sensoriels du NVmes pendant la mastication

L'activité des afférences fusoriales pendant la mastication active a été enregistrée par Taylor et ses collaborateurs (Taylor et Cody 1974; Cody *et al.* 1975; Appenteng *et al.* 1980; Taylor *et al.* 1981; Gottlieb et Taylor 1983) au cours d'études effectuées sur des chats et par Goodwin et Luschei (1975) dans une étude effectuée sur des singes éveillés. Les deux groupes ont enregistré des afférences fusoriales primaires (groupe Ia) et secondaires (groupe II) dans le NVmes. Les auteurs des études citées ci-dessus rapportent que les afférences fusoriales secondaires avaient tendance à être actives à toutes les phases du cycle et leur fréquence de décharge était souvent proportionnelle au degré d'ouverture de la mâchoire, elles étaient, par conséquent, plus actives (80 à 200

Hz) à la fin de l'ouverture de la mâchoire. Les afférences fusoriales primaires, d'autre part, ont montré une certaine sensibilité à la longueur du muscle, mais leur sensibilité à la vitesse du mouvement était plus importante : elles ont déchargé de courtes bouffées avec une fréquence intra-bouffée pouvant atteindre jusqu'à 600 Hz au début et à la fin de la phase d'ouverture. Nous avons vu dans la section 6.4 que les motoneurones γ montraient deux types de comportements pendant la mastication. Il a été proposé que l'activité tonique des motoneurones γ dynamiques sert à maintenir la sensibilité des terminaisons primaires à l'étirement alors que les motoneurones γ statiques seraient activés pendant le raccourcissement du muscle pour maintenir l'activité dans les deux groupes de fibres afférentes pendant la fermeture (Appenteng *et al.* 1980; Taylor *et al.* 1981; Gottlieb et Taylor 1983).

Seules les afférences parodontales dans le ganglion ont été enregistrées pendant la mastication par Appenteng *et al.* (1982b) dans des lapins anesthésiés mâchant un tube en caoutchouc. Les résultats de cette étude seront pris en compte pour inférer du comportement des afférences parodontales du NVmes pendant la mastication puisque ces deux types d'afférences semblent posséder des propriétés communes. Les afférences parodontales à adaptation lente sont activées dès le contact avec l'aliment. Cependant la fréquence de décharge de ces neurones augmente graduellement au fur et à mesure que la pression sur les dents augmente pendant la fermeture lente. Il y avait une relation linéaire entre la fréquence de décharge de ces neurones et la pression exercée sur les dents. En revanche, les afférences parodontales à adaptation rapide déchargent une bouffée de potentiels d'action aussitôt que les dents contactent l'aliment et deviennent ensuite silencieuses. Même pendant l'occlusion, ces afférences ne déchargent pas.

La figure 7 modifiée à partir d'une illustration de la revue de Lund *et al.* (1985) résume le comportement des afférences fusoriales du NVmes et des afférences parodontales pendant la mastication.

Cette section sur le NVmes arrive à sa conclusion ici. Cependant, certaines informations et certaines précisions sur les cellules de ce noyau, surtout en ce qui a trait à leur connectivité avec les autres composants du tronc cérébral et ultimement à leur connectivité avec les éléments mêmes du GPC, ont été réservées qui seront divulguées au fur et à mesure dans les sections ultérieures.

Figure 8

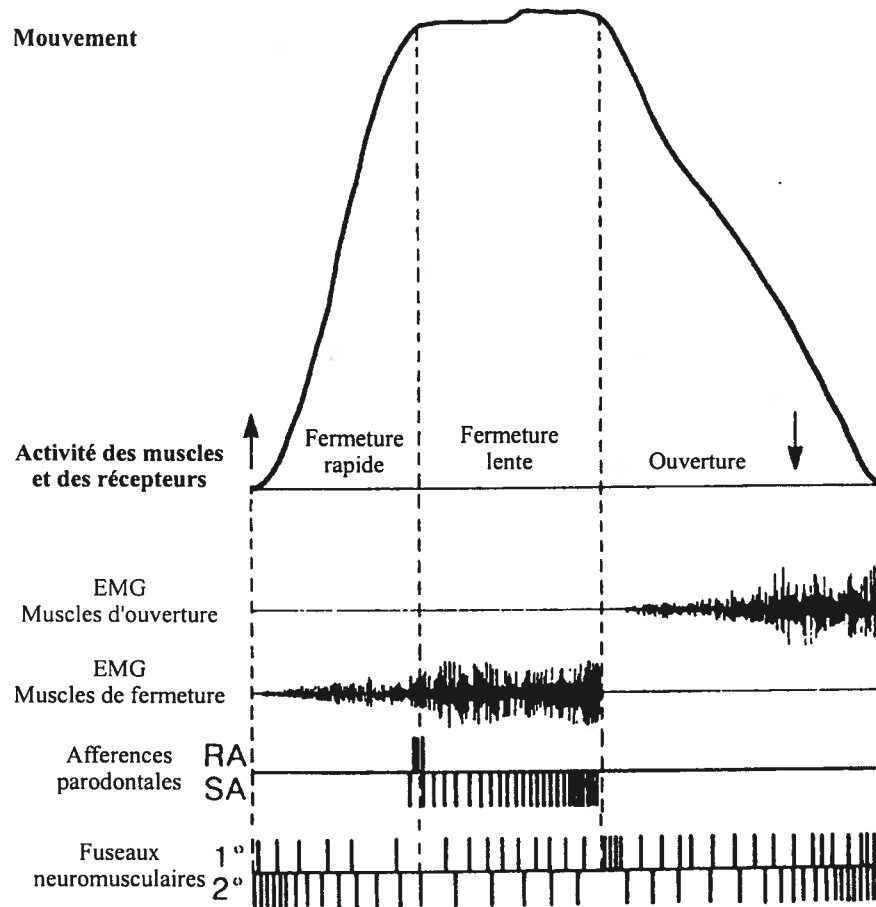


Diagramme schématique résumant le patron d'activité des muscles et des afférences sensorielles pendant la mastication. Les patrons de décharge des afférences parodontales à adaptation lente (SA) et à adaptation rapide (RA) ainsi que des afférences fusoriales primaires secondaires sont illustrés. Le déplacement de la mâchoire est montré dans le haut de la figure et le cycle a été divisé en trois phases. *Lund et al. 1985.*

8. LA FORMATION RÉTICULÉE DU TRONC CÉRÉBRAL ET LE CNST

Cette section ne vise pas une caractérisation ni une analyse détaillée des groupes neuronaux qui composent ces deux régions, mais uniquement à effectuer un survol des connaissances générales permettant de comprendre leur implication dans le contrôle neuronal de la mastication. Il est intéressant de traiter de la formation réticulée et du CNST de façon commune, car dans plusieurs études les neurones de ces régions sont investigués simultanément. Nous avons vu dans la section 7 que les neurones sensoriels du NVmes projettent à plusieurs régions de la formation réticulée et du CNST et que de plus, ces afférences primaires reçoivent un input de ces régions. Cette connexion réciproque laisse supposer que les neurones de la formation réticulée et du CNST sont en mesure d'exercer un contrôle rétroactif sur les neurones du NVmes. Alors, il importe de connaître la nature, les propriétés, les inputs et outputs des neurones de la formation réticulée et du CNST pour être en mesure d'entrevoir comment ces neurones pourraient contribuer à moduler l'excitabilité des afférences primaires du NVmes.

8.1 Composition de la formation réticulée et du CNST

La formation réticulée est constituée surtout de cellules de petite taille et de taille moyenne (Mizuno *et al.* 1983). Selon l'étude de Bourque et Kolta (2001), l'arbre dendritique des neurones des différentes régions entourant le NVmt s'étend horizontalement sur une distance moyenne de $385 \pm 33 \mu\text{m}$ mais tend à rester confiné

localement dans les différentes subdivisions. Il ne semble pas exister de différence cyto-architecturale marquante entre les divisions de PériV (Mizuno 1970) et c'est probablement pour cette raison que Meessen et Olszewski (1949) les avaient désignées collectivement sous le terme de région h. Pour ce qui est du CNST, des différences cyto-architecturales sont non seulement rapportées entre les quatre divisions, mais également au sein d'un même noyau (Shigenaga *et al.* 1986b). Le NVsnpr est composé d'une grande densité de cellules de taille moyenne ou de petite taille ayant un corps cellulaires rond ou ovoïde. Cette région est communément divisée en une partie dorsale (NVsnpr.d) et une partie ventrale (NVsnpr.v), la densité des cellules étant moindre ventralement. Il semble selon une étude de Yoshida *et al.* (1998) que la plupart des neurones du NVsnpr possèdent un arbre dendritique le plus souvent confiné à l'intérieur du noyau à l'exception des neurones localisés dans la partie médiale dont les dendrites s'étendent de façon extensive dans IntV. Certains neurones du NVsnpr possèdent un tronc axonal ascendant dépourvu de collatérales. D'autres possèdent un tronc axonal ascendant dont émergent des collatérales qui innervent les structures adjacentes du tronc cérébral ainsi que la division dorsolatérale du NVmt et d'autres possèdent un tronc axonal et des collatérales impliqués uniquement dans le circuit local. En ce qui concerne NVspo, trois régions se distinguent cyto-architecturalement. Une partie rostrale contient de grandes cellules multipolaires identifiée NVspo.r. Caudalement, on retrouve une région ventrolatérale (NVspo.c) composée de petites cellules ovales ou fusiformes et de cellules de taille moyenne triangulaires et fusiformes ainsi que de grandes cellules multipolaires. Toujours dans la partie caudale du NVspo, on retrouve une région dorsomédiane (NVspo.dm) comprenant principalement de petites cellules arrangées de façon compacte. Selon la nomenclature de Eisenman *et al.* (1963), le NVspo désigne

communément les sous-noyaux oralis et interpolaris du noyau spinal trigéminal et se divise en trois subdivisions. La division rostrale est désignée NVspo- γ , alors que la subdivision médiane est désignée NVspo- β . La division caudale du NVspo de Eisenman *et al.* correspond au sous noyau interpolaris et se nomme NVspo- α . Au cours d'une étude effectuée sur des chats, Yoshida *et al.* (1994) ont injecté des neurones du NVspo avec du HRP. Ils ont observé que les neurones du NVspo peuvent être séparés en deux groupes selon que leurs collatérales axonales projettent dans la division dorsolatérale ou ventromédiane du NVmt (i.e. au pool de motoneurones de fermeture ou d'ouverture respectivement). Le NVspi est composée de petites cellules et de cellules de taille moyenne ovales ou fusiformes. Le NVspc se divise en trois régions distinctes soient les sous-noyaux marginalis, gelatinosus et magnocellularis et présente une organisation laminaire similaire à celle de la moelle épinière.

Nous avons déjà appris que la formation réticulée et le CNST contiennent des neurones glutamatergiques, GABAergiques et glycinergiques (Brodal *et al.* 1988; Ginestal *et al.* 1993; Turman et Chandler 1994a,b; Li *et al.* 1996; Rampon *et al.* 1996; Kolta *et al.* 2000) et que dans la plupart de ces neurones le GABA et la glycine se trouvent colocalisés.

8.2 Propriétés intrinsèques des neurones de la formation réticulée et du CNST

Peu d'auteurs se sont intéressés aux propriétés intrinsèques des neurones de la formation réticulée et du CNST. Pour ce qui est de la formation réticulée, Bourque et

Kolta (2001) ont effectué des enregistrements intracellulaires des interneurons localisés dans les régions entourant le NVmt dans une préparation *in vitro* de tranches de tronc cérébral et ont démontré que les interneurons de toutes les divisions de PériV et de PCRt ont des propriétés intrinsèques relativement uniformes. Ces neurones montraient une décharge régulière tonique lors d'injection de courant dépolarisant supra-seuil dont la fréquence tendait à augmenter avec le niveau de dépolarisation. Près de la moitié des neurones (45%) ne montraient pas d'adaptation de leur décharge alors que 55% arrêtaient de décharger pendant les pulses dépolarisants de longue durée. Des potentiels d'action rebonds étaient observés dans plusieurs neurones dans toutes les divisions à la fin des pulses hyperpolarisants. Une rectification entrante pendant les hyperpolarisations membranaires, révélatrice de la présence du courant I_h , n'était rencontrée que dans 12% des neurones enregistrés. Dans toutes ces régions, des neurones spontanément actifs déchargeant à une fréquence de 3 à 32Hz étaient retrouvés. Un très faible pourcentage (5%) de neurones montraient des comportements de décharges en bouffées révélés par une injection de courant hyperpolarisant. De part leurs propriétés intrinsèques, les auteurs ont postulé que les neurones de PériV et de PCRt ne généraient pas eux-mêmes le rythme masticatoire mais servaient probablement de relais des inputs synaptiques rythmiques aux autres subdivisions et aux motoneurons. En qui concerne le CNST, seuls les neurones du NVsnpr furent investigués dans l'optique de déterminer leurs propriétés intrinsèques. En utilisant la technique d'enregistrement en configuration cellule entière dans des tranches de tronc cérébral de gerbille, Sandler *et al.* (1998) ont observé un comportement de décharge en bouffées dans approximativement 50 % des neurones du NVsnpr. Ces neurones ont déchargé des bouffées de potentiels d'action spontanément, aussi bien qu'au début des

pulses de courant dépolarisant qu'en retour d'hyperpolarisations membranaires. Les potentiels d'action dans une bouffée étaient superposés sur de lents potentiels dépolarisants, lesquels donnaient souvent lieu à des plateaux de potentiel pouvant durer plusieurs centaines de millisecondes à des potentiels membranaires avoisinants -20 mV. Après les plateaux, une hyperpolarisation de longue durée (> 3 s) était généralement observée. Les auteurs suggèrent que les plateaux de potentiels dépendent de l'activation de I_{NAP} , car ils pouvaient être éliminés ou réduits, par l'application de TTX ou par une diminution de la concentration du sodium extracellulaire. L'hyperpolarisation post-plateau, d'autre part, semblait dépendre de l'activation d'une conductance potassique activée par l'entrée de sodium. Également, il apparaît que certaines conductances potassiques seraient impliquées dans la régulation de l'amplitude de ces plateaux de potentiels car la substitution du potassium intracellulaire par du césium résultait en des amplitudes de plateaux plus positives (près de +20 mV). De plus, cette étude a révélé qu'une conductance calcique sensible au nickel était probablement impliquée dans l'initiation des bouffées dans ces neurones. Les neurones qui ne montraient pas un comportement de décharge en bouffées montraient une décharge répétitive tonique lors d'injection de courant dépolarisant. La fréquence de décharge dans ces neurones augmentait en fonction du niveau de dépolarisation. Finalement, une sous-population des neurones du NVsnpr, composée tant de neurones déchargeant en bouffées que de neurones ne présentant pas cette propriété, démontraient une rectification entrante à l'hyperpolarisation membranaire qui pouvait être bloquée par l'application de césium suggérant la présence du courant I_h . L'application de césium, en plus de bloquer la rectification entrante, causait une légère hyperpolarisation membranaire suggérant que le courant I_h contribue au maintien du potentiel de repos dans les cellules du NVsnpr.

8.3 Inputs et outputs des neurones de la formation réticulée et du CNST

Lorsque seul le tronc cérébral est pris en compte, il se révèle extrêmement difficile de séparer les inputs et les outputs des neurones de la formation réticulée et du CNST. Cet état de fait s'explique par l'inter-connectivité importante qui existe entre les différentes divisions qui composent ces régions. Tout d'abord, nous allons traiter de ces connexions réciproques entre les neurones des différentes divisions de la formation réticulée et du CNST, sans toutefois entrer dans les détails. Par la suite, puisque les inputs corticaux et les inputs périphériques ont la propriété d'activer le GPC de la mastication, leurs inputs à la formation réticulée et au CNST seront considérés. Finalement, l'emphase sera mise sur certaines cibles des neurones de ces régions.

8.3.1 Inter-connectivité au sein de la formation réticulée et du CNST

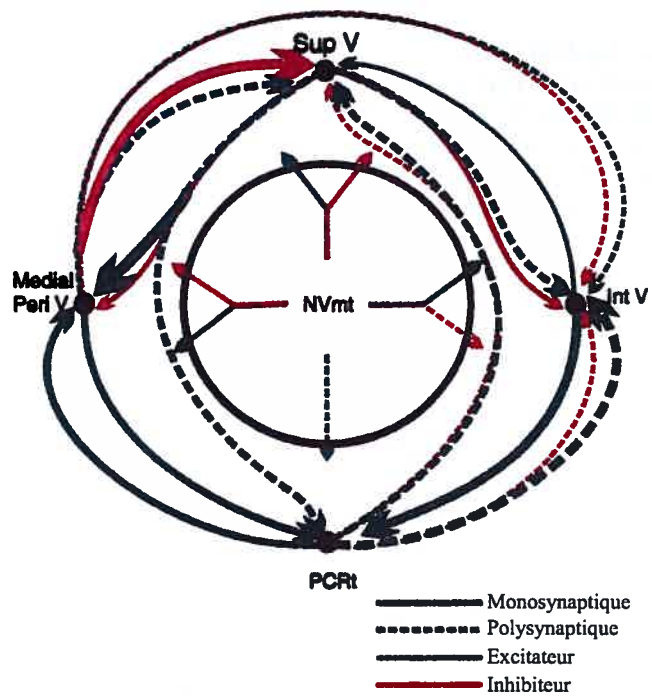
Des évidences d'une inter-connectivité entre les divisions du CNST ont été fournies par Jacquin *et al* (1990). Dans cette étude, les auteurs ont démontré, à l'aide d'une technique de traçage antérograde utilisant la (PHA-L) pour injecter des neurones dans toutes les subdivisions du CNST du rat, que les quatre subdivisions étaient interconnectées. De plus, les neurones du CNST envoient des collatérales dans plusieurs régions de la formation réticulée. Par exemple, Yoshida *et al.* (1994, 1998) ont démontré que les neurones du NVspo envoient des collatérales dans IntV et PCRt et que les neurones de NVsnpr envoient des collatérales dans SupV en plus de ces deux régions.

Par contre, pour la formation réticulée, ce sont les résultats d'une collection de plusieurs études anatomiques certaines parfois centrées sur une subdivision particulière qui démontrent les liens existant entre les différentes sous-régions. Seuls quelques exemples seront présentés et seules les projections à la formation réticulée et au CNST seront citées. Par exemple, Rokx *et al.* (1986) ont démontré à l'aide d'un traceur antérograde que SupV projette bilatéralement, avec une prédominance ipsilatérale à IntV, NVsnpr, NVsp (surtout dans les parties dorsales et médianes de ces 2 noyaux) et à la formation réticulée médullaire (grande concentration dans PCRt). Plusieurs des fibres commissurales se terminaient dans SupV contralatéral. Afin de déterminer les neurones qui projettent au PCRt, Shammah-Lagnado *et al.* (1992) ont effectué des dépôts de HRP dans le PCRt de rats. Dans le pont, un nombre important de cellules marquées étaient observées bilatéralement avec une prédominance ipsilatérale dans SupV. Un nombre modéré de cellules marquées rétrogradement étaient également observées bilatéralement avec une prédominance ipsilatérale dans la partie dorso-médiane du NVsnpr, dans le NVsp, dans IntV et le nPontC. La formation réticulée médullaire démontrait un grand nombre de cellules marquées distribuées bilatéralement (des noyaux GC et PGC, des noyaux réticulaires dorsal et ventral). Kolta *et al.* (2000), pour leur part, ont utilisé des traceurs rétrogrades fluorescents pour déterminer les neurones qui projettent aux cellules de la région h, tout particulièrement les parties dorsale et latérale de cette région. Ils ont retrouvé des cellules marquées dans la formation réticulée médiane du pont et du bulbe rachidien (nPontC, nPontO, GC), dans les autres sous-divisions de la région h, dans le PCRt, et dans toutes les sous-divisions du CNST. Bourque et Kolta (2001) ont effectué

des injections extracellulaires de biocytine dans les régions entourant le NVmt et ont démontré que chacune des régions projetait aux autres ainsi qu'au NVsnpr adjacent.

Dans leur étude, Bourque et Kolta (2001) ont également fourni des évidences électrophysiologiques d'une inter-connectivité entre les neurones des régions qui entourent le NVmt. Dans cette étude, les auteurs ont effectué des enregistrements intracellulaires des interneurons localisés dans les régions entourant le NVmt dans une préparation *in vitro* de tranches de tronc cérébral et ont démontré que les interneurons de toutes les divisions de PériV et de PCRt étaient interconnectés synaptiquement. En effet, des stimulations électriques des aires adjacentes évoquaient des PPSs excitateurs, inhibiteurs ou mixtes à des latences semblant impliquer des voies mono et poly-synaptiques. Les PPSEs étaient bloqués par l'application de DNQX et d'APV, deux antagonistes des récepteurs ionotropiques glutamatergiques, alors que les PPSIs étaient bloqués par l'application de bicuculline, un antagoniste des récepteurs GABA_A et de strychnine, un antagoniste des récepteurs glycinergiques. La figure 8 tirée de Bourque et Kolta (2001) schématise l'organisation des connections entre les neurones de PériV et PCRt.

Figure 9



Organisation schématique des connexions entre les neurones de PériV et PCrt. Les flèches continues représentent des connexions dans lesquelles au moins une des réponses était observée à une latence monosynaptique, alors que les flèches pointillées représentent les connexions di ou polysynaptiques. La couleur rouge représente les inputs excitateurs et la couleur noire les inputs inhibiteurs. *Bourque et Kolta (2001).*

8.3.2 Input cortical

Les neurones de la formation réticulée et du CNST reçoivent un input cortical (Brodal *et al.* 1956; Kuypers 1958a, b; Kuypers et Tuerk 1964; Gobel 1971; Yasui *et al.* 1985; Takada *et al.* 1999). En effet, Kuypers (1958) et Kuypers et Tuerk (1964) ont démontré par une technique de dégénérescence que IntV recevait des terminaisons cortico-bulbaires. Par la même technique, Brodal *et al.* (1956) rapportent des résultats similaires pour NVsnpr. Gobel (1971) a par la suite confirmé les observations de Brodal et collaborateurs en démontrant, à l'aide de la microscopie électronique, l'existence de synapses entre des axones cortico-bulbaires et les dendrites des neurones dans le NVsnpr. Yasui *et al.* (1985) dans une étude effectuée chez le chat, ont identifié les régions corticales qui projettent à la formation réticulée entourant le NVmt à l'aide de traçage rétrograde et antérograde utilisant la HRP et la WGA-HRP respectivement. Ils ont injecté de la HRP dans les régions entourant le NVmt et ont retrouvé des neurones marqués bilatéralement dans les régions corticales orbitofrontales, principalement dans l'extension rostrale du gyrus orbital à proximité du sulcus présylvien. Quand des dépôts de WGA-HRP étaient effectués latéralement dans le sulcus présylvien, il y avait un marquage important dans IntV et dans le PCRt pontique et bulbaire. Un marquage modéré était observé également dans la bordure médiane du NVsnpr, dans les régions dorsale et médiane du NVspo, la région médiane du NVspi et la région dorsale du noyau réticulaire latéral de la médulla oblongata. Additionnellement, quelques axones marqués étaient observés dans la partie ventrale des noyaux parabrachiaux latéral et médial. Quelques axones marqués étaient observés également dans la formation réticulée gigantocellulaire. Les quantités d'axones marqués semblaient équivalentes

bilatéralement dans les régions réticulaires entourant le noyau moteur, alors que dans la médulla oblongata, il y avait une prépondérance contralatérale. Lorsque l'injection était effectuée dans la couronne du cortex orbital, le patron était similaire, mais il y avait un marquage moins important des régions qui entourent le NVmt. Takada *et al* (1999), dans une étude effectuée chez le singe ont obtenu des résultats similaires.

Étant donné l'inter-connectivité importante qui existe entre les neurones de la formation réticulée et du CNST, l'input cortical peut être rapidement distribué à tous les neurones de la formation réticulée et du CNST de telle sorte que de nombreux neurones au sein de ces régions vont pouvoir être activés mono- ou poly-synaptiquement par une stimulation corticale. C'est ce que laissent entrevoir de nombreuses études électrophysiologiques qui rapportent que plusieurs neurones des différentes divisions de la formation réticulée et du CNST répondent à une stimulation corticale à des latences monosynaptiques et polysynaptiques (Darian-Smith et Yokota 1966; Nozaki *et al.* 1983; Olsson *et al.* 1986; Donga *et al.* 1991; Westberg *et al.* 1998, 2001).

8.3.3 Input périphérique

Pour discuter des inputs périphériques aux neurones de la formation réticulée et du CNST nous devons nous rappeler, dans un premier temps, que les neurones sensoriels primaires du système trigéminal se divisent en deux groupes, ceux dont les corps cellulaires sont localisés dans les GT et ceux dont les corps cellulaires sont localisés dans le NVmes. C'est au niveau du CNST que terminent les fibres des cellules ganglionnaires. Alors, nous allons commencer par décrire la localisation des

terminaisons des afférences primaires dans le CNST. Ensuite, nous parlerons des inputs aux régions de la formation réticulée.

Shigenaga et ses collaborateurs (1986a,b) se sont appliqués à examiner l'organisation anatomique et fonctionnelle des projections centrales des fibres afférentes primaires innervant les régions orales et faciales à l'intérieur du CNST au cours de deux études exécutées sur des chats adultes. Pour ce faire, ils ont effectué des injections de HRP dans plusieurs nerfs périphériques innervant les structures intraorales et faciales et ont examiné les terminaisons dans le tronc cérébral. En bref, il ressort de cette étude, lorsque tous les nerfs périphériques qui ont été investigués sont considérés, que les nerfs d'afférences trigéminales qui innervent la région intra-orale projettent aux sous-divisions dorsale et ventrale du NVsnpr, aux régions rostro-dorsomédiane et dorsomédiane du NVspo, à la partie dorsomédiane du NVspi et à toute l'étendue rostro-caudale du NVspc. D'autre part, les afférences primaires trigéminales qui innervent la peau de la partie antérieure du visage projettent aux régions ventrale ou ventro-latérale du NVsnpr, NVspo, NVspi et aux régions caudales du NVspc. Finalement, les afférences primaires trigéminales innervant la surface postérieure et latérale du visage projettent principalement dans la partie caudale du NVspi, intermédiaire du NVsnpr ventral et rostrale du NVspc. Des terminaisons et des fibres marquées à partir des injections dans les nerfs s'étendaient à la formation réticulée adjacente à tous les niveaux du CNST.

Dans une autre étude, Shigenaga *et al.* (1988d) ont examiné l'organisation des projections centrales des afférences primaires innervant tous les muscles masticatoires en injectant du HRP-WGA dans les différents nerfs périphériques isolés (le nerf

massétérique, le nerf temporalis profond, le nerf ptérygoïde médian, le nerf digastrique antérieur, le nerf mylohyoïde) chez le chat. Les injections dans les nerfs digastrique et mylohyoïde n'ont marqué des cellules que dans les GT alors que les injections dans les nerfs massétérique, temporalis profond et ptérygoïde médian ont marqué des cellules dans les GT et dans le NVmes. Les projections des afférences sensorielles dont les corps cellulaires étaient dans les GT, étaient confinées principalement dans le NVspi et dans le NVspc. Il n'y avait pas de projection au NVspo. Le masséter et le ptérygoïde médian projetaient également à la partie dorsale du NVsnpr.

En plus de la projection des afférences dont les corps cellulaires sont contenus dans les ganglions trigéminaux, nous avons vu dans la section 7.4 que les afférences fusoriales et parodontales du NVmes envoient des collatérales dans toutes les subdivisions du CNST.

En tenant compte de l'inter-connectivité qui existe entre les différentes subdivisions du CNST, il faut considérer la possibilité que la réponse d'un neurone sensoriel donné à une stimulation périphérique comprend non seulement une composante monosynaptique résultant de l'activation directe de ce neurone par l'input périphérique mais peut contenir également des composantes polysynaptiques résultant de l'activation de ce neurone par d'autres neurones sensoriels de second ordre auxquels il est relié.

Pour ce qui est de la formation réticulée, nous avons déjà discuté de la projection des afférences fusoriales et des afférences parodontales du NVmes vers ces régions dans

la section 7.4. C'est au niveau des régions latérales de la formation réticulée que sont retrouvées ces terminaisons, i.e. SupV, IntV, PCRt. Également, tel que l'on vient de le mentionner dans l'étude de Shigenaga *et al.* (1986a) des fibres marquées par des injections de traceurs dans les nerfs périphériques sont retrouvées dans les régions adjacentes aux noyaux du CNST, i.e. encore une fois : SupV, IntV, PCRt. Mafurt et Rachert (1991), dans une étude effectuée sur des rats, rapportent de même que Shigenaga que les fibres des afférences primaires trigéminales ne terminent pas uniquement dans le CNST mais rejoignent d'autres régions du tronc cérébral. Ces auteurs ont injecté du WGA-HRP dans les ganglions trigéminaux et ont observé des fibres marquées dans SupV et dans la partie dorsolatérale du NVmt. Les fibres qui pénétraient dans le NVmt originaient de la partie dorsomédiane du NVsnpr suggérant une origine mandibulaire pour ces fibres. Il y avait également des fibres qui terminaient dans la formation réticulée adjacente au NVspo, NVspi et NVspc. Ensemble, les terminaisons des cellules des ganglions trigéminaux et les terminaisons des cellules sensorielles du NVmes contribuent à un input périphérique monosynaptique aux neurones de la formation réticulée du tronc cérébral. De plus, les neurones de la formation réticulée sont innervés par les neurones sensoriels de second-ordre contenus dans le CNST. Cette innervation par les neurones du CNST contribue à un input périphérique polysynaptique aux neurones de la formation réticulée du tronc cérébral. Encore une fois, en considérant l'inter-connectivité qui règne entre les différentes divisions de la formation réticulée, cet input périphérique sera distribué au sein de ce réseau et, on peut s'attendre à retrouver des neurones qui vont répondre à une stimulation périphérique donnée avec des latences reflétant différents degrés de connectivité.

Le dernier point qu'il importe d'aborder avant de conclure cette section concerne la nature neurochimique de l'input périphérique du système trigéminal aux neurones du CNST et de la formation réticulée. Nous savons déjà que les neurones sensoriels du NVmes sont glutamatergiques (Copray *et al.* 1990; Turman et Chandler 1994b; Lazarov 2000). Lazarov, dans sa revue de 2002, nous apporte des précisions en ce qui concerne les afférences dont les corps cellulaires sont contenus dans les GT. Cette revue nous révèle que ces afférences primaires, outre le glutamate, contiennent de l'aspartate, du GABA ainsi que plusieurs neuropeptides. Cependant, la majorité des neurones seraient glutamatergiques. Il y a des évidences que les neuropeptides seraient présents, co-localisés avec d'autres neurotransmetteurs, surtout dans les fibres nociceptives.

8.3.4 Inputs convergents aux neurones de la formation réticulée et du CNST.

Plusieurs neurones de la formation réticulée et du CNST répondent à des inputs périphériques convergents (Jerge 1963; Westberg *et al.* 1995, 1998; Inoue *et al.*, 2002). À titre d'exemple, Inoue *et al.* (2002) ont effectué des enregistrements électrophysiologiques de prémotoneurones localisés dans IntV, SupV, NVsnpr et NVspo- γ . Ils rapportent que certains prémotoneurones localisés dans IntV, SupV et NVspo- γ , répondaient à la stimulation du nerf alvéolaire inférieur et du nerf infraorbital. Donc, ces cellules étaient activées simultanément par un input intra-oral et par un input facial. Les auteurs ont conclu des résultats de cette étude que les prémotoneurones trigéminaux peuvent intégrer l'activité des inputs périphériques avec l'activité dans un GPC pour produire le patron de décharge approprié dans les motoneurones trigéminaux.

Mais, outre la convergence d'inputs périphériques, plusieurs neurones de la formation réticulée et du CNST reçoivent des inputs corticaux et périphériques convergents (Olsson *et al.* 1986a; Inoue *et al.* 1992; Westberg *et al.* 1998). À titre d'exemple, citons l'étude de Olsson *et al.* (1986a) qui ont effectué des enregistrements extracellulaires dans IntV sur des chats anesthésiés conjointement avec une stimulation électrique des nerfs périphériques et du cortex. Ils ont trouvé qu'une majorité des neurones de IntV étaient activés par une stimulation gyrus orbital et ce, à des latences mono et polysynaptiques via la voie pyramidale ainsi que par plusieurs types d'afférences sensorielles trigéminales de bas seuil innervant les parodontes, la langue, les vibrisses et la surface cutanée péri-orale à des latences mono et polysynaptiques. En fait, 98% des neurones qui étaient activés par la stimulation corticale l'étaient aussi par un input périphérique. Par conséquent, les pré-motoneurones trigéminaux peuvent non seulement intégrer l'activité de divers inputs périphériques mais également l'information en provenance des centres supérieurs pour l'adaptation du patron masticatoire.

8.3.5 Inputs du raphé et de la PAG

Shammah-Lagnado *et al.* (1992) ont effectué des dépôts de HRP dans le PCRt de rats et ont trouvé qu'un marquage modéré était observé bilatéralement dans la PAG et dans le raphé dorsal. Ultérieurement, Fort *et al.* (1994) ont démontré, chez le chat, que les neurones du PCRt reçoivent un input sérotoninergique du raphé dorsalis, magnus et obscurus. Li *et al.* (1993a,b,c) ont démontré, au cours d'études utilisant des rats et une technique de marquage rétrograde et antérograde que les neurones du noyau du raphé magnus, du raphé dorsal et de la PAG projettent à toutes les subdivisions CNST.

Lorsque combiné à une immunohistochimie contre la 5-HT, il est démontré que certains de ces neurones de projection directe sont sérotoninergiques. Suite à l'injection du traceur antérograde dans le raphé dorsal ou la PAG, des terminaisons marquées étaient également observées dans la formation réticulée médullaire particulièrement dans le GC et le PGC. Kolta *et al.* (2000) révèlent également l'existence d'un input du raphé aux neurones des parties latérale et dorsolatérale de la région h.

8.3.6 Output thalamique

La formation réticulée et le CNST contiennent des neurones qui projettent au thalamus et qui en conséquence constituent un relais pour la transmission de l'information sensorielle du système trigéminal aux centres supérieurs. Plusieurs études présentent des évidences anatomiques et électrophysiologiques de l'existence de neurones de projection au thalamus au sein de la formation réticulée ponto-bulbaire et du CNST (Shigenaga *et al.* 1979, 1983; Minkels *et al.* 1991; Luo et Dessem 1995). Cependant, parmi toutes ces études, l'étude de Luo et Dessem (1995) revêt un intérêt particulier pour nous du fait qu'ils établissent une relation entre les neurones du NVmes et ces neurones de projection thalamique. Dans cette étude, les auteurs ont démontré l'existence d'une projection des afférences fusoriales sur les neurones trigéminothalamiques en combinant des injections de HRP dans le noyau ventropostéromédiale du thalamus (VPM) à des injections intracellulaires de biotinamide dans les afférences fusoriales du NVmes du rat. Les neurones marqués rétrogradement par les injections dans le VPM ont été retrouvés dans SupV, NVsnpr, NVspo, NVspi, NVspc et dans le PCRt. Des appositions directes entre des terminaisons d'afférences fusoriales marquées intracellulairement et des neurones

trigéminothalamiques marqués rétrogradement étaient observées dans SupV, dans la partie dorsomédiane du NVsnpr, et dans la partie dorsomédiane du NVspi et dans le PCRt. Dans ces régions, les boutons marqués contactaient les corps cellulaires et les dendrites primaires des neurones trigéminothalamiques. C'est probablement via cette voie que l'information sensorielle en provenance des fuseaux neuromusculaires des muscles de la mastication atteint le cortex cérébral.

8.3.7 Output au NVmt

La présente section a pour but d'apporter des précisions qui se révèlent intéressantes et importantes mais qui n'auraient pu être amenées de façon explicite, sans alourdir le texte inutilement, dans les sections antérieures qui ont traité directement ou indirectement de la connection entre les prémotoneurones et les motoneurones trigéminaux. Ces précisions consistent en fait, en une suite d'indices tirés de plusieurs études qui se sont intéressées à examiner la nature de l'input de régions spécifiques de la formation réticulée ou du CNST aux motoneurones trigéminaux et parfois de façon distinctive pour les motoneurones d'ouverture et de fermeture. En réalité, connaître la nature de la projection de chaque groupe de prémotoneurones aux motoneurones d'ouverture et de fermeture de la mâchoire s'avère une étape toute à fait essentielle pour être à même de comprendre comment est organisé le circuit neuronal qui génère la mastication.

Nous avons déjà mentionné au cours de la section 6.3, l'étude de Kolta (1997) qui a démontré par une étude *in vitro* utilisant le rat, que la stimulation électrique des interneurones contenus dans la région péritrigéminale et dans le PCRt cause des

réponses excitatrices glutamatergiques médiées par les récepteurs non-NMDA et des réponses inhibitrices médiées par le GABA et la glycine dans les motoneurones trigéminaux. Dans cette étude, l'auteure visait particulièrement les motoneurones dans le pool du masséter marqués rétrogradement par l'injection d'un traceur dans le muscle. Les résultats de cette étude suggèrent que les motoneurones du masséter reçoivent un input des prémotoneurones glutamatergiques de IntV et mPériV, mais probablement pas des neurones inhibiteurs de ces régions. L'on sait que ces régions contiennent des prémotoneurones contenant de la glycine et/ou du GABA. Il est donc possible que les prémotoneurones inhibiteurs de IntV et mPériV projettent de façon sélective aux motoneurones d'ouverture de la mâchoire. Mais comme les motoneurones d'ouverture ne sont pas hyperpolarisés pendant la mastication, cela implique que cet input inhibiteur servirait en fait à contrer une trop grande excitation de ces motoneurones pendant la mastication. Cette étude démontre également l'existence d'inputs glutamatergique et glycinergique directs des neurones du PCRt aux motoneurones de fermeture de la mâchoire. Il reste à déterminer si ces neurones contribuent les mêmes inputs aux motoneurones d'ouverture et si ces deux populations sont activés simultanément ou séquentiellement pendant la mastication. La région SupV contribue, tout comme PCRt, un input glutamatergique et glycinergique, mais également GABAergique aux motoneurones de fermeture de la mâchoire.

Katoh et ses collaborateurs (1982) ont voulu déterminer la position des interneurones médiant l'inhibition des motoneurones de fermeture et l'excitation des motoneurones d'ouverture en réponse à une stimulation du cortex orbital. Pour ce faire, ils ont examiné l'effet d'une transection du tronc cérébral à la jonction pontobulbaire (au

niveau du pôle rostral du noyau facial), chez des chats anesthésiés. Avant la transection, une stimulation corticale évoquait des PPSIs dans les motoneurones de fermeture et des PPSEs superposés de potentiels d'action dans les motoneurones d'ouverture à une latence moyenne d'environ 6 ms. Après la transection, la stimulation corticale n'évoquait plus de PPSIs dans les motoneurones de fermeture, mais plutôt des PPSEs à une latence d'environ 6 ms. Mais, dans les motoneurones d'ouverture, cette même stimulation n'évoquait plus de PPSE après une transection à la jonction pontobulbaire. Cependant, aucun potentiel hyperpolarisant n'était observé. Donc, cette étude démontre que les prémotoneurones excitateurs pour les motoneurones d'ouverture et les prémotoneurones inhibiteurs pour les motoneurones de fermeture sont localisés dans la médulla. Rostralement, dans la région pontique, on retrouverait les prémotoneurones excitateurs pour les motoneurones de fermeture.

Dans leur étude de 1998, Yoshida et ses collaborateurs ont démontré, chez le chat, que les neurones de circuits locaux dans NVsnpr projettent au pool de motoneurones de fermeture de la mâchoire mais pas au pool de motoneurones d'ouverture. Certains de ces neurones avaient un axone ascendant et de ce fait pouvaient être considérés comme étant des neurones de projections thalamiques. Les auteurs suggèrent, de ce fait, que ces neurones pourraient être excitateurs et glutamatergiques. En effet, il existe des évidences que la majorité des neurones de projection thalamique dans le NVsnpr sont glutamatergiques (Magnusson *et al.* 1987). Dans cette étude, les auteurs précisent que les motoneurones de fermeture recevaient la densité de projection la plus grande des neurones du NVsnpr ayant des collatérales locales dont les champs récepteurs impliquaient les ligaments parodontaux, ce qui implique que ces neurones

excitateurs pourraient contribuer à réguler la force de morsure. Si leur raisonnement est exact, cela impliquerait que ces neurones devraient décharger pendant la phase de fermeture lente où la stimulation des afférences parodontales est maximale.

L'étude de Yoshida *et al.* (1994), nous l'avons déjà mentionné, a révélé que les neurones de NVspo.r se divisent en deux groupes : ceux qui projettent au pool de motoneurones de fermeture et ceux qui projettent au pool de motoneurones d'ouverture. Dans une étude ultérieure, Shigenaga *et al.* (2000) ont démontré qu'une stimulation dans NVspo.r induisait une réponse mixte composée d'un petit potentiel dépolarisant suivi d'un PPSI dans les motoneurones de fermeture. Une administration intraveineuse de strychnine a supprimé les PPSIs évoqués par le NVspo.r dans les motoneurones de fermeture de la mâchoire et démasqué des PPSEs. Une stimulation du NVspo.r induisait des PPSEs dans les motoneurones d'ouverture. Ces PPSEs étaient complètement supprimés par une injection locale d'APV et de DNQX. Dans une minorité de cas, l'abolition des PPSEs a démasqué des PPSIs.

Plusieurs études démontrent que la projection des neurones de la formation réticulée médiane au NVmt est relativement faible comparativement à la projection de la formation réticulée latérale (Mizuno *et al.* 1983; Travers et Norgren 1983; Landgren *et al.* 1986; Fay et Norgren 1997c; Kolta *et al.* 2000) Par exemple, chez le lapin, Kolta *et al.* (2000) ont effectué des injections de traceurs dans le NVmt et ont rapporté que très peu de neurones sont marqués rétrogradement dans les noyaux médians de la formation réticulée. Cependant, lorsque ces mêmes traceurs sont appliqués dans les régions entourant le NVmt, de nombreux neurones des noyaux médians de la formation réticulée

sont marqués. Il semble donc que les neurones des groupes médians contribuent une projection importante aux neurones de la formation réticulée latérale lesquels à leur tour relaient cet input au NVmt.

8.3.8 Output aux noyaux moteurs NVII et XII

Il y a de nombreuses évidences que les neurones de la formation réticulée latérale et du CNST en plus de projeter au NVmt, projettent également au NVII et au NXII. Cette observation est d'importance car une mastication efficace requiert la participation des muscles faciaux et de la langue. Rokx *et al.* (1986) ont démontré suite à l'injection d'un traceur antérograde dans SupV que ce noyau projette au NVII et au NXII. Ruggiero *et al.* (1982) ont utilisé la même technique pour démontrer que les neurones du PCRt projettent au NVII et au NXII. Fay et Norgren (1997a), quant à eux, ont observé des neurones marqués dans SupV et PCRt trans-neuronalemment suite à l'injection du virus pseudorange PRV-Ba dans les muscles faciaux de rats. Cette même équipe (Fay et Norgren 1997b), toujours chez le rat, a observé des neurones marqués trans-neuronalemment dans SupV, IntV, NVsnpr, NVspsc et PCRt suite à l'injection du virus dans la langue. Finalement, Li *et al.* (1993) à l'aide d'une étude de double marquage a de plus montré que les neurones de la formation réticulée et du CNST ont une projection bilatérale aux noyaux moteurs V, VII et XII. Ces neurones seraient donc impliqués dans la coordination de l'activité des muscles masticatoires, faciaux et de la langue ainsi que dans la coordination bilatérale de ces différents muscles pendant la mastication.

8.4 Comportement des neurones de la formation réticulée et du CNST pendant la mastication

Quelques auteurs se sont intéressés au comportement des neurones de la formation réticulée et du CNST pendant les mouvements rythmiques naturels de la mâchoire ou pendant les mouvements induits par une stimulation corticale (Olsson *et al.* 1986b, 1988; Hiraba *et al.* 1988; Yamamoto *et al.* 1989). Il ressort de ces études que les neurones de ces régions tendent à décharger quand leur champ récepteur en périphérie est stimulé par le mouvement en cours. Ainsi, un neurone ayant un champ récepteur intra-oral, va décharger lors de la fermeture de la mâchoire alors qu'un neurone recevant un input des fuseaux neuromusculaires va décharger lors de la phase d'ouverture lorsque les muscles de fermeture sont étirés. Cependant, c'est pendant la mastication fictive que le comportement des neurones de la formation réticulée et du CNST a été le plus intensément étudié. Les résultats démontrent que plusieurs neurones de ces régions sont actifs pendant le mouvement fictif, certains de façon rythmique et que de plus, le patron de décharge de ces neurones est parfois modulé en fonction du patron moteur évoqué par la stimulation corticale (Nozaki *et al.* 1986; Donga et Lund 1991; Inoue *et al.* 1992, 1994; Westberg *et al.* 1998, 2001). Dans la présente section, nous allons passer en revue les résultats de quelques unes de ces études.

Donga *et al.* (1991), dans une étude effectuée sur des lapins, ont examiné le comportement de neurones commissuraux, ayant une projection au NVmt contralatéral, enregistrés dans IntV, SupV, NVsnpr, NVspo- γ et PCRt- α . Plus de la moitié de ces neurones recevaient un input de la cavité orale. Ils ont trouvé que 65% des neurones de

ces régions changeaient leur patron de décharge pendant la mastication fictive induite par stimulation corticale enregistrée dans les extrémités coupées du nerf XII ou dans le NVmt. Dans la majorité des cas, ces changements consistaient en des modifications de la fréquence de décharge en phase avec la mastication fictive. Ces neurones actifs de façon rythmique pouvaient être divisés en deux catégories : ceux qui recevaient un input excitateur de l'ACM et ceux qui n'en recevaient pas. Certains autres neurones étaient inhibés et excités, d'autres seulement inhibés et d'autres excités de façon tonique pendant la mastication fictive. Dans une expérience similaire, mais cette fois sur le rat, Inoue *et al.* (1992) ont enregistré extracellulairement de neurones dans la formation réticulée autour du NVmt pendant la mastication fictive. Ils ont trouvé des neurones qui ont montré des changements rythmiques dans leur fréquence de décharge pendant la mastication fictive. Ces neurones étaient retrouvés principalement dans la région SupV et la formation réticulée médiale au NVspo, c'est à dire dans le PCRt. La majorité de ces neurones recevaient un input périphérique. Certains déchargeaient pendant la phase de fermeture de la mastication fictive. D'autres, déchargeaient pendant la phase d'ouverture. D'autres encore déchargeaient pendant la phase de transition entre l'activité dans le digastrique et l'activité dans le masséter. Certains de ces neurones ayant une activité transitionnelle étaient retrouvés dans le PCRt bulbaire. Étant donné que cette région contient des prémotoneurones qui projettent au NVII et au NXII en plus du NVmt, les auteurs ont suggéré que ces neurones transitionnels contribuaient probablement à la coordination entre les muscles masticatoires, faciaux et lingual.

Westberg *et al.* (1998), pour leur part, ont examiné comment les prémotoneurones trigéminaux participent à différentes formes de mouvements qui

caractérisent la mastication naturelle. Pour ce faire, ils ont effectué des enregistrements extracellulaires dans le PCRt- α et dans le NVspo- γ alors qu'ils induisaient quatre patrons fictifs différents de mastication en stimulant quatre sites différents de l'ACM chez des lapins anesthésiés et paralysés. Les auteurs ont remarqué que les interneurons de ces régions montraient trois types de patron de décharge pendant la mastication fictive: 54% étaient inactifs, 42% étaient actifs de façon rythmique et 4% avaient un patron de décharge tonique. Ils ont trouvé que 48% des prémotoneurons rythmiquement actifs le sont pendant seulement un patron sur quatre, 35% dans deux patrons et seulement 13% dans 3 patrons différents. Pour ceux qui déchargeaient dans plus qu'un patron, il y avait des différences significatives dans les bouffées entre les patrons.

Dans une étude ultérieure, cette même équipe (Westberg *et al.* 2001) a examiné les patrons de décharge des neurones dans les noyaux réticulaires médians du tronc cérébral chez les lapins pendant la mastication fictive. Ce sont les neurones du nPontC, du PCRt et du GC qui ont été étudiés. Les neurones étaient classifiés en tant que phasiques ou toniques selon le degré de modulation de leur décharge pendant le cycle moteur. Les auteurs de l'étude ont retrouvé des neurones phasiques dans le nPontC dorsal qui étaient actifs pendant la phase d'ouverture du cycle ainsi que des neurones localisés dans le PCRt dorsal qui tendaient à décharger pendant la fermeture. Ils ont également trouvé des neurones qui étaient actifs pendant la transition entre la fermeture et l'ouverture. Certains neurones, principalement localisés dans la moitié ventrale du nPontC et à la jonction entre GC et le PCRt caudal, déchargeaient de façon tonique. De plus, ces auteurs rapportent que des inputs de courtes latences en provenance du cortex contralatéral étaient beaucoup plus fréquents dans les neurones phasiques que les

neurones toniques alors que les inputs du côté ipsilatéral étaient équivalents dans les deux groupes. Ces neurones phasiques démontraient également une latence moyenne de leurs réponses à la stimulation du cortex contralatéral significativement plus courte que la latence moyenne de leurs réponses à la stimulation du côté ipsilatéral. Pour les neurones toniques, il n'y avait pas de différence significative de ces deux latences. Il y avait également un plus grand pourcentage de neurones phasiques que de neurones toniques qui étaient également activés par une stimulation du nerf alvéolaire inférieur avec une longue latence.

Considérant les propriétés de décharge en bouffées des neurones du NVsnpr et le fait que ce noyau contient en son sein des neurones de projection thalamique et des neurones innervant les circuits locaux, Tsuboi et ses collaborateurs (2003) ont investigué le comportement de ces neurones pendant la mastication fictive. Ils ont trouvé que près de 40% des neurones de cette région, pour la plupart localisés dans la partie dorsale du noyau, montrent une modulation de leur décharge pendant la mastication fictive. Certains de ces neurones avaient une décharge tonique et d'autres une décharge rythmique. Parmi les neurones ayant une décharge rythmique, certains déchargeaient en phase avec le rythme moteur alors que la décharge rythmique de certains autres neurones ne semblait pas reliée au patron moteur. Lorsque les champs récepteurs de ces neurones est considéré, il apparaît que la majorité de ceux déchargeant en phase avec la mastication reçoivent un input des récepteurs parodontaux ou des fuseaux neuromusculaires alors que la plupart des neurones dont l'activité rythmique n'est pas reliée à la mastication possèdent un champs récepteur péri-oral. Les neurones ayant une décharge rythmique en phase avec la mastication déchargeaient une bouffée par cycle

soit pendant la phase de fermeture ou la phase d'ouverture. Des neurones de transition n'ont pas été trouvés. Les neurones qui déchargeaient pendant la phase d'ouverture étaient distribués sur l'étendue rostro-caudale du noyau alors que ceux déchargeant pendant la phase de fermeture étaient localisés plus rostralement. La majorité des neurones déchargeant pendant la phase d'ouverture de la mastication fictive recevaient un input des parodontes alors que les neurones qui déchargeaient pendant la phase de fermeture recevaient majoritairement un input des fuseaux neuromusculaires. Les auteurs proposent que les neurones de NVsnpr qui déchargent pendant la phase d'ouverture pourraient être responsables de l'inhibition des motoneurones de fermeture alors que ceux qui déchargent pendant la phase de fermeture pourraient être excitateurs pour ces motoneurones. C'est pendant cette dernière phase que les aliments sont broyés, et l'activité des muscles de la mâchoire pendant cette phase est contrôlée selon les propriétés physiques de l'aliment. Également, les auteurs ont postulé que les neurones dont la décharge rythmique n'était pas en phase avec le patron moteur ne contribuaient pas à la génération du patron masticateur. Le haut taux de décharge des neurones rythmiques non masticatoires, leur position dans le noyau et leurs champs récepteurs sur la peau faciale suggèrent qu'ils puissent jouer un rôle dans le contrôle du balayage rythmique par les vibrisses.

En définitive, ces études nous révèlent que plusieurs neurones de la formation réticulée et du CNST démontrent un patron de décharge rythmique et, il a été postulé que ces neurones étaient probablement impliqués dans la génération du programme moteur masticatoire, ce que nous verrons plus en détail dans la prochaine section.

9. CONTRÔLE NEURONAL DE LA MASTICATION

Dans les sections précédentes, nous nous sommes attardés à explorer le système trigéminal. Nous avons décrit les différents éléments qui le composent. Cette exploration nous a permis, entre autres, de déterminer les propriétés intrinsèques des motoneurones trigéminaux qui constituent les neurones de sortie de la commande motrice vers les muscles de la mâchoire. Nous avons vu comment, pendant la mastication, ces motoneurones sont entraînés dans une activité intermittente. Nous nous sommes attardés longuement sur les neurones sensoriels du NVmes, car ces derniers sont au cœur de notre problématique laquelle rappelons-le est de déterminer par quel moyen le GPC peut contribuer à moduler leur excitabilité pendant la mastication. Par la suite, nous avons examiné les propriétés neurochimiques, intrinsèques et de connectivité des neurones de la formation réticulée et du complexe nucléaire sensoriel trigéminal. De toute évidence, il semble que c'est au sein de ces deux derniers groupes que se dissimule le GPC de la mastication. Rappelons-nous que textuellement le GPC désigne un ensemble d'éléments neuronaux qui sont dotés, de par leurs propriétés membranaires intrinsèques et/ou de connectivité, d'une capacité de générer et de maintenir un patron d'activité rythmique en absence d'information sensorielle provenant de la périphérie ou des centres de contrôle supérieurs (révisé dans Rossignol et Dubuc 1994). Donc, pour identifier un groupe neuronal comme un composant du GPC certaines propriétés particulières vont être recherchées. À titre d'exemple, puisque le GPC peut être activé par un input en provenance des centres supérieurs ou de la périphérie, il s'avère nécessaire que les membres qui le composent reçoivent l'un ou l'autre type d'input. Il faudrait de même que, de par leurs propriétés de connectivité, ces groupes neuronaux soient en mesure

d'affecter les neurones de sortie de la commande motrice. Il faudrait également, pour assurer une synchronicité bilatérale, que les membres putatifs soient en mesure de transmettre bilatéralement un input directement aux motoneurones ou indirectement via les neurones de dernier ordre localisés de chaque côté du tronc cérébral.

9.1 Modèles de GPC masticatoire

Nozaki et ses collaborateurs (Nozaki *et al.* 1986 a, b, 1993; Chandler et Tal 1986), sur la base de plusieurs observations anatomiques et électrophysiologiques, ont été les premiers à avoir attribué le rôle de GPC à un groupe neuronal spécifique et à avoir proposé un modèle de GPC masticatoire. Ces auteurs se sont intéressés à un groupe de neurones localisés médialement dans la formation réticulée bulbaire incluant le GC, la partie dorsale du noyau PGC et une région dorsale à ce dernier noyau, sur la base d'évidences anatomiques démontrant une connectivité entre ces neurones et le cortex sensorimoteur (Kuypers 1958; Mizuno *et al.* 1968). Lorsque ces auteurs ont examiné la décharge des neurones de la formation réticulée bulbaire médiane à l'aide d'enregistrements extracellulaires chez le cochon d'inde pendant la mastication fictive induite par stimulation corticale, ils ont réalisé que les neurones localisés dans la partie dorsale du PGC répondent par un potentiel d'action corrélé à chaque pulse de la stimulation répétitive de l'ACM résultant en une décharge tonique. Par contre, les neurones de la partie rostrale du noyau GC répondaient par des bouffées de décharge rythmique à cette même stimulation. Avec la comparaison des latences des potentiels de champs évoqués par une stimulations corticale dans les neurones localisés dans le GC et dans les neurones localisés dans le PGC, Nozaki et ses collègues concluaient que la

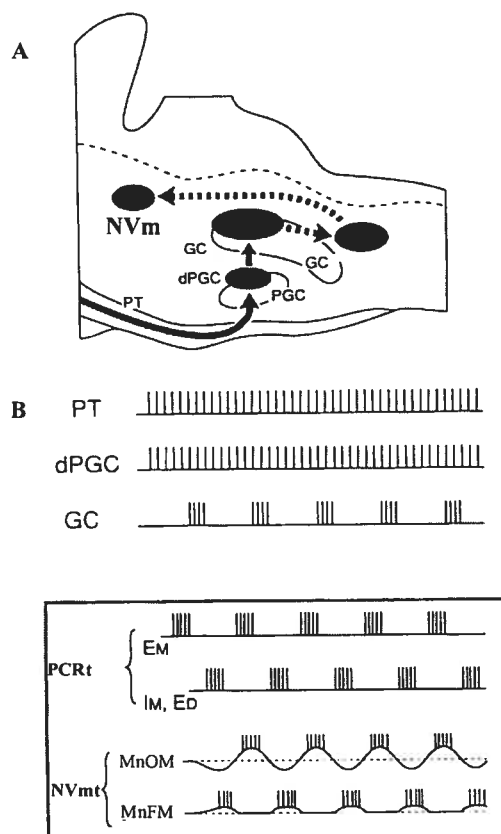
genèse du rythme masticatoire commence quand les inputs corticaux monosynaptiques entraînent la décharge tonique des neurones de PGC. À leur tour, ces neurones activeraient un groupe de neurones déchargeant phasiquement localisés plus dorsalement dans le GC. Ces derniers formeraient le rythme masticatoire qu'ils transmettraient au NVmt.

En fait, plusieurs observations semblaient étayer leur hypothèse. Par exemple, ils ont démontré que l'inactivation de cette région par divers procédés tels que des lésions, des transections ou des injection locales de lidocaïne abolit la mastication confirmant que ces structures sont requises pour qu'une mastication soit générée. Ils ont également démontré à l'aide de marquage rétrograde par injection de HRP l'existence d'une projection corticale directe bilatérale, à la partie dorsale du PGC et l'absence d'une telle projection au niveau du GC (Nozaki *et al.* 1986b). De plus, ils ont confirmé que la direction de la connexion entre les deux sous-divisions de la formation réticulée médullaire médiane était du PGC vers le GC et non l'inverse.

Dans le modèle original, les neurones du GC qui déchargeaient de façon rythmique pendant la mastication fictive, étaient considérés comme les prémotoneurones qui génèrent le rythme masticatoire et le transmettaient aux motoneurones trigéminaux (Nozaki *et al.* 1986b). Cependant, les évidences se sont accumulées que cette région projette peu au NVmt (Travers et Norgren 1983; Landgren *et al.* 1986), alors un relais dans la partie caudale du noyau réticulaire parvocellulaire a été ajouté (Nozaki *et al.* 1993; Nakamura et Katakura 1995). Selon, ce deuxième modèle, le rythme était formé par les neurones du GC, mais les bouffées étaient générées

par les interneurons pré-moteurs de dernier-ordre situés dans la partie caudale de PCRt adjacente au NXII (Nozaki *et al.* 1993 ; Nakamura *et al.* 1999). Nozaki *et al.* (1993) ont enregistré les neurones de cette région pendant la mastication fictive pour déterminer leur participation dans la génération du patron moteur et ont montré que les neurones du PCRt qui sont actifs seulement pendant la phase de fermeture de la mastication fictive évoquent des PPSEs dans les motoneurons de fermeture alors que ceux qui sont actifs pendant la phase d'ouverture inhibent ces motoneurons et excitent les motoneurons d'ouverture. Dans une étude ultérieure, Inoue *et al.* (1994) ont confirmé les observations de Nozaki et ont montré de plus que chaque type de neurones recevait des inputs excitateurs phasiques dans leur phase respective, mais seulement pour ceux qui sont actifs pendant la fermeture de la mâchoire, cet input excitateur alternait avec de inputs inhibiteurs phasiques. La figure 9 tirée de la revue de Nakamura et Katakura (1995) illustre le modèle proposé par Nozaki et ses collaborateurs.

Figure 10

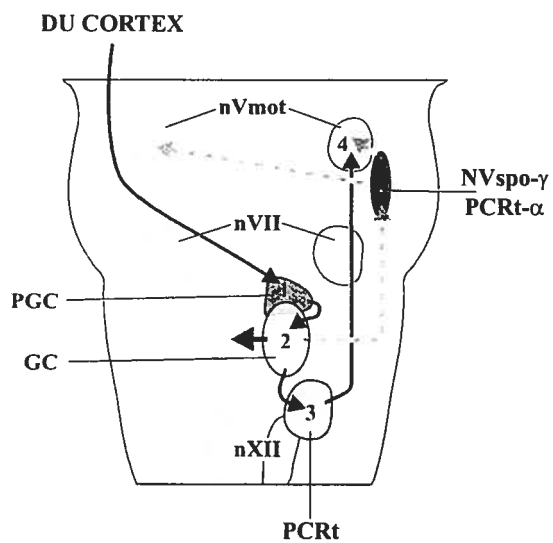


EM : Prémotoneurones excitateurs projetant aux motoneurones du masséter
 IM : Prémotoneurones inhibiteurs projetant aux motoneurones du masséter
 ED : Prémotoneurones excitateurs projetant aux motoneurones du digastrique
 MnOM : Motoneurones d'ouverture de la mâchoire
 MnFM : Motoneurones de fermeture de la mâchoire

Localisation du générateur de patron central masticatoire chez le cochon d'inde. A: Diagramme schématique de la chaîne neuronale à partir du tractus pyramidal (PT) jusqu'au noyau moteur trigéminal superposé sur un plan sagittal du tronc cérébral. Les flèches à trait continu et pointillé représentent les activités non rythmiques et rythmiques respectivement; le rythme masticatoire est généré dans le GC. B: Patrons de décharge de neurones enregistrés dans les différents sites de la voie cortico-trigéminal motoneuronale; le rythme est généré dans le GC (tracé du milieu) et transmis aux neurones du PCRt lesquels le transmettent aux motoneurones trigéminaux. Les tracés du bas illustrent les potentiels intracellulaires des motoneurones de fermeture et d'ouverture. La ligne pointillée indique le potentiel membranaire de repos. *Nakamura et Katakura 1995.*

Deux éléments majeurs ont incité Lund (1991) à proposer une révision du modèle de Nozaki et collaborateurs. Premièrement, il a été démontré qu'une section du PCRt rostralement au NXII n'abolit pas la mastication (Chandler et Tal 1986). Lund (1991) a donc suggéré une variante du modèle original dans laquelle il accepte l'idée que le rythme est généré par les neurones de la formation réticulée médiane identifiés par Nozaki *et al* (1986 a, b) mais, il a ajouté une projection des neurones du GC à des neurones générateurs de bouffées qui seraient localisés plus près du NVmt, à la frontière pontobulbaire, dans le PCRt- α et le NVspo- γ en raison d'évidences démontrant que certains neurones de ces régions montraient une activité rythmique pendant la mastication fictive (Donga et Lund 1991). Deuxièmement, il a été démontré qu'une stimulation unilatérale de l'ACM induit une activité rythmique masticatoire bilatérale synchronisée mais qu'après une section de la ligne médiane au niveau de la médulla, une stimulation unilatérale de l'AMC induit une activité rythmique masticatoire uniquement du côté contralatéral (Nozaki *et al.* 1991). Toutefois, il était possible d'induire des activités rythmiques masticatoires asynchrones avec une stimulation bilatérale de l'AMC. Ces observations suggèrent l'existence de GPCs indépendants de chaque côté du tronc cérébral dont les activités seraient synchronisées par des neurones commissuraux. Alors, Lund (1991) a ajouté une connection du générateur de bouffées au NVmt contralatéral. Cette connection contralatérale provenait d'évidences électrophysiologiques que les neurones du PCRt- α et du NVspo- γ projettent au NVmt contralatéral (Donga *et al.* 1990; Donga et Lund 1991). Les modifications apportées par Lund au modèle initial de GPC masticatoire sont illustrées dans la figure 10 tirée de Lund *et al.* (1999).

Figure 11



Modèles précédents de générateur de patron central masticatoire. Les lignes à trait continu et les aires ombragées représentent les structures activées séquentiellement par les inputs corticaux selon le modèle de Nakamura et collaborateurs (Nakamura et Katakura 1995). Les lignes pointillées représentent les modifications suggérées par Lund (1991). *Lund et al. (1999)*.

Actuellement, de nouvelles évidences suggèrent que ces différents modèles sont à revoir. En effet, il a récemment été démontré qu'une transection du tronc cérébral à travers le pôle rostral du GC n'abolit pas l'activité motrice rythmique trigéminale (Kogo *et al.* 1996, 1998; Tanaka *et al.* 1999; Katakura *et al.* 1999). Selon le nouveau modèle qui émerge, les groupes de neurones impliqués dans la génération du patron masticateur seraient localisés plus rostralement que supposé à prime abord et incluraient les groupes latéraux du tronc cérébral en plus des groupes médians.

Premièrement, des évidences récentes, obtenues à l'aide d'une technique de transection, suggèrent que le circuit minimal requis pour induire une activité rythmique dans les nerfs trigéminaux est localisé dans la partie rostrolatérale du tronc cérébral au niveau du pont rostralement au noyau facial (Kogo *et al.* 1996; Katakura *et al.* 1999; Tanaka *et al.* 1999). Cette région comprend le NVsnpr, le NVspo, le NVmt et les régions qui l'entourent dorsalement, médialement, latéralement et ventralement. Ces résultats appuient la découverte que la mastication est sévèrement compromise chez les souris knock-out dont les 3e et 5e rhombomères ne se développent pas normalement (Jacquin *et al.* 1996, Champagnat et Fortin 1997). Ces segments du tronc cérébral, qui comprennent le NVmt et les régions pontiques adjacentes, contiennent plusieurs groupes de neurones qui pourraient constituer la portion trigéminale du GPC masticatoire.

Également, dans le modèle original (Nozaki *et al.* 1986a,b), et ses dérivés (Lund 1991; Nakamura et Katakura 1995), il était assumé que l'input cortical activait seulement la formation réticulée médullaire ventromédiane. Cependant, les évidences

anatomiques et électrophysiologiques se sont accumulées démontrant que plusieurs neurones de la formation réticulée médullaire latérale, de la formation réticulée pontique tant médiale que latérale et du CNST reçoivent des inputs directs de plusieurs sites corticaux (Torvik 1956; Yasui *et al.* 1985; Donga et Lund 1991, Inoue *et al.* 1992; Enomoto *et al.* 1995). Cela suggère que l'input tonique en provenance de l'ACM active des neurones à tous les niveaux de la formation réticulée et du CNST et réfute le modèle original dans lequel l'input cortical est restreint aux neurones du PGC. En outre, bon nombre de ces neurones reçoivent des inputs sensoriels en provenance de la cavité orale et de la région péri-orale. Ces inputs sensoriels ont pour but, très certainement, de permettre l'adaptation du patron masticatoire aux caractéristiques des aliments ingérés. Ces neurones du tronc cérébral latéral occupent donc une position stratégique pour intégrer l'information sensorielle et les commandes descendantes en vue de produire un programme moteur qui soit approprié aux besoins de l'organisme.

De plus, dans cette région critique située entre le NVmt et le NVII, plusieurs prémotoneurones de plusieurs noyaux de la formation réticulée latérale et du NVspo- γ sont phasiquement actifs pendant la mastication fictive (Donga et Lund 1991; Inoue *et al.* 1992,1994; Westberg *et al.* 1998, Tsuboi *et al.* 2003). Les auteurs de ces différentes études proposent que les neurones actifs phasiquement font partie du GPC, plus spécifiquement des circuits qui contrôlent les bouffées de décharge des motoneurones trigéminaux (les générateurs de bouffées). De plus, ces groupes latéraux contiennent tous des prémotoneurones qui projettent bilatéralement au NVmt (Mizuno *et al.* 1983; Landgren *et al.* 1986; Rokx *et al.* 1986; Appenteng *et al.* 1987, 1990; Donga et Lund 1991; Westberg 1995; Li *et al.* 1993, 1995, 1996; Kolta *et al.* 2000) suggérant leur

implication dans la coordination bilatérale de la mandibule. Selon les résultats de l'étude de Westberg *et al.* (1998), le comportement de ces prémotoneurones est modulé en fonction du patron masticatoire démontrant que le GPC masticatoire peut-être réorganisé pour modifier l'output des motoneurones trigéminaux en additionnant et en soustrayant des éléments neuronaux et/ou en changeant le comportement des neurones qui sont communs à différentes sous-populations. L'ensemble de ces informations suggère que des sous-populations de neurones dans les noyaux la formation réticulée pontique et de la médulla rostrale ainsi que du CNST participent dans la programmation de la mastication. Pour certains de ces neurones, il est possible que ce soit en raison de leurs propriétés de décharge en bouffées, tels que c'est le cas des neurones du NVsnpr (Sandler *et al.* 1998). En fait, il a été suggéré par Tsuboi et ses collaborateurs (2003) que les neurones du NVsnpr dorsal, en raison de leurs propriétés intrinsèques de décharge en bouffées, pourraient former le coeur du GPC masticatoire responsable tant pour le rythme que pour la génération des bouffées dans les motoneurone trigéminaux. D'autres neurones de ces régions, tels que les neurones de PériV et du PCRt ne manifestent pas de propriétés intrinsèques de décharge en bouffées (Bourque et Kolta 2001) mais contribuent un input rythmique aux motoneurones trigéminaux du fait qu'ils sont eux-mêmes probablement entraînés par des inputs excitateurs et inhibiteurs phasiques.

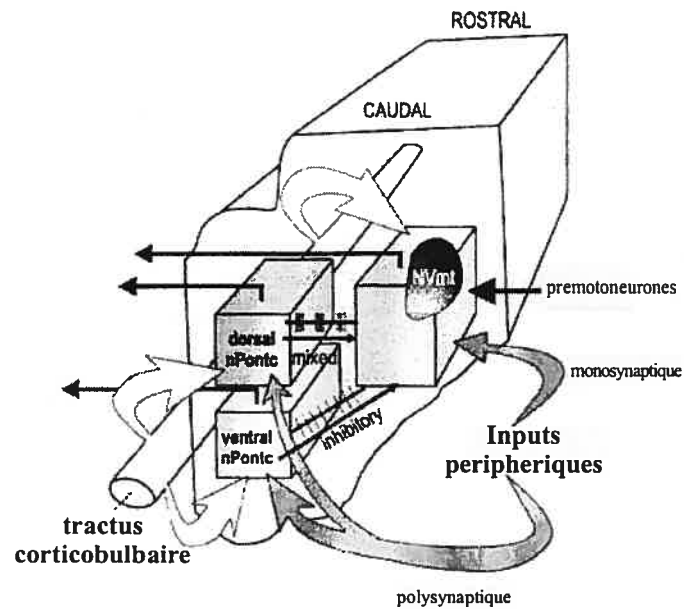
Au niveau du pont, la formation réticulée médiane est constituée du nPontC. Suite à l'observation que les neurones du nPontc dorsal déchargent rythmiquement pendant la mastication fictive, tandis que les neurones de la moitié ventrale ont tendance à décharger toniquement (Westberg *et al.* 2001), Scott et ses collaborateurs (Scott *et al.*

2003) se sont intéressés à examiner l'implication de ce noyau dans la génération de la mastication pour vérifier si un scénario similaire à celui décrit par Nozaki *et al.* (1986a, b) se produisant à un niveau plus rostral, pouvait expliquer la génération d'un patron masticatoire. Dans cette étude, ils ont examiné les changements du patron de mastication rythmique évoquée par la stimulation du cortex sensori-moteur pendant l'inhibition (par l'application de lidocaïne) ou l'excitation (par l'application de NMDA) des neurones dans ce noyau et les parties adjacentes du GC dans le lapin anesthésié. Ils ont trouvé que l'inactivation de la partie rostro-médiane du GC n'avait aucun effet sur les mouvements ou les EMGs. Cependant, l'inactivation du nPontC ventral a causé une augmentation de la durée du cycle et de la durée et l'amplitude des bouffées. L'inactivation du nPontC dorsal causait des effets plus de variables, bien que la durée et l'amplitude des bouffées étaient souvent diminuées. Les effets sur l'activité musculaire étaient toujours bilatéraux. D'autre part, l'activation du nPontC ventral par le NMDA, a complètement bloqué la mastication alors que l'activation du nPontC dorsal n'avait aucun effet ou causait une augmentation de la fréquence du cycle en diminuant la durée et l'amplitude des bouffées. Ces découvertes suggèrent que les neurones du nPontC ventral inhibent toniquement d'autres parties du générateur de patron central pendant la mastication, tandis que les neurones dorsaux exercent des effets variés. En raison de ces résultats et considérant que les noyaux nPontC de chaque côté de la ligne médiane sont interconnectés (Shammah-Lagnado *et al.* 1987), et reçoivent un input polysynaptique en provenance des afférences sensorielles trigéminales (Westberg *et al.* 2001), les auteurs proposent que le nPontC fait partie du GPC. Cependant, considérant que les latences d'activation corticale des neurones des parties ventrale et dorsale du nPontC et des neurones des groupes cellulaires latéraux sont similaires, ces auteurs n'accordent pas la

primauté à l'un ou l'autre groupe. Ces auteurs proposent un nouveau modèle incorporant les données démontrant que le circuit minimal requis pour induire une activité rythmique dans les nerfs trigéminaux est localisé dans la partie rostrolatérale du tronc cérébral au niveau du pont rostralement au noyau facial (Kogo *et al.* 1996; Katakura *et al.* 1999; Tanaka *et al.* 1999) ainsi que les données électrophysiologiques démontrant des décharges phasiques des neurones des groupes médians et latéraux à ce niveau du tronc cérébral pendant la mastication fictive (Westberg *et al.* 1998, 2001; Tsuboi *et al.* 2003). Selon ce modèle, les groupes médians et latéraux reçoivent l'input cortical en parallèle, les neurones du nPontC projettent aux neurones du tronc cérébral latéral lesquels projettent au NVmt. Par leur projection, les neurones du nPontC ventral actifs toniquement inhibent les neurones des groupes latéraux qui contrôlent l'amplitude et la durée des bouffées des motoneurones alors que les neurones du nPontC dorsal exercent des effets mixtes sur les circuits latéraux. Ce modèle est illustré dans la figure 11 tirée de la revue de Lund *et al.* (1999).

Au bout du compte, les circuits et les mécanismes responsables de la génération des mouvements rythmiques de la mâchoire ne sont pas encore tout à fait déterminés. Présentement, plusieurs groupes neuronaux ont été identifiés en tant que composants potentiels du GPC. Mais, il reste encore beaucoup à faire afin de comprendre comment ces différents groupes sont interconnectés, quelle est leur séquence d'activation et comment les propriétés intrinsèques des neurones qui les composent contribuent à l'élaboration du patron masticatoire.

Figure 12



Modèle du générateur de patron central masticatoire basé sur les connaissances actuelles.

Les deux divisions (ventrale et dorsale) du nPontC, et les prémotoneurones localisés latéralement entourant le NVmt reçoivent des inputs corticaux et périphériques (flèches blanches et ombragées respectivement; Kuypers, 1958; Donga et Lund 1991; Westberg *et al.* 1998, 2001). Les latences sont plus longues dans le nPontC (Westberg *et al.* 2001). Les neurones du nPontC dorsal déchargent rythmiquement et les neurones du nPontC ventral déchargent toniquement pendant la mastication fictive (Westberg *et al.* 2001). Les neurones du nPontC projettent aux interneurones latéraux lesquels projettent au NVmt (Kolta *et al.* 2000). Les flèches noires orientées vers la gauche représentent les interneurones commissuraux (Donga et Lund 1991; Inoue *et al.* 1992). Scott *et al.* 2003.

9.2 Pharmacologie du GPC masticatoire

Plusieurs neurotransmetteurs semblent être impliqués dans la génération d'une activité rythmique dans les nerfs trigéminaux.

Ainsi que dans la locomotion, les acides aminés excitateurs médiant la transmission synaptique excitatrice semblent jouer un rôle important dans la genèse des comportements alimentaires. Kogo *et al.* (1996) ont utilisé une préparation de tronc cérébral isolé de rats postnataux (0-3 jours) pour déterminer la pharmacologie du générateur d'une activité rythmique dans les nerfs trigéminaux. Ils ont appliqué des agonistes d'acides aminés excitateurs (AMPA, KA, NMA) et ont observé une activité rythmique bilatérale (qui durait de 30 sec à 10 min) d'une fréquence de 4-8Hz (ce qui correspond à la fréquence des mouvements rythmiques de la mâchoire lors du tétage) dans les nerfs trigéminaux enregistrée à l'aide d'une électrode de succion dans la branche motrice du nerf trigéminal. Lorsqu'ils ajoutaient de la bicuculline, ils obtenaient une activité de plus grande amplitude présentant un rythme plus régulier avec des concentrations d'acides aminés excitateurs moindres. Lorsqu'ils appliquaient l'APV après avoir généré une activité rythmique par un cocktail d'un acide aminé excitateur et de la bicuculline, dans la majorité des cas, ils arrivaient à bloquer l'activité rythmique générée à l'aide d'un agoniste NMDA (NMA) ou non-NMDA (KA). La DNQX ne bloquait que l'activité générée par le cocktail contenant l'agoniste non-NMDA. Ils ont donc conclu que les récepteurs NMDA jouaient un rôle important dans la génération du rythme. En fait, il a été démontré que l'activation des récepteurs NMDA induit des

bouffées de décharges rythmiques dans les motoneurones trigéminaux (Kim et Chandler 1995). Par conséquent, il est difficile de conclure de cette étude si l'activité rythmique observée provenait d'un effet direct des acides aminés excitateurs sur les motoneurones eux-mêmes ou d'un effet sur l'ensemble du réseau composant le GPC.

L'hyperpolarisation rythmique dans les motoneurones de fermeture est principalement glycinergique quoique le GABA semble y jouer un rôle mineur (Enomoto *et al.* 1987).

Il a été démontré que l'administration systémique de quipazine, un agoniste de la sérotonine, augmente le seuil pour l'induction des mouvements rythmiques de la mâchoire et réduit les bouffées EMG (Chandler *et al.* 1985). Cependant, l'application iontophorétique de sérotonine facilite la décharge des motoneurones trigéminaux pendant plusieurs minutes lors des mouvements rythmiques de la mâchoire induits par une stimulation corticale (Katakura et Chandler 1990). Il a également été démontré que la sérotonine appliquée *in vitro* augmente l'excitabilité des motoneurones trigéminaux et produit une bistabilité membranaire favorisant un comportement de décharge en bouffées (Hsiao *et al.* 1997, 1998). L'effet inhibiteur sur les mouvements rythmiques de la mâchoire causé par l'administration systémique de quipazine peut être attribué à l'activation de récepteurs en dehors du GPC ou au fait que la quipazine démontre des propriétés antagonistes pour le récepteur 5-HT₃ (Bartrup et Newberry 1996). Un sous groupe des neurones du raphé dorsal (25% de la population totale) est fortement activé lors des mouvements oro-buccaux rythmiques (Fornal *et al.* 1996).

L'administration d'apomorphine, un agoniste dopaminergique, produit une activité alternée dans l'EMG des muscles digastriques et masséter de cochons d'inde anesthésiés (Chandler et Goldberg 1984). Ces activités EMG étaient associées avec des mouvements rythmiques d'ouverture et de fermeture de la mâchoire. De plus, après l'administration d'apomorphine, tous les animaux ont démontré une réponse intense à des tapes sur les régions péri-orales et orales. Les mouvements induits par l'administration d'apomorphine étaient bloqués par l'administration d'halopéridol un antagoniste dopaminergique. Un fait intéressant à noter est que les mouvements rythmiques de la mâchoires induits par une stimulation corticale étaient résistants à l'administration d'halopéridol. L'ablation des collicules supérieures et des structures adjacentes empêchait les mouvements rythmiques de la mâchoire induits par l'apomorphine et éliminait la sensibilité aux stimulations péri-orales. Cependant, il était facile d'induire des mouvements rythmiques de la mâchoire par une stimulation corticale. Les résultats de cette étude suggèrent que la dopamine active une autre voie que la voie cortico-bulbaire pour médier ces effets. Selon Zarrindast *et al.* (1992) une injection intrapéritonéale de pilocarpine, un agoniste cholinergique, induit une mastication chez le rat. Lorsqu'un bloqueur des récepteurs D1 (SCH 23 390) est administré antérieurement, le nombre de mouvements masticatoires induits par la pilocarpine est diminué. D'autre part, l'administration d'un antagoniste des récepteurs D2 (sulpiride) diminue la fréquence des mouvements induits par la pilocarpine. Les résultats de cette étude démontrent que la dopamine agit via l'activation des récepteurs D1 ou D2 pour affecter des paramètres distincts des mouvements rythmiques de la mâchoire chez le rat.

L'application iontophorétique de noradrénaline facilite la décharge des motoneurones du digastrique en réponse à une application du glutamate ou à une stimulation de l'ACM. Toutefois, la noradrénaline seule n'affecte pas ces motoneurones. L'effet facilitateur de la noradrénaline pouvait être bloqué par l'administration de phentolamine, un antagoniste des α -adrénorécepteurs (Katakura et Chandler 1990).

10. FEEDBACK SENSORIEL ET MASTICATION

Les caractéristiques de base de la mastication peuvent être programmées par le tronc cérébral en absence d'input sensoriel, mais de tels mouvements seraient fortement inefficaces et pourraient même se révéler dangereux pour l'organisme car ils pourraient se révéler mal adaptés aux attributs des aliments et occasionner des blessures. Dans la réalité, le feedback sensoriel d'une variété de récepteurs intraoraux et des muscles interagit avec le système de contrôle central à plusieurs niveaux pour adapter le programme aux caractéristiques des aliments. Cette interaction entre le feedback sensoriel et le programme moteur rend possible la coordination de la langue, des lèvres et des mâchoires pour mouvoir la nourriture à l'intérieur la bouche et explique les effets des différents types de nourriture sur le patron des mouvements ainsi que les changements de cycles en cycles alors que la nourriture est transformée. En fait, il apparaît que les mouvements masticatoires sont régulés par la texture, la dureté et le volume de la nourriture, et une activation plus intense des muscles de fermeture de la mâchoire est produite quand la dureté de la nourriture augmente (Steiner *et al.*1974;

Thexton *et al.* 1980; Peyron *et al.* 1997). Ces faits suggèrent que le contrôle de la mastication est dépendant du feedback sensoriel.

Les exemples les plus évidents que l'on pourrait citer concernent l'effet ralentissant de la sensation douloureuse sur le patron masticatoire (Schwartz et Lund 1995). Mais en ce qui a trait aux inputs sensoriels des afférences fusoriales et parodontales, des expériences utilisant des mouvements rythmiques de la mâchoire induits par stimulation corticale chez le lapin (Lavigne *et al.* 1987; Morimoto *et al.* 1989) ont démontré que l'EMG du muscle masséter augmente pendant les mouvements rythmiques de la mâchoire quand un matériel est placé entre les dents. Cet effet est réduit de façon dramatique quand les afférences parodontales et fusoriales sont coupées, indiquant que ces deux inputs sensoriels sont requis pour cet effet facilitateur. D'un autre côté, cet effet facilitateur est seulement partiellement diminué quand seules les afférences parodontales sont éliminées, et la force masticatoire est encore régulée selon la dureté du matériel (Hidaka *et al.* 1997). Cela implique donc que pendant la mastication, les afférences fusoriales jouent un rôle régulateur sur l'activité des muscles de fermeture de la mâchoire en fonction de la dureté de l'aliment.

Cependant, tel que nous l'avons déjà mentionné, bien que les inputs sensoriels influencent le processus de mastication, ils ne sont pas absolument requis pour que la mastication puisse se produire. Ceci demeure vrai en ce qui concerne les afférences sensorielles du NVmes. Goodwin et Luschei (1974) ont testé le rôle des neurones du NVmes dans la mastication chez le singe en examinant les patrons des mouvements mandibulaires, les patrons d'activité des muscles de la mâchoire et d'autres

caractéristiques de la mastication avant et après une lésion électrolytique du tractus du NVmes. Lors d'une lésion unilatérale, l'animal ne mastiquait presque jamais du côté de la lésion. Cela ne résultait pas d'un déficit moteur, car les muscles ipsilatéraux exhibaient des patrons normaux d'activité et une mastication du côté de la lésion était occasionnellement observée. Cependant, lorsqu'une lésion de l'autre côté était effectuée, l'animal recommençait à mastiquer des deux côtés. Les patrons de mouvements mandibulaires et d'activités musculaires étaient les mêmes qu'avant les lésions. Dans une étude ultérieure, Goodwin *et al.* (1978) ont observé que l'habileté des singes à effectuer une tâche de morsure volontaire n'était pas affectée suite à une lésion bilatérale du tractus du NVmes. Donc, puisque l'élimination bilatérale des afférences fusoriales cause peu de changement dans le cycle masticatoire, il semble que ces afférences ne sont pas essentielles pour la genèse et l'exécution du patron masticatoire de base. Néanmoins, ces afférences pourraient être impliquées dans le raffinement du mouvement masticatoire. Morimoto *et al.* (1989) ont démontré que la perte de l'input des afférences fusoriales réduit l'activité des muscles de fermeture de la mâchoire de manière significative lors de la mastication d'un matériel test. Nakamura *et al.* (1976) proposent que les afférences fusoriales fournissent un input excitateur au générateur du rythme central. Et, il y aurait d'après eux une sommation des inputs centraux et périphériques lors de la production de mouvements rythmiques.

Il y a toutefois des circonstances au cours desquelles il est préférable que les effets de certains inputs sensoriels soient neutralisés pour ne pas nuire à l'exécution des mouvements. C'est le cas par exemple des mouvements réflexes qui doivent être réprimés dans certaines phases de bons nombres de mouvements répétitifs pour ne pas

interférer dans le cours normal d'exécution de ces mouvements (Rossignol *et al.* 1985; Rossignol *et al.* 1988). Dans la prochaine section, nous allons nous familiariser avec les réflexes de la mâchoire et discuter de leur modulation par le GPC masticatoire au cours des mouvements rythmiques de la mâchoire.

11. LES MOUVEMENTS RÉFLEXES DE LA MÂCHOIRE

Il existe trois mouvements réflexes de la mâchoire : le réflexe de fermeture, le réflexe d'ouverture et le réflexe latéral. Le réflexe de fermeture de la mâchoire aussi appelé le réflexe massétérique, est un réflexe myotatique d'abord décrit par Sherrington (1917). Une tape sur le menton ou l'étirement des fuseaux dans les muscles de fermeture par un abaissement de la mâchoire sont les stimulus naturels qui déclenchent ce réflexe qui résulte en l'élévation de la mandibule par la contraction des muscles de fermeture.

Le réflexe d'ouverture de la mâchoire, d'autre part, peut être évoqué en exerçant une pression ou en tapant sur les dents, les gencives, le palais ou les lèvres ou par une stimulation douloureuse du visage et de la bouche, y compris la pulpe des dents et les afférences musculaires de haut-seuil (Sherrington 1917; Hannam et Matthews 1969; Nakamura 1980) et se traduit par l'abaissement de la mandibule. Il n'y a pas de description de réflexe myotatique pour les muscles d'ouverture puisqu'ils sont dépourvus de fuseaux neuromusculaires chez la plupart des espèces.

Une ancienne théorie du contrôle neuronal de la mastication proposait que la mastication résultait en fait de l'alternance des réflexes d'ouverture et de fermeture de la

mâchoire. Selon cette théorie l'introduction d'un aliment dans la bouche initiait l'ouverture de la mâchoire et l'étirement des muscles de fermeture qui en résultait, produisait la fermeture de la mâchoire. Cependant, la bouche se refermant sur l'aliment toujours présent activerait les récepteurs parodontaux et des tissus intra-oraux causant de nouveau l'ouverture de la mâchoire, ce cycle se répétant tant aussi longtemps que l'aliment se trouvait dans la bouche (Rioch 1934). Bien sûr, cette théorie fut invalidée par la découverte de Dellow et Lund (1971) qu'il demeure possible d'induire une activité rythmique dans les nerfs hypoglosses et trigéminaux même chez les animaux paralysés.

Le troisième mouvement réflexe est le réflexe latéral de la mâchoire décrit par Lund *et al.* (1971). Ce réflexe, peu investigué, se produit en réponse à une pression appliquée sur la surface labiale ou linguale d'une incisive maxillaire chez les animaux décérébrés ou légèrement anesthésiés et se manifeste par un balancement latéral de la mandibule du côté opposé. Il semble que tant les muscles d'ouverture que de fermeture sont impliqués dans ce mouvement réflexe.

11.1 Neurophysiologie des réflexes de fermeture et d'ouverture de la mâchoire

11.1.1 Neurophysiologie du réflexe de fermeture de la mâchoire

Expérimentalement, le réflexe de fermeture peut être évoqué par l'abaissement de la mâchoire, par une stimulation dans le NVmes ou dans le tractus du NVmes ou par une stimulation des nerfs innervant les muscles de fermeture et se manifeste par une activité

EMG dans ces muscles. Lorsque ce réflexe est activé par l'abaissement de la mâchoire, les afférences fusoriales primaires et secondaires excitent les motoneurones des muscles de fermeture de la mâchoire via une connexion monosynaptique et via des interneurons (Appenteng *et al.* 1978). Il n'y a aucune inhibition simultanée des motoneurones antagonistes du digastrique. Physiologiquement, ce réflexe se traduit par un PPSE ou un potentiel d'action à une latence monosynaptique dans les motoneurones de fermeture (Kidokoro *et al.* 1968; Goldberg et Tal 1978; Goldberg *et al.* 1982; Appenteng *et al.* 1985; Lingenhöhl et Friauf 1991; Trueblood *et al.* 1996). Mais il semble que ce réflexe contient également une composante disynaptique via la projection des afférences fusoriales aux interneurons de SupV. La figure 12A illustre la voie neuronale qui soutend le réflexe monosynaptique de fermeture de la mâchoire

11.1.2 Neurophysiologie du réflexe d'ouverture de la mâchoire

Le réflexe d'ouverture de la mâchoire peut être évoqué expérimentalement par la stimulation électrique des nerfs lingual, alvéolaires inférieur et supérieur, ainsi que par la stimulation du nerf infraorbital. Au cours de ce réflexe, chez toutes les espèces étudiées sauf l'homme, les motoneurones massétériques sont inhibés et les motoneurones du digastriques sont excités (Sherrington 1917; Harrison et Corbin 1941; Hannam et Matthews 1969; Sessle et Greenwood 1976; Luschei et Goldberg 1981; Lund *et al.* 1983). Chez l'homme, seule l'inhibition des muscles de fermeture se produit, mais les muscles digastriques ne sont pas activés à courte latence (Matthews 1975). La stimulation des différents nerfs évoqués ci-dessus produit un PPSE ou un potentiel d'action disynaptique dans les motoneurones d'ouverture (Kidokoro *et al.* 1968; Nakamura *et al.* 1973a, b; Shigenaga *et al.* 2000). La stimulation de ces mêmes nerfs

évoque des PPSIs disynaptiques dans les motoneurones de fermeture (Kidokoro *et al.* 1968a, b; Goldberg et Nakamura 1968; Kawamura et Takata 1971; Kamogawa *et al.* 1988; Shigenaga *et al.* 2000)

De même qu'elles contribuent au réflexe de fermeture, les afférences parodontales du NVmes semblent contribuer au réflexe d'ouverture de la mâchoire. En effet, Passatore *et al.* (1983) ont stimulé électriquement le NVmes sur toute son étendue rostrocaudale. Lorsqu'ils stimulaient rostralement ou médialement dans le noyau, ils provoquaient la fermeture de la mâchoire. Mais, lorsqu'ils stimulaient dans la partie caudale du noyau, là où sont préférentiellement localisés les corps cellulaires des afférences parodontales, seulement des mouvements d'ouverture de la mâchoire étaient observés. Il semble que ce soit via leur projection massive à SupV que ces neurones contribuent à ce réflexe. En effet, il apparaît que les neurones de SupV qui reçoivent un input des afférences parodontales du NVmes établissent des contacts monosynaptiques inhibiteurs avec les motoneurones de fermeture (Kidokoro *et al.* 1968a; Minkels *et al.* 1995). Minkels *et al.* (1995) ont établi ce fait au cours d'une étude électrophysiologique utilisant des rats dans laquelle ils ont démontré que le seuil de stimulation du nerf alvéolaire inférieur qui déclenche un PPSE dans les interneurones de SupV est le même que celui qui déclenche une décharge dans les afférences parodontales, alors que le seuil qui déclenche une décharge dans les interneurones de SupV est le même qui déclenche un PPSI dans les motoneurones de fermeture. La stimulation du nerf alvéolaire inférieur évoquait également des PPSEs tardifs qui suivaient le PPSE monosynaptique dans les neurones de SupV suggérant que ces derniers contribuent au réflexe d'ouverture

également du fait qu'ils reçoivent un input synaptique des afférences sensorielles qui terminent dans le complexe sensoriel trigéminal.

Olsson et Westberg (1991) ont démontré que les prémotoneurones localisés dans le NVspo- γ qui projettent aux motoneurones du digastrique sont impliqués dans le réflexe disynaptique d'ouverture de la mâchoire. Ils ont enregistré extracellulairement des neurones du NVspo- γ sur des chats anesthésiés et ont confirmé leur connexion au pool de motoneurones du digastrique par activation antidromique. Ils ont trouvé que plus de la moitié de ces neurones pouvaient être activés monosynaptiquement par une stimulation électrique de faible intensité du nerf alvéolaire inférieur ou du nerf lingual. Ces chercheurs ont trouvé que le seuil pour évoquer des réponses dans ces neurones était le même que celui pour évoquer le réflexe d'ouverture de la mâchoire par une stimulation des mêmes nerfs. Shigenaga *et al.* (2000) ont enregistré des neurones dans la partie rostrale du NVspo qui projetaient aux pool de motoneurones d'ouverture et de fermeture et ont démontré à l'aide d'enregistrements intracellulaires dans les motoneurones que ces neurones contribuent à l'inhibition disynaptique des motoneurones de fermeture et à l'excitation disynaptique des motoneurones d'ouverture en réponse à la stimulation électrique du nerf alvéolaire inférieur. En fait, tous les interneurones excitateurs de la formation réticulée et du CNST qui reçoivent un input des afférences innervant les structures intraorales et qui projettent au pool de motoneurones d'ouverture de la mâchoire contribuent à ce réflexe. La figure 12B illustre la voie neuronale qui soutend le réflexe disynaptique d'ouverture de la mâchoire.

Figure 13

A. Réflexe monosynaptique de fermeture de la mâchoire

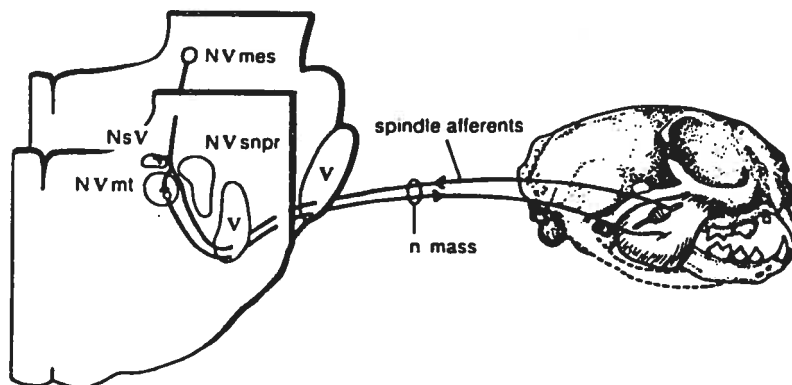
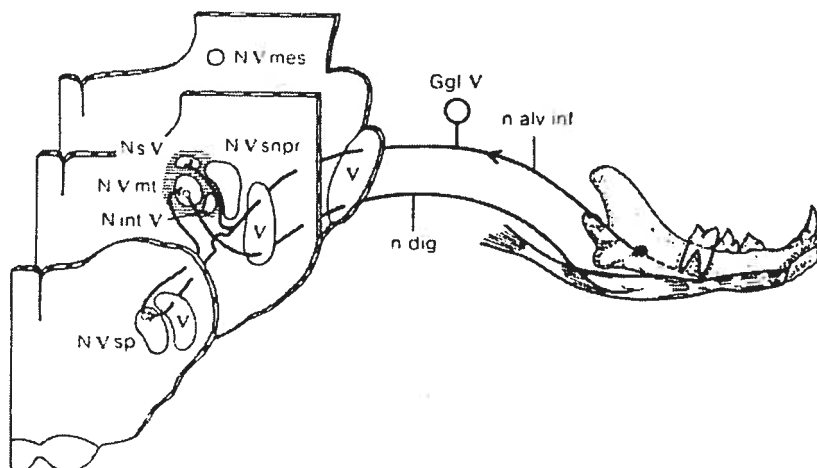


Diagramme illustrant le réflexe myotatique de fermeture de la mâchoire. À gauche, deux sections transversales du tronc cérébral prises au niveau du noyau mésencéphalique trigéminal (NVmes) et du noyau moteur trigéminal (NVmt), respectivement. Le tractus spinal trigéminal (V) et le noyau trigéminal sensoriel principal (NVsnpr) sont indiqués. À droite, les afférences (groupes I et II) des fuseaux neuromusculaires du masséter voyagent dans la racine motrice. Elles forment des collatérales axonales qui se terminent sur les motoneurons du masséter dans la partie ventrolatérale de NVmt. Une autre collatérale fait contact avec les interneurons dans la région juste rostro-dorsale au NVmt, c'est-à-dire le noyau supratrigéminal (NsV). L'axone efférent (moteur) innerve le muscle en voyageant par la racine motrice et le nerf massétéral (n mass). Notez que les afférences fusoriales trigémiales ont leurs corps cellulaires dans le NVmes. *Lund et Olsson 1983.*

B. Réflexe disynaptique d'ouverture de la mâchoire



Organisation du réflexe d'ouverture de la mâchoire. Une section du tronc cérébral au niveau du noyau spinal trigéminal (NVsp) a été ajoutée au diagramme précédent. La région d'interneurones entourant le noyau moteur trigéminal (NVmt) inclut les noyaux supratrigéminal (NsV) et intertrigéminal (NintV). Le réflexe est évoqué par la stimulation des récepteurs dans le ligament periodontal. Les fibres afférentes qui voyagent dans le nerf alvéolaire inférieur (n alv inf) ont leurs corps cellulaires dans le ganglion trigéminal (GglV). Le prolongement central voyage dans le tractus spinal trigéminal (V) pour faire synapse sur un interneuron de NVsp qui va activer, à son tour, les motoneurons innervant le digastrique. Les axones efférents (moteurs) voyagent dans le nerf digastrique (n dig). Notez la branche collatérale afférente qui va activer les interneurons dans NsV qui causent l'inhibition disynaptique des motoneurons des muscles de fermeture de la mâchoire. *Lund et Olsson 1983.*

11.2 Modulation des réflexes de la mâchoire pendant la mastication

Il est connu depuis longtemps que les réflexes peuvent être modulés d'une manière phase-dépendante et peuvent même être inversés (Forssberg *et al.* 1975). Cette modulation phasique des réflexes est observée au cours de divers mouvements rythmiques tels que la mastication, la locomotion et la respiration (Rossignol *et al.* 1985, 1988 pour revue).

Dans le cas particulier de la mastication, Chase et McGinty (1970), dans une étude réalisée sur des chats éveillés, ont stimulé le NVmes électriquement et ont enregistré le réflexe de fermeture résultant dans le muscle masséter. Ils ont noté qu'au cours de la mastication, le réflexe de fermeture était facilité pendant la fermeture de la mâchoire et inhibé pendant l'ouverture de la mâchoire. L'inhibition de ce réflexe pendant la phase d'ouverture sert très certainement à empêcher qu'une excitation inappropriée des muscles de fermeture résultant de l'activation des afférences fusoriales ne vienne restreindre l'ouverture de la mâchoire alors que son excitation pendant la fermeture favorise la continuité du mouvement en fournissant un feedback positif aux muscles de fermeture de la mâchoire.

En ce qui concerne le réflexe d'ouverture de la mâchoire, Chase et McGinty (1970) ont rapporté une facilitation du réflexe du digastrique évoqué par la stimulation du nerf alvéolaire inférieur pendant l'ouverture de la mâchoire et une inhibition de ce

réflexe pendant la fermeture. Cependant, des études ultérieures sur des chats éveillés (Lund *et al.* 1984a) et des lapins anesthésiés (Lund *et al.* 1981 ; Lund et Rossignol 1981 ; Lund *et al.* 1983) ont révélé que la modulation de la réponse du digastrique était fonction de l'intensité de stimulation. En effet, la transmission sensorielle dans les voies réflexes qui proviennent des récepteurs de bas seuil semble être sujette à une inhibition tonique pendant la mastication (Lund *et al.* 1981; Lund et Olsson 1983). Par contre, la stimulation des récepteurs ayant un seuil élevé tels que les nocicepteurs a donné lieu à un réflexe d'ouverture dont l'amplitude est augmentée pendant la phase de fermeture de la mâchoire (Olsson *et al.* 1986b; Kim *et al.* 1986) se produisant de façon concomitante avec une inhibition de l'activité des muscles de fermeture. L'inhibition du réflexe d'ouverture évoqué par les afférences de bas seuil aura comme conséquence de prévenir l'occurrence de mouvements réflexes d'ouverture de la mâchoire à chaque fois que la bouche se referme sur l'aliment pendant la mastication. D'autre part, l'augmentation de la réponse réflexe d'ouverture aux stimuli à seuil élevé pendant la fermeture de la mâchoire assure une protection maximale des tissus mous intra-oraux pendant cette phase de la mastication.

Ce phénomène de modulation phasique de l'amplitude des réflexes se produit même lors de la mastication fictive chez le lapin (Lund *et al.* 1983) suggérant une origine centrale pour cet effet. En fait, il a été postulé que la modulation phasique de l'amplitude des réflexes observée pendant les différents types de mouvements rythmiques générés centralement relevait d'une fonction du GPC qui favorise l'intégration des réflexes utiles dans le patron et de supprime ceux qui sont potentiellement perturbateurs (Rossignol *et al.* 1985, 1988). Selon Rossignol *et al.*

(1985) le GPC réalise cette modulation en contrôlant chaque niveau de la transmission des afférences primaires aux motoneurones soit par un changement de l'état d'excitabilité des motoneurones, des interneurones ou même des terminaisons centrales des afférences primaires qui transmettent les messages périphériques.

À titre d'exemple d'une modulation de réflexe via une action sur les motoneurones, citons le réflexe d'étirement des muscles de fermeture de la mâchoire qui est prévenu pendant la phase d'ouverture de la mastication du fait que les motoneurones des muscles de fermeture sont inhibés pendant cette phase. De même, l'activation des motoneurones γ qui se produit conjointement avec l'activation des motoneurones α lors de la fermeture contribue probablement à la facilitation du réflexe de fermeture pendant cette phase. À cet égard, il a été proposé que l'absence de réflexe d'étirement dans les muscles d'ouverture imputable à l'absence de fuseaux neuromusculaires dans ces muscles est la raison pour laquelle que les motoneurones d'ouverture ne sont pas soumis à une inhibition cyclique pendant la mastication du fait qu'il n'est nul besoin de contrer une excitation causée par ces récepteurs pendant la fermeture de la mâchoire. Pour ce qui est d'une action du GPC au niveau des interneurones, il y a des évidences que l'excitabilité des neurones de bas-seuil dans le NVsnpr et dans le NVspo est réduite pendant la mastication (Olsson *et al.* 1986b). À l'opposé, des neurones de haut-seuil dans IntV montrent une augmentation de leur excitabilité se produisant en phase avec l'habileté des stimuli nociceptifs à évoquer le réflexe d'ouverture de la mâchoire.

Cependant, le niveau de régulation du gain de réflexe qui nous intéresse particulièrement est celui s'exerçant via la modulation de l'excitabilité des afférences

primaires. Le mécanisme le plus connu à l'heure actuelle, utilisé par les divers GPCs, tant chez les invertébrés que chez les vertébrés, pour moduler l'excitabilité des neurones sensoriels, est l'inhibition présynaptique résultant de la dépolarisation des afférences primaires. Au cours de la prochaine section, nous allons discuter brièvement de ce mécanisme et présenter des évidences anatomiques que ce niveau de contrôle est peut-être utilisé par le GPC masticatoire pour moduler l'excitabilité des neurones sensoriels primaires du NVmes.

12. INHIBITION PRÉSYPNAPTIQUE ET DÉPOLARISATION DES AFFÉRENCES PRIMAIRES

Frank et Fuortes (1957) furent les premiers à proposer que la transmission sensorielle en provenance des afférences primaires à leurs cibles dans la moelle épinière puisse être diminuée par une inhibition présynaptique après avoir observé une diminution des PPSEs excitateurs dans les motoneurones spinaux non corrélée à des changements détectables dans le potentiel membranaire ou à une diminution de l'excitabilité motoneuronale. Ils ont alors baptisé ce phénomène «inhibition éloignée» car cette inhibition se produisait à un site éloigné du soma des motoneurones. Par la suite, Eccles *et al.* (1961) ont confirmé les observations de Frank et Fuortes et ont de plus démontré que, contrairement aux PPSEs évoqués par les afférences Ia, les PPSEs monosynaptiques résultant d'une stimulation des voies descendantes n'étaient pas altérés de façon concomitante suggérant un site présynaptique pour l'inhibition observée. Ils ont alors émis l'hypothèse que la diminution de la taille des PPSEs résultait d'une

diminution de la libération de neurotransmetteur causée par une dépolarisation présynaptique réduisant la taille du potentiel d'action présynaptique dans les afférences primaires. Cette hypothèse a par la suite été appuyée par des évidences morphologiques de contacts axo-axoniques définis par la présence de vésicules synaptiques dans les composantes pré et postsynaptiques en microscopie électronique dans la corne dorsale de la moelle épinière (Gray 1962). Ces contacts axo-axoniques représentent depuis la base ultra-structurale du contrôle présynaptique de la transmission excitatrice. Dans une étude quantitative ultrastructurale, Pierce et Mendell (1993) ont trouvé que 86% des boutons des afférences Ia dans la corne ventrale sont contactés par des terminaisons présynaptiques. Par la suite, Destombes *et al.* (1996) ont démontré que ces terminaisons présynaptiques contactant les terminaisons des afférences Ia étaient GABAergiques et contenaient des vésicules aplaties.

Tel que nous l'avons déjà mentionné dans la section 7.5.5, le GABA dépolarise les neurones sensoriels primaires. Des expériences menées chez les invertébrés démontrent que le GABA, en agissant sur les récepteurs GABA_A, cause une dépolarisation des afférences primaires résultant de l'augmentation d'une conductance chlore qui, par un phénomène de "shunting", diminue l'amplitude du potentiel d'action présynaptique dans les terminaisons axonales réduisant ainsi la libération de neurotransmetteur à ces terminaisons, ce qui occasionne une inhibition présynaptique (Cattaert *et al.* 1994; Cattaert et El Manira, 1999). Toutefois, lorsque ces DAPs sont d'amplitude suffisamment élevée, il a été démontré qu'elles génèrent des potentiels d'actions antidromiques (Cattaert *et al.* 1994) lesquels en entrant en collision avec les potentiels d'action orthodromiques altèrent davantage la transmission synaptique.

Ceci est vrai pour les invertébrés, mais également pour les vertébrés (révisé dans Nusbaum *et al.* 1997; Rudomin et Schmidt 1999; Willis 1999). Des études *in vivo* ont révélé que les DAPs se produisent au cours de divers mouvements rythmiques dont la locomotion (Dubuc *et al.* 1985, 1988; Gossard *et al.* 1989; Gossard 1996) et ont démontré que les DAPs génèrent des potentiels antidromiques qui se produisent en phase avec le patron moteur pendant la locomotion fictive, suggérant un contrôle actif des terminaisons sensorielles par le GPC. Par exemple, Dubuc *et al.* (1988) ont observé des fluctuations de potentiels dans les racines dorsales sacrales et lombaires qui se produisaient à la même fréquence que le rythme locomoteur fictif chez le chat décortiqué et paralysé. De plus, ces auteurs ont rapporté l'occurrence de décharges antidromiques rythmiques dans les afférences primaires enregistrées dans le bout proximal des filaments de la racine dorsale sectionnée. Également, à l'aide d'enregistrements intra-axonaux dans les afférences non-coupées du membre postérieur, Gossard *et al.* (1989) ont rapporté des variations cycliques du potentiel membranaire se produisant dans les afférences cutanées et musculaires. Dans quelques cas, des bouffées phasiques de potentiels d'action antidromiques étaient générées pendant la locomotion fictive pendant les phases d'extension et de flexion. Cette activité antidromique pendant la locomotion se propage à l'intérieur des racines dorsales et des axones des nerfs périphériques (Dubuc *et al.* 1985, 1988; Gossard *et al.* 1991) et il a été proposé qu'elle module l'influx d'activité sensorielle vers le système nerveux central en entrant en collision avec les potentiels d'action orthodromiques et en changeant l'excitabilité des récepteurs en périphérie (Slesinger et Bell 1985; Nusbaum *et al.* 1997; Gossard *et al.* 1999). Il a également été suggéré que les potentiels générés par les DAPs se propagent

de façon orthodromique et excitent les neurones cibles dans la moelle épinière (Eccles *et al.* 1961; Duchen 1986; Gossard 1996). Via ce phénomène de DAPs, le flux d'information se propageant des récepteurs sensoriels vers le système nerveux central subit une régulation constante.

Pour ce qui est des afférences du NVmes, les résultats de certaines études effectuées sur des préparations *in vivo* du rat (Grimwood *et al.* 1992; Appenteng *et al.* 1995) et sur des tranches de tissu cérébral *in vitro* (Curtis et Appenteng 1993), démontrent que la transmission dans les synapses excitatrices des afférences fusoriales aux motoneurones trigéminaux est accompagnée par une incidence élevée d'échec de transmission par les potentiels d'action présynaptiques suggérant qu'elle est soumise à une inhibition présynaptique. En fait, plusieurs études rapportent la présence de boutons pré-synaptiques sur les terminaisons de ces neurones. En effet, Luo et Li (1991) et Luo et Dessem (1999) ont marqué des afférences fusoriales par injection intracellulaire de HRP et ont examiné les terminaisons dans le NVmt. Ils rapportent que 22-28% de ces terminaisons étaient contactées par des boutons présynaptiques. Zhang *et al.* (2001) ont fait la même constatation en ce qui concerne les terminaisons des afférences fusoriales qui terminent dans le NXII. Ils ont trouvé que 35 % de ces boutons reçoivent des inputs présynaptiques. Également les terminaisons des afférences fusoriales reçoivent des contacts présynaptiques à l'intérieur de la formation réticulée et du CNST car 38 % des boutons de ces cellules sont contactés par des terminaisons présynaptiques dans PCRt (Luo *et al.* 2000) alors que 15 % des boutons terminant dans SupV et la partie dorsomédiane du NVsnpr reçoivent de tels contacts (Luo *et al.* 1995). Les terminaisons présynaptiques contenaient le plus souvent des vésicules pléomorphiques et quelquefois

de grandes vésicules à centre dense. Des résultats similaires ont été rapportés chez le chat par Bae *et al.* (1996), montrant que 12 % des terminaisons d'afférences fusoriales du masséter et 36 % des terminaisons d'afférences parodontales sont présynaptiquement contrôlées dans le NVmt. De plus, Bae *et al.* (1997) ont démontré, en combinant le marquage intra-axonal avec du HRP d'afférences parodontales identifiées par leur réponse à la stimulation du nerf alvéolaire inférieur ou par une pression sur les dents avec une immunohistochimie contre le GABA, que les terminaisons présynaptiques contactant les terminaisons des afférences parodontale sont immunoréactives au GABA. Ces terminaisons GABAergiques proviennent probablement des interneurons trigéminaux GABAergiques localisés dans formation réticulée et dans le CNST. Pour ce qui est des contacts axo-axoniques observés dans la partie dorsomédiane du NVsnpr, il est possible que cette innervation provienne des terminaisons des afférences primaires innervant les structures intraorales qui terminent dans cette région.

Ces résultats indiquent qu'une partie des afférences proprioceptives primaires des muscles masticatoires est contrôlée par des terminaisons présynaptiques peu importe les cibles de ces afférences sensorielles. Cependant, ces afférences fusoriales reçoivent beaucoup moins d'inputs présynaptiques que les boutons des fibres Ia dans la moelle épinière (Conradi *et al.*, 1983; Fyffe et Light, 1984; Pierce et Mendell, 1993). Cela pourrait laisser supposer que le réflexe monosynaptique d'étirement est plus faiblement régulé au niveau présynaptique dans les mouvements de la mâchoire que dans les mouvements des membres. Toutefois, en raison de la position centrale des corps cellulaires de ces afférences, une action modulatrice du GPC peut être réalisée non seulement au niveau des terminaisons centrales mais également au niveau de l'arbre

axonal et du corps cellulaire. Dans la prochaine section, nous allons présenter deux études qui sont à la base du projet de recherche qui supporte cette thèse qui fournissent des évidences que le GPC masticatoire module effectivement l'excitabilité de ces neurones.

13. MODULATION DE L'EXCITABILITÉ DES AFFÉRENCES FUSORIALES DU NVMES PENDANT LA MASTICATION FICTIVE

Kolta *et al.* (1990) ont enregistré des afférences fusoriales dans le NVmes avec des micro-électrodes extracellulaires sur des lapins anesthésiés et paralysés. Alors que l'afférence fusoriale déchargeait toniquement en réponse à un étirement soutenu des muscles de fermeture de la mâchoire, une mastication fictive était évoquée par une stimulation répétitive de l'ACM. Étant donné leur décharge continue pendant l'ouverture maintenue de la mâchoire, la population d'afférences fusoriales examinées dans cette étude était plus que probablement constituée principalement du type secondaire. Les auteurs ont trouvé que la décharge tonique de 40% des afférences était phasiquement modulée pendant la mastication fictive. L'effet le plus commun était un blocage rythmique de la décharge pendant la phase d'ouverture de la mâchoire (34%), quoique quelques afférences ont montré une augmentation d'excitabilité pendant la phase de fermeture (6%). En regard des résultats de cette étude, les auteurs ont postulé que l'excitabilité de ces afférences fusoriales étaient phasiquement modulées par le CPG et que la propagation des potentiels d'action échoue au niveau du tronc commun.

Dans une étude ultérieure, cette même équipe (Westberg *et al.* 2000), a effectué des enregistrements extracellulaires non seulement dans le NVmes mais également dans les noyaux trigéminaux adjacents dans lesquels cheminent les projections centrales des afférences fusoriales (SupV, PCRt- α et NVspo- γ). Encore une fois, ils ont observé que l'excitabilité de ces cellules était phasiquement modulée pendant la mastication fictive. Cette modulation phasique consistait en une inhibition de la décharge pendant la phase d'ouverture de la mastication fictive et une augmentation de la décharge pendant la phase de fermeture. Toutefois, cette modulation était différemment exprimée au niveau du corps cellulaire et des projections centrales. En effet, alors que 32% des unités enregistrées dans le NVmes étaient inhibées pendant la phase d'ouverture, plus de 83% de celles enregistrées le long des projections centrales présentaient une telle inhibition. Quant à l'excitation phasique observée pendant la phase de fermeture, elle était présente dans 88% des unités enregistrées au niveau des projections centrales alors qu'elle n'était retrouvée que dans 21% des unités enregistrées à l'intérieur du NVmes. Bien que ces potentiels d'action additionnels ne sont pas observés au niveau du soma, la technique de spike-triggering average a permis de démontrer qu'ils excitaient cependant les motoneurones trigéminaux.

Westberg et ses collaborateurs (2000) ont présumé que l'inhibition observée pendant la phase d'ouverture dans les unités enregistrées dans le NVmes, provenait du fait que les potentiels d'action générés en périphérie n'atteignaient pas les corps cellulaires parce que le GPC exerçait une activité inhibitrice phasique sur le soma des neurones du NVmes. Les auteurs de l'étude ont postulé que l'augmentation de l'excitabilité dans les projections centrales résultait de l'addition au niveau de l'axone

central de potentiels d'action antidromiques générés par dépolarisation des terminaisons. De plus, l'évidence que les potentiels d'action supplémentaires enregistrés dans les terminaisons centrales pendant la phase de fermeture de la mastication fictive causaient une excitation des motoneurones sans toutefois être perceptibles au corps cellulaire a suscité l'hypothèse que pendant la phase de fermeture de la mastication fictive, les afférences fusoriales sont fonctionnellement compartimentalisées par le GPC. Les auteurs de l'étude ont présumé que cette compartimentalisation pourrait être réalisée via une action synaptique du GPC au niveau de l'arbre axonal lui-même et permettrait aux projections centrales des afférences d'agir en tant qu'interneurones alors que la branche périphérique, le tronc commun et le corps cellulaire continuent de transmettre l'information sensorielle. La figure 1 de «*GABAergic Control of Action Potential Propagation Along Axonal Branches of Mammalian Sensory Neuron*» de Verdier *et al.* (2003) inclus au deuxième chapitre de la thèse schématise les résultats obtenus dans cette étude ainsi que les hypothèses proposées par les auteurs.

14. OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

L'organisation anatomique, neurochimique et physiologique du NVmes suggère la possibilité de moduler l'activité des neurones sensoriels du NVmes. Les études de Kolta *et al.*, (1990) et de Westberg *et al.*, (2000) fournissent des évidences de cette modulation, mais les mécanismes ne sont pas clairement élucidés. Cette thèse s'est attaché à démontrer que les inputs synaptiques sur les axones de ces neurones contrôlent la propagation des potentiels d'action le long de l'arbre axonal de ces neurones. Ces inputs synaptiques pourraient être responsables de la compartimentalisation observée

dans les afférences fusoriales pendant la mastication fictive. Également, cette thèse voulait démontrer que l'activation des inputs en provenance des interneurons trigéminaux pouvait influencer le patron de décharge de ces neurones.

L'hypothèse proposée était que cette compartimentalisation résulte de l'activation par le GPC masticatoire de synapses sur les axones des afférences fusoriales. Cette hypothèse a été testée au moyen d'enregistrements intracellulaires sur une préparation de tranches de tronc cérébral développée par Dr Kolta (voir Kolta 1997) dans laquelle les afférences fusoriales ainsi que les motoneurons trigéminaux et faciaux sont marqués par une injection préalable de Dil, un marqueur lipophile fluorescent, dans le masséter et les muscles faciaux de la joue. Cette préparation est intéressante du fait qu'elle contient les corps cellulaires marqués des afférences fusoriales, et du fait également que leurs axones centraux y sont relativement bien préservés et que leurs principales cibles sont présentes. Le marquage des motoneurons constitue un point de repère intéressant pour une bonne localisation des divers noyaux trigéminaux. Cette partie du projet a comporté un volet pharmacologique, physiologique ainsi qu'un volet anatomique. Dans le volet pharmacologique, nous avons démontré l'effet d'applications localisées de GABA le long du parcours axonal de ces afférences sur la propagation de potentiels d'action antidromiques évoqués par des stimulations électriques dans les régions contenant leurs projections centrales. Nous avons de plus déterminé les récepteurs impliqués dans les effets observés par l'utilisation d'agonistes et d'antagonistes des récepteurs GABA. En deuxième lieu, pour confirmer que les synapses GABAergiques font partie du GPC, nous avons reproduit les effets des applications de GABA à l'aide de stimulations électriques dans divers noyaux

trigéminaux afin d'induire la libération de GABA par les terminaisons contactant les axones centraux des afférences fusoriales. Au cours du volet anatomique, nous avons démontré les terminaisons GABAergiques le long des axones de ces afférences.

Le deuxième objectif de l'étude était de tester l'hypothèse que le GPC masticatoire peut moduler l'excitabilité des afférences primaires des fuseaux neuromusculaires des muscles de fermeture de la mâchoire via une action sur leurs corps cellulaires. Cet objectif tentait de répondre en fait à l'hypothèse émise par Kolta *et al.* (1990) et Westberg *et al.* (2000) que l'inhibition observée pendant la phase d'ouverture de la mastication fictive dans les unités enregistrées à l'intérieur du NVmes résulte d'une action du GPC sur le soma de ces cellules. Pour réaliser cet objectif, des enregistrements intracellulaires ont été effectués dans les neurones du NVmes sur la même préparation décrite antérieurement. Des réponses synaptiques étaient évoquées par des stimulations électriques dans les structures accessibles sur la tranche telles que la région PériV, le NVmt et le NVsnpr. Ce qu'il était important de déterminer dans ce volet, c'était le caractère excitateur ou inhibiteur ainsi que la nature neurochimique des inputs synaptiques via les effets d'injections de courant et d'applications de divers antagonistes des sous-types de récepteurs des principaux neurotransmetteurs sur ces réponses.

Deuxième Chapitre : première publication

**GABAergic Control of Action Potential
Propagation Along Axonal Branches of
Mammalian Sensory Neurons**

The Journal of Neuroscience 23: 2002-7

GABAergic Control of Action Potential Propagation Along Axonal Branches of Mammalian Sensory Neurons

DORLY VERDIER¹, JAMES P. LUND^{1,3} AND ARLETTE KOLTA^{1,2,3}

¹Centre de recherche en sciences neurologiques, Université de Montréal,
Montréal, Québec H3C 3J7, CANADA.

²Faculté de Médecine dentaire, Université de Montréal, Montréal, Québec H3C 3J7,
CANADA.

³Faculty of Dentistry, McGill University, Montréal, Québec H3A 2B2, CANADA.

Abbreviated Title: Synaptic Control of Spike Propagation in Axons

| | |
|-------------------------------|------|
| # of text pages: | 21 |
| # of figures: | 4 |
| # of tables: | 0 |
| # of words in abstract: | 232 |
| # of words in introduction: | 546 |
| # of words in discussion: | 657 |
| # of words in text as a whole | 5155 |

Correspondence:

Dr. Arlette Kolta,
Université de Montréal,
Pavillon Paul Desmarais,
C.P. 6128, Succursale Centre Ville,
Montréal,
Québec H3C 3J7,
CANADA.

Tel: (514)-343-7112

Fax: (514)-343-2111

Acknowledgments: This work was supported by the Canadian Institutes for Health Research.

Keywords: Primary afferents, presynaptic inhibition, antidromic firing, mastication, central pattern generation

ABSTRACT

The main axons of mammalian sensory neurons are usually viewed as passive transmitters of sensory information. However, the spindle afferents of jaw closing muscles behave as if action potential traffic along their central axons is phasically regulated during rhythmic jaw movements. In this paper, we used brainstem slices containing the cell bodies, stem axons and central axons of these sensory afferents to show that GABA applied to the descending central (caudal) axon often abolished antidromic action potentials that were elicited by electrical stimulation of the tract containing the caudal axons of the recorded cells. This effect of GABA was most often not associated to a change in membrane potential of the soma and was still present in a calcium-free medium. It was mimicked by local applications of muscimol on the axons and was blocked by bath-applications of picrotoxin, suggesting activation of GABA_A receptors located on the descending axon. Antidromic action potentials could also be blocked by electrical stimulation of local interneurons and this effect was prevented by bath-application of picrotoxin, suggesting that it results from the activation of GABA_A receptors following the release of endogenous GABA. We suggest that blockage is caused mainly by shunting within the caudal axon, and that motor command circuits use this mechanism to disconnect the rostral and caudal compartments of the central axon, which allows the two parts of the neuron to perform different functions during movement.

It is generally assumed that the axonal arbour of vertebrate neurons conducts action potentials without modulation over most of their length. In primary afferent neurons, spikes normally flow from the peripheral branch of the axon where they are generated toward the soma and central branch. However, in many of these neurons modulation is known to take place at presynaptic terminals, where GABA-induced depolarization inhibits local synaptic transmission (Gossard, 1996; Cattaert et al., 1992; Cattaert et al., 1994). It has been suggested that this process, termed primary afferent depolarisation (PAD), may have distant effects. For instance, action potentials do not flow into all intraspinal collaterals of the same muscle afferent fibre during PAD (Eguibar et al., 1994; Eguibar et al., 1997; Lomeli et al., 1998), and strong PADs generate action potentials that flow back toward the soma and the periphery (Cattaert et al., 1994; Dubuc et al., 1985; Gossard et al., 1991). For clarity sake, we will refer to spikes generated in the periphery as orthodromic and those generated at the terminals of central branches as antidromic. The antidromic spikes can reach the peripheral axonal terminal where they modify the sensitivity of sensory end-organs (Bevengut et al., 1997; Gossard et al., 1999), but they may also have a motor function.

Evidence of this comes from our recent work on primary afferents that innervate the spindles of jaw closing muscles. In contrast to other primary afferents, their cell bodies are located in the trigeminal mesencephalic nucleus (NVmes), not in a dorsal root ganglion. Furthermore, their somata receive synaptic inputs and are electrotonically coupled through gap junctions (see Lazarov, 2002; Fig.1). During fictive mastication (fictive is the term for motor patterns generated under paralysis), the firing patterns recorded from the soma differ markedly from those recorded from the caudal

compartment of the central axon of these afferents in rabbits (Westberg et al., 2000). In the majority (65%) of extracellular recordings performed near the soma, activation of the motor circuits during fictive mastication does not alter tonic orthodromic activity induced by stretch of the jaw closing muscles, and in only 1/3 of cases, a phasic inhibition of this activity is observed, coincident with the jaw opening (JO) phase of the cycle. In contrast, phasic inhibition is seen in the great majority (83%) of recordings from the caudal compartment of the central axon. In addition, this inhibition alternates with phasic excitation occurring in the jaw closing (JC) phase (Fig. 1). The extra spikes appearing in the JC phase have been attributed to antidromic action potentials generated by PAD of the central terminals (Kolta et al., 1995). These spikes do not appear to reach the soma (Fig.1), but there is evidence, based on spike triggered averaging, that they do reach trigeminal motoneurons via collaterals (Westberg et al., 2000). These results suggest that an active mechanism ("A" in Fig. 1) splits the neuron into two functionally-distinct compartments during mastication: a rostral compartment that includes the peripheral axon, soma, stem axon and associated collaterals, and a caudal compartment formed by the descending central axon and its branches (Westberg et al., 2000; Kolta et al., 1995).

Here we test the hypothesis that the decoupling of the two parts of the axonal tree is controlled by GABAergic synapses on the axonal trunk.

MATERIALS AND METHODS

We began by applying GABA to the axonal trunk, to see if this would prevent invasion of the cell body by action potentials generated in the caudal axon. We used an *in vitro* brainstem slice preparation that contains the somata and central axons of trigeminal muscle spindle afferents that were labeled by injections of DiI_{C18}(3) into the masseter muscles of rats at birth.

Preparation of slices

Figure 2A shows a sagittal drawing of the brainstem with an outline of the cell body and the axonal branches of a trigeminal muscle spindle primary afferent neuron modified from (Dessem and Taylor, 1989). Their central axons form a descending tract that supplies the trigeminal motor nucleus (NVmt) and several groups of interneurons in the supra- and inter-trigeminal areas (SupV and IntV respectively) and in the spinal trigeminal nucleus (Dessem and Taylor, 1989; Luo and Li, 1991; Bae et al., 1996).

To visualize the cells to record from, crystals of the carbocyanine dye DiI C₁₈ ([1,1'-dioctadecyl-3,3',3',3'-tetra-methylindocarbocyanine perchlorate]; Molecular Probes, Eugene, OR) were inserted in the masseter muscles of cryoanesthetized rat pups (0-2 days) and allowed to diffuse for 1-3 weeks prior to slice preparation. Nine to 28 days-old Sprague Dawley rats (Charles River, Montreal, Quebec, Canada) were anesthetized by methoxyflurane inhalation (Metofane, Janssen Pharmaceutica, Ontario, Canada) and decapitated. The brainstem was dissected, cooled in oxygenated ice-cold

(4°C) modified artificial cerebrospinal fluid (aCSF) containing (in mM: 225 sucrose, 5 KCl, 1.25 KH₂PO₄, 4 MgSO₄, 0.2 CaCl₂, 20 NaHCO₃, and 10 D-glucose), and embedded in agar. The rostral end of the block was cut at 55° from the horizontal axis. Sections (400 µm-thick), cut parallel to this plan using a vibratome, were transferred to an interface type chamber saturated with a humidified mixture of 95% O₂ and 5% CO₂ and maintained at 29-32°C. They were perfused (1 ml/min) with modified aCSF for the first 20 min, then with a mixture (50%-50%) of modified and normal aCSF (in mM: 125 NaCl, 5 KCl, 1.25 KH₂PO₄, 1.3 MgSO₄, 2.4 CaCl₂, 26 NaHCO₃, and 25 D-glucose) for another 20 min and then with normal aCSF for the rest of the experiment. The slices were visualized at low magnification (5X) under epifluorescence and the trigeminal mesencephalic and motor nuclei were identified using a rhodamine filter. All procedures for dye injections and slice preparation conformed with national ethics committee guidelines and were approved by an institutional ethics committee.

Electrophysiology

The slices were viewed with an epifluorescence microscope (Nikon). Figure 2B shows the labeling of trigeminal afferents (NVmes) and motoneurons (NVmt) as well as facial motoneurons (NVII) obtained by the dye injections. DiI-labelled cell bodies of masseteric spindle afferents in NVmes were targeted for recording with glass microelectrodes (80-200MΩ) filled with Neurobiotine 2% dissolved in potassium acetate (1M and 3M). The recording (R) and stimulating (S) positions are indicated on the schematic drawing of the slice in figure 2B. A diagrammatic neuron is drawn in red to help visualize how these relate to the axonal course. Data were recorded through a

bridge circuit with an Axoclamp 2B amplifier (Axon Instruments), and sampled at 20 KHz, except when monitoring the effects of GABA over long periods. In these cases, the sampling rate varied from 1-10 KHz. Data were stored on disk and analyzed using pClamp 6-8 software (Axon Instruments). Antidromic action potentials were evoked by electrically stimulating the descending central axonal tract through bipolar twisted nichrome wire electrodes (25 μm diameter). The intensity and duration (0.05-0.3ms) of pulses were gradually increased to establish the threshold of antidromic spikes and stimulus intensity was set at twice threshold (50 μA to 10mA). High frequency following (100-250 Hz) was used to insure that the elicited spikes resulted from direct activation of the neuron. Spike onset latencies and amplitudes were measured. All quantitative data are expressed as mean \pm standard error (SE). Differences between measures were compared with Student's paired t-test (Sigma Stat software) and were considered to be significant if the probability of α type error was $< 0,05$. Correlations between variables were established with Pearson's Correlation test and linear regression.

Drug application

GABA (1,10 and 50 mM) and muscimol (50 μM) were dissolved in Fast Green-containing normal artificial cerebro-spinal fluid (aCSF), or calcium-free aCSF. Small drops of 50 to 200 μm in diameter (0.6 to 4 nl) were injected beneath the surface of the slice by pressure ejection (pulse duration 20-50 ms) from a glass micropipette (tip diameter $\sim 5\mu\text{m}$) using a Picospritzer (General Valve). Figure 2C shows a photomicrograph of a brainstem slice showing the diameter of an effective drop of

GABA (circle) in relation to R and S. Picrotoxin (50 μ M) was applied to the bath with a syringe pump.

Labelling

Some somata of the recorded jaw closing spindle afferents were filled with neurobiotine. Depolarising current pulses (1.0-1.5nA, 1Hz, 500 ms duration) were passed through the recording electrode for 20-30min to eject Neurobiotine. At the end of the experiment, the slices were fixed in 4% paraformaldehyde in 0.1 M phosphate buffer (PB). Neurobiotine was revealed using standard procedures and the ABC kit (Vector).

Immunohistochemistry

In 5 experiments, animals that have been injected with crystals of DiI (see above) were perfused, first with saline PB (9%: PBS) and then with a fixative solution containing 2% paraformaldehyde and 0.1% glutaraldehyde in 0.1M PBS. Their brainstem was extracted and immersed in the fixative solution containing in addition 30% sucrose until it sank. It was then sectioned in 80-100 μ m thick slices on a sliding freezing microtome. In 2 other experiments, 300 μ m-thick slices were prepared as described above (see section on preparation of slices) and immersed in a fixative solution containing 2% paraformaldehyde and 0.1% glutaraldehyde in 0.1M PB for 24 hrs. In all experiments, the sections were rinsed and incubated with a polyclonal rabbit anti-GABA antibody (Sigma, 1:200 and 1:500) or with a polyclonal rabbit anti-glutamate decarboxylase (GAD) antibody (Chemicon international, 1:1000) for 36

hours. The primary antibody was revealed with a goat-anti-rabbit secondary antibody conjugated to alexa 633 or to alexa 488 (Molecular probes, 1:100). After several rinses, the sections were mounted with GelMount (Biomedica Corp., Foster City, California) and examined using a multiphoton confocal microscope (excitation wavelengths 488 nm, 633 nm and 543 nm for alexa fluor 488, 633 and DiI respectively, and emission filters band pass: 500-550 for Alexa 488, low pass: 650 for Alexa 633 and low pass 560 for DiI when combined to Alexa 488 or band-pass: 565-615 for DiI combined to Alexa 633)

RESULTS

Close apposition of immunoreactive GABAergic fibers and central axons

We combined immunocytochemistry against GABA and GAD with confocal imaging in an attempt to localise contacts made by GABAergic fibers onto axons of DiI labelled afferents. In 4/4 experiments with GABA and 3/3 experiments with GAD, immunoreactive boutons (green boutons in Fig. 2D and E) were seen in close apposition (white arrows) to large labelled afferent stem axons (red in Fig 2D and E).

Axonal application of GABA impedes propagation of antidromic action potential

Recordings were made from 77 neurons in NVmes and 17 cells filled with Neurobiotine were successfully recovered. All had the typical pseudo-unipolar morphology of primary afferent with a single process emerging from a round or ovoid cell body (inset Fig. 2C). The cells had an average resting membrane potential of -57 ± 1 mV, and an input resistance of 30 ± 2 M Ω . Their threshold for firing during current injection was -44 ± 1 mV and the amplitude and duration of their spikes were 67 ± 1 mV and 1.03 ± 0.03 ms respectively. These spikes were generally followed by a relatively small and short after hyperpolarization (9.0 ± 0.4 mV ; 5.7 ± 0.2 ms).

Antidromic action potentials were elicited by electrical stimulation of the descending tract at the level of the supratrigeminal area (SupV, n = 57), the intertrigeminal area (IntV, n = 11), the ventral NVmes (n = 7) and the motor trigeminal nucleus (NVmt, n =

6). The responses obtained were considered as antidromic on the basis of four criteria. First, they were all or none responses which did not appear to arise from an underlying excitatory postsynaptic potential (EPSP), and this was confirmed by hyperpolarizing the cell until the spike was abolished. Second, all occurred at very short and constant latencies (mean 0.63 ± 0.02 ms; minimum 0.4 and maximum 1.1 ms). Neurons in which stimulation caused spikes with latencies above 1.2ms, or which were of variable latency were not included in the analysis. Third, all responses followed high frequency (100 to 250Hz) stimulation without alteration and finally, they were not affected by removal of Ca^{2+} from the medium in 12/12 cases tested.

GABA was ejected along the axonal tract of 64 cells. In 22 cases (34%), GABA abruptly abolished the spikes with no concomitant change in membrane potential in 20 of them (Fig. 3A). This occurred within seconds and lasted from 0.5sec to 2min. A block was also produced by pressure ejection of muscimol ($50\mu\text{M}$), a GABA_A agonist ($n=2$; not shown), and it was reversed by bath-application of picrotoxin ($50\mu\text{M}$), a GABA_A receptor antagonist ($n=3$; Fig. 3A). GABA and muscimol were effective in Ca^{2+} -free, high magnesium aCSF ($n=2$ for each), suggesting that they were acting directly on the axon of the recorded neuron.

It has been suggested that presynaptic depolarization of axonal terminals could cause conduction failure at axonal branch points (Henneman et al., 1984), but this is unlikely to be the explanation for our findings. If the applied GABA was causing strong depolarization of the terminals or even of the stem axon (viz. Lamotte et al., 1998), we would have expected it to generate action potentials. Such action potentials would be

readily detectable. In fact, GABA and muscimol applied along the axonal tract elicited spontaneous firing in only 4 cases (Fig. 3B), and there was no concomitant block of the electrically-evoked antidromic potentials in the 3 that were fully tested. This is consistent with the results of Lomelí et al (2000), who showed that even strong PAD does not cause conduction failure in large stem axons.

In a second group of 16 neurons (25% of total), GABA applications to the axon did not block the spikes, but it did reduce their amplitude significantly (-9 ± 2 mV; $P < 0.001$; Fig. 4A). Spike amplitude recovered after washout. In most of these neurons ($n=13$), there was a simultaneous depolarization of resting somatic membrane potential of 2 to 10 mV. However, in contrast to what was observed with somatic applications of GABA (see below), there was no clear relationship between the magnitude of the depolarization and the decrease in spike amplitude (Fig. 4B; $r = 0.282$; $p > 0.05$), probably because the axonal depolarization occurred at variable distances from the soma and decayed before reaching the intrasomatic recording electrode.

We tried to reproduce the effects of direct GABA application by activation of local circuits that might release GABA under physiological conditions. Conditioning pulses (0.1-0.3 ms duration) were delivered to areas that are active during fictive mastication, and that are known to contain GABAergic neurons (the intertrigeminal area, the supratrigeminal area, the trigeminal principal sensory nucleus, the parvocellular reticular formation and the nucleus pontis caudalis) (Li et al., 1996; Turman and Chandler, 1994; Kolta et al., 2000; Bourque and Kolta, 2001). Stimulation of the dorsal cap of the trigeminal principal sensory nucleus (3/13) and the adjacent lateral

supratrigeminal area (7/11) abolished the antidromic spike, but the other sites were ineffective. In 8 of these cases, the effect was abrupt and similar to that of axonal GABA applications (as in Fig 3C) and recovery occurred as soon as the stimulation stopped. The conditioning pulses did not elicit somatic potentials (Fig 3C, second set of traces from left), suggesting that its effect was exerted at a site remote from the soma. In most cases, a conditioning-test interval of 2 ms corresponding to a monosynaptic latency (Bourque and Kolta 2001) was effective but longer intervals were usually not (Fig 3C). In two cells, bath application of picrotoxine (50 μ M) reversed the effect of the trigeminal principal sensory nucleus stimulation and the lateral supratrigeminal area stimulation, indicating that the spikes were blocked via GABA_A receptors. In the other two cells, stimulation reduced spike amplitude and was accompanied by changes in kinetics like those produce by somatic GABA applications (see below).

Somatic applications of GABA produce different effects from axonal applications

GABA was applied to the soma of 21 neurons to insure that the effects of axonal applications were not due to diffusion to the cell bodies. GABA depolarised the cells (2 to 17 mV in 19/21 cells) and decreased their input resistance by 9 to 58 % (in 5/5 cells). In contrast, no significant changes of somatic input resistance were detected during axonal GABA application (n=26). Unlike the axonal applications, somatic GABA rarely abolished antidromic spikes (2/21). Instead, it reduced their amplitude by 24 ± 4 mV (Fig. 4C; 14/21; $p < 0.001$) and increased their duration by 0.46 ± 0.08 ms; (14/21 $p < 0.05$). This also contrasts with axonal applications where reduction in spike amplitude

was not associated with changes in duration, latency, rise nor decay times. Furthermore, there was a strong relationship between changes in membrane potential and spike amplitude (Fig. 4D; $r = 0.858$; $p < 0.001$) with somatic applications. These effects were present in Ca^{2+} -free, high Mg^{2+} aCSF (2/2 cells tested; data not shown). In all cases, the recovery was gradual and was rarely complete until one min after the application.

DISCUSSION

The transmission of action potentials along the caudal central axon of trigeminal muscle spindle afferents seems to be regulated during mastication (Westberg et al., 2000; Kolta et al., 1995). Here we presented strong evidence that propagation of antidromic spikes in these sensory neurons is controlled by GABA_A receptors located on the caudal axon. We also showed that stimulation of some of the cell groups that form part of the masticatory central pattern generator (Donga and Lund, 1991; Inoue et al., 1992) mimicked this effect. Furthermore, we have observed GABAergic boutons in close apposition to labeled spindle afferent axons. It seems clear from our results that the effects of GABA on the axon cannot be explained by spread of GABA to either the presynaptic terminals or the cell body of these afferents.

This is the first description of a chemical mechanism powerful enough to completely block action potential propagation in large axons, although GABA has been shown to modify spikes in crayfish sensory afferents when it is applied near the first major branch point. The effect is a reduction in the amplitude of incoming action potentials through a combination of depolarisation and shunting that depends on increased chloride conductance (Cattaert and el Manira, 1999; Cattaert et al., 2001). These effects are likely to be synaptically-mediated because GABA-containing axonal boutons have been seen close to the branch point (Cattaert and el Manira, 1999). In the case reported here, the blockage of action potentials by GABA applications to the axon is likely to be due to a conduction shunt and/or depolarisation of the axon sufficient to inactivate Na⁺ channels (Segev, 1990; Graham and Redman, 1994). We could not

distinguish between these two mechanisms because we were recording from the soma. However, it seems likely that the complete failure of spikes was caused by local current shunt with little depolarisation, because the soma was not depolarised concomitantly in 20/22 cells. Depolarization-induced inactivation of axonal Na⁺ channels may have been involved in the cases where a reduction in the amplitude of the spike was observed, since this was always accompanied by slight depolarization of the soma, but the observation that the degree of depolarization did not correlate with the reduction in spike amplitude suggests that shunting may have also been involved in these cases.

We suggest that modulation of conduction along trigeminal spindle afferent axons during mastication allows two regions of the axon and their respective collaterals to fire independently from each other, and to transmit different messages to their post-synaptic targets during one phase of the movement (Fig1). As a result, the central axon may become a premotoneuron, carrying signals from the central pattern generator (CPG) via a set of presynaptic terminals to motoneurons, while the rostral portion of the neuron provides feedback from its receptors, although even this is phasically gated by the CPG. Although this is the first direct evidence of a new mechanism that controls action potential traffic in vertebrate neurons, it is probably not unique to the trigeminal sensory system and its presence may explain the results of others. For instances, Wall and his colleagues showed that action potentials propagate easily along the large ascending branches of dorsal column afferents studied *in vitro*, but they often failed to penetrate the thin branches that travel caudally. This tonic blockade could be lifted by picrotoxin, a GABA_A receptor antagonist (Wall and McMahon, 1994; Wall and Bennett, 1994; Wall, 1994; Wall, 1995). It is possible that synapses placed at strategic sites on these and

other axons could routinely confine the propagation of action potentials to a portion of the axonal tree during movement and perhaps under other circumstances. Bifunctional and even multifunctional neurons may also exist outside the trigeminal sensory system, which may help explain the function of antidromic firing that has been reported to occur in other sensory afferents (Cattaert et al., 1994; Dubuc et al., 1985; Gossard et al., 1991) and in other neural systems (eg. Pinault, 1995).

FIGURE LEGENDS

Figure 1: Functional compartmentalization of jaw-closing muscle spindle afferents (from Kolta et al., 1995; Westberg et al., 2000). During fictive mastication, stretch-induced tonic activity is unaltered in 65% of somatic recordings, and phasically inhibited during the jaw opening (JO) phase in 35% of cases. In contrast, phasic inhibition during JO alternates with a phasic excitation during the jaw closing (JC) phase in the majority (83%) of recordings from caudal axons. A – hypothetical synapses on the axon that stop antidromic potentials from reaching the cell body. Arrow - gap junction between somata

Figure 2: Illustration of the preparation used for recordings. A. Sagittal drawing of the brainstem showing a trigeminal muscle spindle primary afferent neuron modified from Dessem and Taylor (1989). Dotted line : cutting plane of the slices. B. Photomicrographs of labeled nuclei are superposed on a slice diagram to show the recording (R) and stimulating (S) positions. The dye injected into the masseteric and facial muscles labels the trigeminal mesencephalic and motor nuclei (NVmes and NVmt, respectively) and the facial nucleus (NVII). A diagrammatic neuron is shown in red to illustrate the axonal course. C. Photomicrograph of a brainstem slice showing the diameter of an effective drop of GABA (circle) in relation to R and S. Inset The recorded neuron had a single axon emerging from an ovoid cell body. D and E. GABA- (D) and GAD- (E) immunoreactive boutons (green) seen in close apposition (white arrows) to large afferent stem axon (red).

Figure 3: Block of conduction of antidromic action potentials. A. Antidromic potentials elicited by stimulation of the descending tract at the level of IntV (control) were abolished by pressure application of GABA (1 mM) on the axon (GABA). After recovery (Recovery), bath application of picrotoxin (50 μ M) prevented the effect of GABA (GABA+PTX). B. Application of GABA (10mM; arrow) along the axon of another neuron elicited spikes, but this did not stop the propagation of antidromic potentials evoked by electrical stimulation (*). C. Stimulation of the supratrigeminal area (SupV) alone had no effect on the soma of a third neuron (Control), but it abolished antidromic spikes caused by stimulation of the trigeminal motor nucleus (NVmt) (Control) when the conditioning-test (C-T) interval was 2 ms, but not 5ms. D. Blockage of antidromic spikes evoked by stimulation of the medial supratrigeminal area (*mSupV*), following stimulation of the lateral supratrigeminal area (*latSupV*), was prevented by bath-application of picrotoxin (50 μ M) (C-T 2 ms interval PTX). Stimulation of *latSupV* by itself had no detectable effect. Calibration bars in A apply to C and D. All panels present five superposed traces in A and C, and four in D.

Figure 4: Differences between somatic and axonal applications of GABA that cause depolarisation. A. GABA (10 mM) applied to the axon decreased spike amplitude and slightly depolarised the cell (4 mV) after 5s, but there was no significant correlation between depolarisation and change in amplitude (n=13 cells) (B). C. GABA (10 mM) applied to the soma depolarised another cell (12 mV) and gradually decreased spike amplitude and increased its duration. D. Depolarisation and change in amplitude were strongly correlated (n= 12 cells). 1: resting membrane potential and 2: peak of control

spike. Antidromic spikes were evoked by stimulation of the supratrigeminal area (SupV).

Figure 1

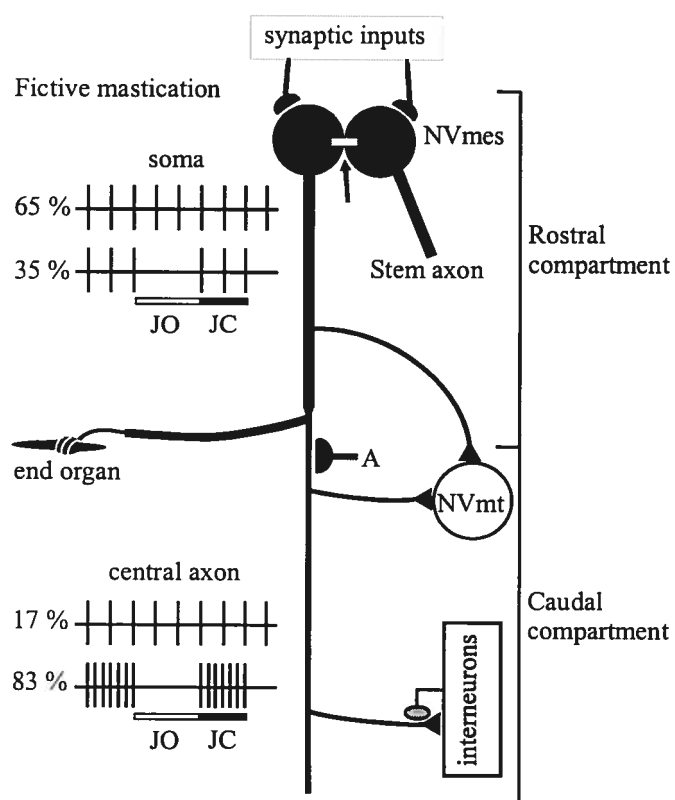


Figure 2

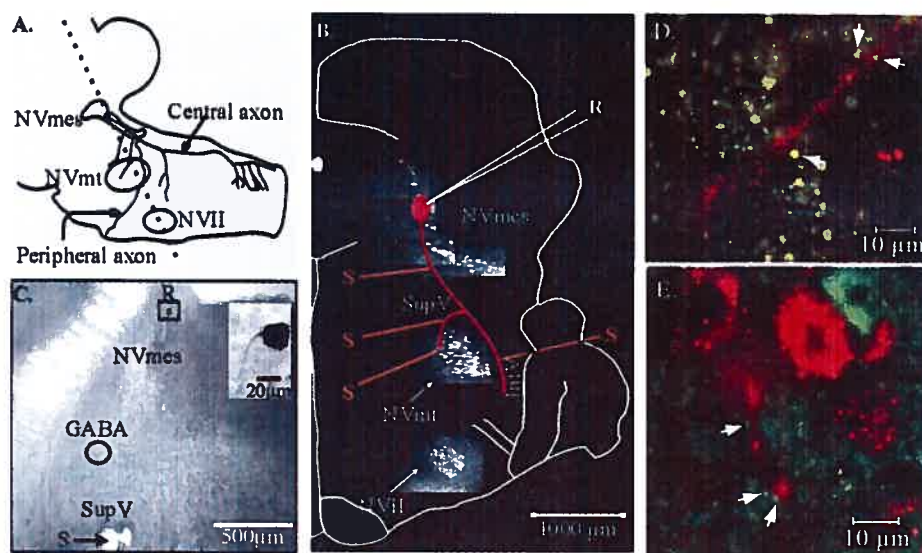


Figure 3

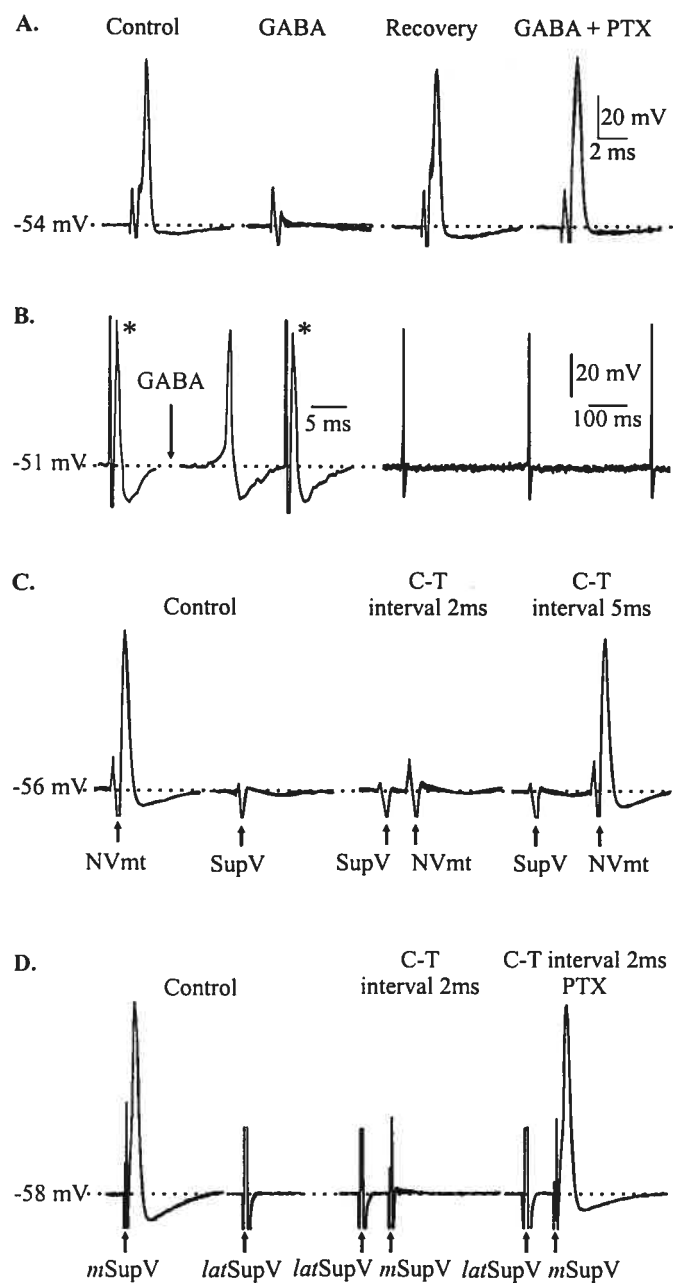
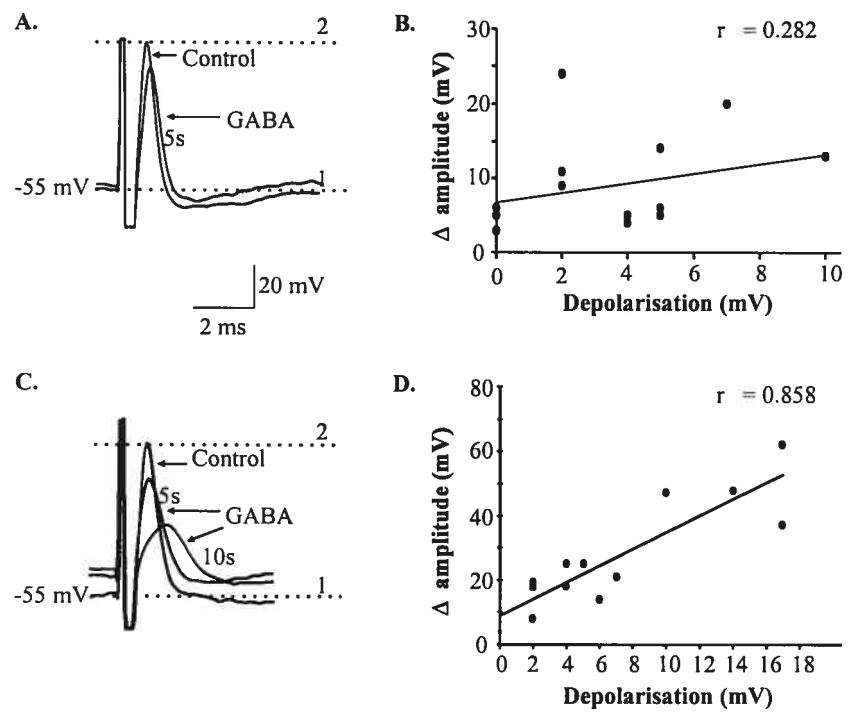


Figure 4



REFERENCES

1. Aghajanian GK, Rasmussen K (1989) Intracellular studies in the facial nucleus illustrating a simple new method for obtaining viable motoneurons in adult rat brain slices. *Synapse* **3**: 331-338.
2. Bae YC et al. (1996) Electron microscopic observation of synaptic connections of jaw- muscle spindle and periodontal afferent terminals in the trigeminal motor and supratrigeminal nuclei in the cat. *J Comp Neurol* **374**: 421-435.
3. Bevendut M, Clarac F, Cattaert D (1997) Antidromic modulation of a proprioceptor sensory discharge in crayfish. *J Neurophysiol* **78**: 1180-1183.
4. Bourque M-J, Kolta A (2001) Properties and interconnections of trigeminal interneurons of the lateral pontine reticular formation in the rat. *J Neurophysiol* **86**: 2583-2596.
5. Cattaert D, el Manira A (1999) Shunting versus inactivation: analysis of presynaptic inhibitory mechanisms in primary afferents of the crayfish. *J Neurosci* **19**: 6079-6089.
6. Cattaert D, el Manira A, Clarac F (1992) Direct evidence for presynaptic inhibitory mechanisms in crayfish sensory afferents. *J Neurophysiol* **67**: 610-624.
7. Cattaert D, Libersat F, el Manira A (2001) Presynaptic inhibition and antidromic spikes in primary afferents of the crayfish: a computational and experimental analysis. *J Neurosci* **21**: 1007-1021.
8. Cattaert D, el Manira A, Clarac F (1994) Chloride conductance produces both presynaptic inhibition and antidromic spikes in primary afferents. *Brain Res* **666**: 109-112.

9. Dessem D, Taylor A (1989) Morphology of jaw-muscle spindle afferents in the rat. *J Comp Neurol* **282**: 389-403.
10. Donga R, Lund JP (1991) Discharge patterns of trigeminal commissural last-order interneurons during fictive mastication in the rabbit. *J Neurophysiol* **66**: 1564-1578.
11. Dubuc R, Cabelguen J-M, Rossignol S (1985) Rhythmic antidromic discharges of single primary afferents recorded in cut dorsal root filaments during locomotion in the cat. *Brain Res* **359**: 375-378.
12. Eguibar JR, Quevedo J, Jiménez I, Rudomin P (1994) Selective cortical control of information flow through different intraspinal collaterals of the same muscle afferent fiber. *Brain Res* **643**: 328-333.
13. Eguibar JR, Quevedo J, Rudomin P (1997) Selective cortical and segmental control of primary afferent depolarisation of single muscle afferents in the cat spinal cord. *Exp. Brain Res* **113**: 411-430.
14. Gossard JP (1996) Control of transmission in muscle group 1A afferents during fictive locomotion in the cat. *J Neurophysiol* **76**: 4104-4112.
15. Gossard JP, Bouyer L, Rossignol S (1999) The effects of antidromic discharges on orthodromic firing of primary afferents in the cat. *Brain Res* **825**: 132-145.
16. Gossard JP, Cabelguen J-M, Rossignol S (1991) An intracellular study of muscle primary afferents during fictive locomotion in the cat. *J Neurophysiol* **65**: 914-926.
17. Graham B, Redman S (1994) A simulation of action potentials in synaptic boutons during presynaptic inhibition. *J Neurophysiol* **71**: 538-549.
18. Henneman E, Luscher HR, Mathis J (1984) Simultaneously active and inactive synapses of single Ia fibres on cat spinal motoneurons. *J Physiol* **352**: 147-161.

19. Inoue T, Masuda Y, Nagashima T, Yoshikawa K, and Morimoto T (1992) Properties of rhythmically active reticular neurons around the trigeminal motor nucleus during fictive mastication in the rat. *Neurosci Res* **14**: 275-294.
20. Kolta A, Lund JP, Westberg KG, Clavelou P (1995) Do muscle spindle afferents act like interneurons during mastication? *TINS* **18**: 441.
21. Kolta A, Westberg KG, Lund JP (2000) Identification of brainstem interneurons projecting to the trigeminal motor nucleus and adjacent structures in the rabbit. *J Chem Neuroanat* **19**: 175-195.
22. Lamotte dB, Meunier C, Monnet ML, Jami L, Zytnicki D (1998) Reduction of presynaptic action potentials by PAD: model and experimental study. *J Comput Neurosci* **5**: 141-156.
23. Li YQ, Takada M, Kaneko T, Mizuno N (1996) Gabaergic and glycinergic neurons projecting to the trigeminal motor nucleus: a double labeling study in the rat. *J Comp Neurol* **373**: 498-510.
24. Lazarov N E (2002) Comparative analysis of the chemical neuroanatomy of the mammalian trigeminal ganglion and mesencephalic trigeminal nucleus. *Prog Neurobiol* **66**: 19-59.
25. Lomeli J, Castillo L, Linares P, Rudomin P (2000) Effects of PAD on conduction of action potentials within segmental and ascending branches of single muscle afferents in the cat spinal cord. *Exp Brain Res* **135**: 204-214.
26. Lomeli J, Quevedo J, Linares P, Rudomin P (1998) Local control of information flow in segmental and ascending collaterals of single afferents. *Nature* **395**: 600-604.

27. Luo P, Li J (1991) Monosynaptic connections between neurons of trigeminal mesencephalic nucleus and jaw-closing motoneurons in the rat: an intracellular horseradish peroxidase labeling study. *Brain Res* **559**: 267-275.
28. Pinault D (1995) Backpropagation of action potentials generated at ectopic axonal loci: hypothesis that axon terminals integrate local environmental signals *Brain Res Rev* **21**: 42-92.
29. Segev I (1990) Computer study of presynaptic inhibition controlling the spread of action potentials into axonal terminals. *J Neurophysiol* **63**: 987-998.
30. Turman JE Jr, Chandler SH (1994) Immunohistochemical evidence for GABA and glycine-containing trigeminal premotoneurons in the guinea pig. *Synapse* **18**: 7-20.
31. Wall PD (1994) Control of impulse conduction in long range branches of afferents by increases and decreases of primary afferent depolarisation in the rat. *Eur J Neurosci* **6**: 1136-1142.
32. Wall PD (1995) Do nerve impulses penetrate terminal arborizations? A pre-synaptic control mechanism. *TINS* **18**: 99-103.
33. Wall PD, Bennett DLH (1994) Postsynaptic effects of long-range afferents in distant segments caudal to their entry point in rat spinal cord under the influence of picrotoxin or strychnine. *J Neurophysiol* **72**: 2703-2713.
34. Wall PD, McMahon SB (1994) Long range afferents in rat spinal cord. III. Failure of impulse transmission in axons and relief of the failure after rhizotomy of dorsal roots. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London - Series B: Biological Sciences* **343**: 211-223.

35. Westberg KG, Kolta A, Clavelou P, Sandstrom G, Lund JP (2000) Evidence for functional compartmentalization of trigeminal muscle spindle afferents during fictive mastication in the rabbit. *Eur J Neurosci* **12**: 1145-1154.

Troisième Chapitre : deuxième publication

**Synaptic Inputs to Trigeminal Primary Afferent
Neurons Cause Firing and Modulate Intrinsic
Oscillatory Activity**

The Journal of Neurophysiology 92:2444-55.

Synaptic Inputs to Trigeminal Primary Afferent Neurons Cause Firing and Modulate Intrinsic Oscillatory Activity

DORLY VERDIER¹, JAMES P. LUND^{1,3} AND ARLETTE KOLTA^{1,2,3}

¹Centre de recherche en sciences neurologiques, Université de Montréal,
Montréal, Québec H3C 3J7, CANADA.

²Faculté de Médecine dentaire, Université de Montréal, Montréal, Québec H3C 3J7,
CANADA.

³Faculty of Dentistry, McGill University, Montréal, Québec H3A 2B2, CANADA.

Abbreviated Title: Synaptic inputs to primary sensory neurons.

| | |
|-------------------------------|-------|
| # of text pages: | 42 |
| # of figures: | 8 |
| # of tables: | 1 |
| # of words in abstract: | 212 |
| # of words in introduction: | 522 |
| # of words in discussion: | 2 195 |
| # of words in text as a whole | 9 133 |

Correspondence:

Dr. Arlette Kolta,
Université de Montréal,
Pavillon Paul Desmarais,
C.P. 6128, Succursale Centre Ville,
Montréal,
Québec H3C 3J7,
CANADA.

Tel: (514)-343-7112

Fax: (514)-343-2111



ABSTRACT

In this paper, we investigated the influence of synapses on the cell bodies of trigeminal muscle spindle afferents that lie in the trigeminal mesencephalic nucleus (NVmes), using intracellular recordings in brainstem slices of young rats. Three types of synaptic responses could be evoked by electrical stimulation of the adjacent supratrigeminal, motor and main sensory nuclei and the intertrigeminal area: monophasic depolarizing postsynaptic potentials (PSPs), biphasic PSPs, and all or none action potentials without underlying EPSPs. Many PSPs and spikes were abolished by bath-application of DNQX alone or combined with APV suggesting that they are mediated by non-NMDA and NMDA glutamatergic receptors, while some action potentials were sensitive to bicuculline indicating involvement of GABA_A receptors. A number of cells showed spontaneous membrane potential oscillations, and stimulation of synaptic inputs increased the amplitude of the oscillations for several cycles, which often triggered repetitive firing. Furthermore, the oscillatory rhythm was reset by the stimulation. Our results show that synaptic inputs to muscle primary afferent neurons in NVmes from neighboring areas are mainly excitatory, and that they cause firing. In addition, the inputs synchronize intrinsic oscillations, which may lead to sustained, synchronous firing in a subpopulation of afferents. This may be of importance during rapid biting and during the mastication of very hard or tough foods.

INTRODUCTION

It is now well established that the cell bodies of primary afferent neurons located within the dorsal root and trigeminal ganglia (DRG and TG) express receptors for a variety of neurotransmitters and neuroactive substances (Kilpatrick et al. 1989; Huettnner 1990; Sahara et al. 1997), and that a number of putative neurotransmitters applied *in vitro* cause changes in membrane properties (Gallagher et al. 1978; Cook et al. 1997; Takeda et al. 2002). Although these data suggest that incoming sensory information could be modulated by the local release of transmitters, it is known that there are very few synapses within the ganglia (Yamamoto and Kondo 1989), and that the cell bodies of DRG neurons are insulated from the extracellular environment by satellite cells (Lieberman 1976).

Modulation of sensory transmission by synaptic inputs to primary afferent somata is more likely to occur in a particular subset of primary afferent neurons that have their cell bodies within the CNS, in the trigeminal mesencephalic nucleus (NVmes). These neurons are contacted by axo-somatic synaptic boutons (Liem et al. 1991; Liem et al. 1992; Zhang et al. 1997) that contain a variety of putative neurotransmitters (see Lazarov 2002 for review). They are depolarized by exogenous application of GABA, ATP, glutamate and nitric oxide (Hayar et al. 1997; Khakh et al. 1997; Pelkey and Marshall 1998; Pose et al. 2003 and Verdier et al. 2003). Like DRG and TG neurons, adult NVmes neurons have no dendrites in most species. Their single axon gives rise to a peripheral branch that innervates either the spindles of jaw closing muscles (Alvarado-Mallart et al. 1975; Capra et al. 1985; Shigenaga et al. 1988a), or

pressoreceptors of the periodontal ligaments (Jerge 1963; Byers et al. 1986; Shigenaga et al. 1988c), and to a central branch that descends to the upper cervical cord (Shigenaga et al. 1988b). NVmes receives inputs from several structures in the forebrain, midbrain (Krettek and Price 1978; Nagy et al. 1986; Copray et al. 1990), and lower brainstem (Rokx et al. 1988; Ter Horst et al. 1991; Bae et al. 1997; Buisseret-Delmas et al. 1997).

Like DRG cells (Amir et al. 1999), NVmes neurons are endowed with a set of conductances which produce high-frequency subthreshold membrane oscillations and repetitive discharge at slightly depolarized potentials (Pedroarena et al. 1999; Wu et al. 2001) and it has been shown that application of the ionotropic glutamate receptor agonists AMPA, kainate and NMDA can elicit subthreshold oscillations and trigger action potentials in NVmes neurons (Pelkey and Marshall 1998). Some NVmes neurons are electrically coupled to one or two neighbours (Hinrichsen 1970; Baker and Llinas 1971), and this could help to spread and synchronize repetitive firing. It was suggested many years ago that synapses may control the degree of coupling, because they are often found next to gap junctions (Bennett 1972).

We have previously described the effect of stimulation of local interneurons on action potential propagation along the central axons of NVmes neurons (Verdier et al. 2003). In this paper, we will describe the effects of synaptic inputs on the electrical properties of the soma, including their ability to trigger action potentials and modulate intrinsic oscillatory behavior.

METHODS

Preparation of slices

Crystals of the carbocyanine dye 1,1'-dioctadecyl-3,3,3',3'-tetramethylindocarbocyanine perchlorate DiI (DiI_{C18} (3)) (Molecular Probes, Eugene, OR) were injected into the masseter muscles of Sprague Dawley rat pups (1-2 days old) (Charles River, Montreal, Quebec, Canada) under hypothermic anaesthesia, and allowed to diffuse for 9-20 days. Then, the animals were anesthetized by methoxyflurane (Metofane, Janssen Pharmaceuticals, North York, Ontario, Canada) or isoflurane USP (Abbott Laboratories, Saint-Laurent, Quebec, Canada) inhalation, decapitated and the brainstem was removed. It was put into an ice-cold sucrose artificial cerebro-spinal fluid (aCSF, composition in mM; 225 sucrose, 5 KCl, 1.25 KH₂PO₄, 4 MgSO₄, 0.2 CaCl₂, 20 NaHCO₃, and 10 D-glucose and saturated with 95%:5% O₂:CO₂), embedded in agar (Aghajanian and Rasmussen 1989) and cut into 400µm transverse slices using a Vibratome (Electron Microscopy Study). The slices were transferred to an interface-type chamber saturated with a humidified mixture of 95% O₂ and 5% CO₂. They were perfused for 20 min with sucrose-aCSF, then for 20 min with a mixture (50%-50%) of sucrose- aCSF and normal aCSF (in mM: 125 NaCl, 5 KCl, 1.25 KH₂PO₄, 1.3 MgSO₄, 2.4 CaCl₂, 26 NaHCO₃, and 25 D-glucose and saturated with 95%:5% O₂:CO₂) and finally, with normal aCSF alone, at a rate of 1 ml/min, at 29-31°C. In some experiments, the CaCl₂ was removed from the normal aCSF and the MgSO₄ was increased to 3.8 mM. All procedures for dye injections and slice preparation conformed with national ethics committee guidelines and were approved by an institutional ethics committee.

Electrophysiology

The slices were viewed at low magnification (50X) under an epifluorescence microscope (Nikon, Tokyo, Japan), and the pool of DiI-labeled cell bodies of masseteric spindle afferents in NVmes was targeted for recording with glass microelectrodes (80-200M Ω) filled with neurobiotine 2% dissolved in potassium acetate (1M and 3M). Data were recorded through a bridge circuit with an Axoclamp 2B amplifier (Axon Instruments, Foster City, CA) or a BVC-700 amplifier (Cornerstone by Dagan), and sampled at 20 KHz. Data were stored on disk and analyzed using pClamp 6-8 software (Axon Instruments). Synaptic responses and antidromic action potentials were evoked by electrically stimulating regions of the slices through bipolar electrodes made of twisted insulated (except at the tip) nichrome wire (diameter of the wire: 25 μ m). The intensity (0.01-7 mA) and duration (0.05-0.3ms) of stimulus were varied to obtain optimal effects. We defined the action potentials as "antidromic" because the stimulating electrode was placed in regions through which traveled the central axon, or branches of the central axon and stem axon. However, it is possible that some of the action potentials were generated by stimulation of the stem or peripheral axon.

Drug application

6,7-dinitroquinoxaline (DNQX, 10 μ M; RBI), D,L-2-amino-5-phosphonovaleric acid (APV, 75 μ M; Sigma), picrotoxine (PTX, 50 μ M), and bicuculline methiodide (BIC, 10 μ M; Sigma) were bath-applied using a syringe pump to block amino-3-hydroxy-5-

methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA)/kainate, N-methyl-D-aspartate (NMDA) and GABA_A receptor-mediated currents respectively.

Labeling

Depolarizing current pulses (1.0-1.5nA, 1Hz, 500 ms duration) were passed through the recording electrode for 20-30min to eject neurobiotine into some of the NVmes neurons. At the end of the experiment, the slices were fixed in 4% paraformaldehyde in 0.1 M phosphate buffer (PB). They were then treated with 0.5% H₂O₂ for 1 h, washed 3 times (10 min) in PB, incubated overnight in an avidin-biotin complex (ABC kit; Vector Laboratories), and reacted with 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB; 0.05%) and H₂O₂ (0.03%) in PB buffer. After dehydration, they were mounted with Entelan and examined under a light microscope.

Analysis

Only data from neurons with resting membrane potential (RMP) equivalent or more negative than -50 mV, and which had overshooting action potentials were analyzed. The input resistance of NVmes cells was measured with square current step injections (0.2nA, 500-650ms). Response onset latencies, rise and decay times were measured. Action potential height was measured from RMP and their latency was measured from the beginning of the stimulus artifact to the spike onset. The amplitude of the afterhyperpolarization (AHP) was measured from RMP, and its duration was measured from the point at which the spike downstroke crossed the spike threshold to the return to RMP. Synaptic response latencies were measured on individual traces from

the beginning of the stimulus artifact to the foot of the rising phase of the postsynaptic potential (PSP). The amplitude of the subthreshold PSPs was measured from the baseline to the peak of the average of all responses. In oscillating neurons, positive and negative peaks of membrane potential oscillations and of action potentials were detected automatically by custom-made software, and instantaneous frequencies were calculated. Stimulus triggered averaging was carried out on data from several trials. Quantitative variables were expressed as mean \pm standard error (mean \pm SE). Differences between means were compared with Student's t-test (SigmaStat software; SPSS, Chicago, IL) and were considered to be significant if the probability of α type error was < 0.05 .

RESULTS

Anatomy

Two hundred and seventy-eight neurons recorded from NVmes fulfilled the inclusion criteria (RMP more negative than -50mV , overshooting action potentials). Eighty-one were successfully filled with neurobiotine, and all had the typical unipolar morphology of primary sensory neurons with only one process emerging from a round or ovoid cell body (fig 1A). Twelve were seen to be coupled to another cell following a single injection of neurobiotine: Six to another unipolar neuron (fig 1B), while six others appeared to contact a multipolar neuron with extensive dendritic arbors. The junction between the NVmes neuron and the multipolar neuron was somato-somatic in three cases (fig 1C), and somato-dendritic in the three remaining cases (fig 1D).

Electrophysiological properties

The neurons had a RMP of $-56 \pm 0.2 \text{ mV}$ and an input resistance of $28 \pm 1.0 \text{ M}\Omega$. Firing threshold was $-46 \pm 0.4 \text{ mV}$ and action potentials had an amplitude of $71\text{mV} \pm 1.0\text{mV}$ with a half width (HW) of $0.54 \pm 0.01\text{ms}$. The spike was followed by a pronounced but short-lasting AHP ($9.5 \pm 0.2 \text{ mV}$, $6.3 \pm 0.4 \text{ ms}$). Almost all the recorded cells (99%) showed an off-spike at the end of hyperpolarizing pulses (fig 2A), while 95% of them exhibited a prominent sag with strong hyperpolarization (fig 2B, arrow). Accommodation of firing during depolarizing pulses, as illustrated in figure 2B, occurred in 64% of the cells, half of them discharging only 1 to 3 action potentials even with long-duration pulses (100-600ms). The I-V curve shown in figure 2C is typical of

the majority (64%) of NVmes neurons and reveals an inward rectification during hyperpolarization and an outward rectification during depolarization. Ninety-nine neurons (37%) showed subthreshold membrane oscillations spontaneously (fig 2D) or during injection of a small depolarizing current. The mean frequency of this oscillatory activity was 104 ± 4 Hz (ranging from 53 to 150Hz) and peak to peak amplitude was 3.0 ± 0.2 mV. The oscillatory activity led to spontaneous discharge in 11 cells (11%, illustrated in figure 2D), and about 70% of the oscillating cells could be made to fire repetitively by membrane depolarization (fig 2E, top trace). The amplitude of the oscillations increased with depolarization until strong repetitive firing was elicited (fig 2E, two top traces). However, the frequency did not change markedly with the level of depolarization. Membrane hyperpolarization suppressed the oscillations in all cells (figure 2E, bottom trace).

All the electrophysiological properties mentioned above were found in 20 cells recorded in a calcium-free medium to prevent synaptic transmission. The electrophysiological properties of the cells that were coupled, whether to another afferent or to a multipolar neuron, were not different from those of the uncoupled neurons. The coupled cells had an input resistance of 27 ± 2 M Ω , a short-duration action potential (HW: 0.56 ± 0.03 ms), an off spike after hyperpolarization, inward rectification during membrane hyperpolarization, and accommodation of firing with depolarizing pulses. Membrane potential oscillations and burst firing with depolarization were observed in four cases.

Responses to stimulation

A total of 421 sites were stimulated within four areas adjacent to NVmes while recording from the 278 neurons. The four stimulated regions were the supratrigeminal area (SupV), intertrigeminal area (IntV), motor trigeminal nucleus (NVmt) and the dorsal and medial part of the principal trigeminal sensory nucleus (NVsnpr). The recording (R) and stimulating (S) positions are indicated on the schematic drawing of the slice in figure 3A.

Action potentials caused by direct stimulation of the axon

Very short-latency (0.7 ± 0.02 ms, ranging from 0.4 to 1.1 ms) action potentials as the one illustrated in figure 3B were evoked from all sites and were the most common response ($n=134$, see table 1). The amplitude and duration (69 ± 1 mV; HW: 0.51 ± 0.01 ms respectively) of these spikes and of the AHP that followed them (9.3 ± 0.3 mV, 7.3 ± 0.4 ms) were similar to those of spikes occurring spontaneously or evoked by injection of depolarizing current, and all could follow high frequency stimulation (100-250Hz). Most (69%) disappeared with strong membrane hyperpolarization, but no underlying EPSPs were uncovered (figure 3B, bottom trace). Because of these characteristics, we assumed that these short-latency action potentials were evoked by direct stimulation of the axon of the investigated neuron. This was confirmed in 20 cases that were studied in calcium-free medium. The figure 3C shows an example of an antidromic action potential at RMP (left top trace) recorded under these conditions. The characteristics of these 20 antidromic spikes were similar to those described above (amplitude: 74 ± 2 mV; HW: 0.52 ± 0.03 ms; AHP amplitude: 9.0 ± 0.8 mV; AHP

duration: 6.4 ± 0.5 ms). Their onset latency (0.6 ± 0.03 ms) ranged from 0.4 to 0.9 ms and all could follow high frequency (150 to 250Hz) stimulation without alteration (fig 3C, right trace). The action potential remained upon strong membrane hyperpolarization in 9 cells and disappeared in the remaining cells (fig 3C, left bottom trace). However, some short-latency action potentials appeared to be synaptically mediated because they were blocked by bath application of antagonists of AMPA/kainate or GABA_A receptors (see below). On the basis of the observation that all antidromic spikes evoked in calcium-free aCSF occurred within 1.0ms from stimulation, we chose to regard short-latency action potentials recorded in calcium-containing aCSF as being mediated synaptically only if they had a latency greater than 1.5ms and/or were blocked by receptor antagonists (n=14). None of the others will be discussed further in this paper.

Synaptic responses

Eighty-eight postsynaptic responses were recorded from 76 cells. Thirty-five out of the 76 neurons with synaptic responses were successfully filled with neurobiotin. These neurons were distributed over the rostrocaudal and dorsoventral extent of NVmes, except in the long anterior column of NVmes which was not investigated. Eight were coupled to other neurons; four to primary afferents and four to multipolar neurons. We separated the responses into four groups: monophasic depolarizing post-synaptic potentials (PSPs), all or none synaptic action potentials, biphasic PSPs and enhancement of oscillations. Table 1 summarizes the distribution of the responses according to stimulus site.

Monophasic PSPs

Twenty-eight monophasic depolarizing PSPs were obtained from the four sites (table 1). However, in half of these (n=14) it was necessary to hyperpolarize the cell to about -76mV in order to detect the PSP. In the example shown in figure 4A, a stimulus of $400\ \mu\text{A}$ produced no response at RMP, but a slight increase in stimulus intensity ($410\ \mu\text{A}$) elicited an action potential. Membrane hyperpolarization disclosed a subthreshold PSP (bottom trace), while depolarization led to repetitive post-stimulus action potentials (top trace). The subthreshold PSPs occurred at a very short latency ($0.9 \pm 0.1\ \text{ms}$), had a short duration ($8.3 \pm 0.9\ \text{ms}$) and rapid rise and decay times ($0.6 \pm 0.1\ \text{ms}$, $5.1 \pm 0.7\ \text{ms}$ respectively). The spikes recorded at RMP followed high frequency stimulation (sometimes up to $250\ \text{Hz}$), but in each case, subthreshold responses could be distinguished. In three cases, bath application of DNQX (n=3) (figure 4B) eliminated the spikes and the subthreshold PSPs without changing the membrane potential. The synaptic nature of these responses is also supported by the finding that six cells showing this type of response were filled with neurobiotine, and all were seen to be single uncoupled unipolar neurons.

Another type of monophasic depolarizing PSP with an average amplitude of $2.4 \pm 0.4\ \text{mV}$ were obtained at RMP in 14 cells. These occurred at a considerably longer latency ($5.9\ \text{ms} \pm 0.5\ \text{ms}$) and had slower kinetics ($51 \pm 10\ \text{ms}$ duration; $5.6 \pm 1.1\ \text{ms}$ risetime; and $32 \pm 7\ \text{ms}$ decay time) than the preceding type of PSP. These differences in latency and duration were statistically significant ($p < 0.05$). Voltage dependency was assessed by hyperpolarizing and depolarizing the cell with current injection 40 to $80\ \text{ms}$ prior to electrical stimulation. Hyperpolarization increased PSP amplitude in all cases

(5A and 5B bottom traces), while the PSP triggered an action potential in eight of these cells when they were depolarized (fig 5A, left top trace). In the remaining cases ($n=6$), depolarizing the cells up to -45 mV eliminated the PSP (fig 5B, top trace), but the response did not reverse with greater depolarization (of 5mV or more). Five of the long-latency monophasic PSPs were tested with high frequency stimulation and only one could follow 100Hz; the others failed at 60Hz or less. Bath application of DNQX alone eliminated the depolarizing PSP in two cells (fig 5C), and decreased it in three other cases (fig 5D, second trace). The addition of APV eliminated the remaining component in two of these (fig 5D, bottom trace). Seven cells with this kind of response were filled with neurobiotine: four were single unipolar neurons, three others were coupled to a multipolar neuron.

Synaptic action potentials

Responses recorded from fifteen neurons following electrical stimulation of the four nuclei were classified as synaptic action potentials (table 1) rather than antidromic responses because of their latency (>1.5 ms) and suppression by antagonists of synaptic transmitters. Like the example in figure 4A, these action potentials appeared fully formed at RMP as stimuli intensity was increased (fig 6A, left top traces) but unlike 4A, no PSP could be disclosed by hyperpolarization (fig 6A, right traces). Their mean onset latency was 3.2 ± 0.5 ms, ranging from 1.0 to 6.6 ms. This is significantly longer than that of the antidromic potentials (0.6 ± 0.03 ms, $p<0.001$). Their amplitude and duration were 69 ± 3 mV and 0.66 ± 0.06 ms respectively. AHP amplitude and duration were 10 ± 1 mV and 6.1 ± 0.7 ms respectively. Membrane hyperpolarization eliminated the synaptic spike in seven cells (fig 6A, right bottom trace), but had no effect in the

remaining eight cases. Three synaptic action potentials evoked by stimulation of SupV were blocked by bath-application of DNQX (fig 6B), and two others were blocked by BIC (fig 6C). The three blocked by DNQX were impaired by membrane hyperpolarization while the ones blocked by BIC were not. Three of the pharmacologically tested spikes had a short onset latency (1.0 to 1.2 ms) and could follow high frequency stimulation (up 200Hz). The latency of the remaining spikes (n=12) ranged from 1.5 to 6.6 ms (4.6 ± 0.6 ms) and they could follow repetitive stimulation up to frequencies of between 50 and 130Hz like the unit shown in fig 6A, (right bottom trace). Six cells with an all or none synaptic action potentials were filled with neurobiotine: four were single unipolar neurons and two were coupled to another unipolar neuron.

Biphasic PSPs

Biphasic PSPs were evoked by stimulation of SupV, IntV and NVsnpr. Six of them consisted of a depolarizing potential that decayed in two phases as illustrated in figure 7A (middle trace). The latency was 4.6 ± 0.5 ms, amplitude 3.2 ± 0.6 mV and rise time 3.6 ± 1.1 ms. At hyperpolarized potentials, the responses became monophasic and amplitude and duration increased (fig 7A, bottom trace), while an action potential was triggered in the depolarized state (fig 7A, top trace). The two neurons filled with neurobiotine were non-coupled unipolar cells.

Sustained depolarization was characteristic of this type of biphasic response, and after several stimuli (50-125Hz), the cell remained depolarized up to 150 ms. In the example shown in figure 7B, four stimuli at 50Hz (top trace) caused prolonged

depolarization, while stimulation at 80 Hz elicited an action potential during the post-stimulus depolarization (fig 7B, bottom trace).

The remaining biphasic responses (n=22) began with a positive component followed by a negative one (fig 7C, middle trace). The amplitude of the positive peak ranged from 1.3 to 6.7 mV (4.3 ± 0.3 mV) with a rise time of 1.27 ± 0.35 ms. The negative peak was of lower amplitude (1.4 ± 0.2 mV). Most (n=14) began at an extremely short onset latency (1.0 ± 0.1 ms; ranging from 0.6 to 1.4 ms), but some (n=7) occurred at a much longer onset latency (7.8 ± 1.6 ms ranging from 4.3 to 16.4 ms). Hyperpolarization abolished both components of the response in 11 of 16 cases tested, and only the negative component in five cases (fig 7C, bottom trace). At depolarized potentials, stimulation elicited an action potential in most cells (fig 7C, top trace). Eleven neurons with these biphasic PSPs were filled with neurobiotine: eight were single unipolar neurons, two were coupled to a unipolar neuron and one to a multipolar cell.

Effects on oscillatory activity

Electrical stimulation of SupV triggered oscillatory activity in one neuron. In 16 additional neurons, electrical stimulation of SupV (n=14) or the adjacent regions of NVsnpr (n=1) and NVmt (n=1) modified existing oscillations. Stimulation of inputs to these neurons during periods of quiescence evoked a few (fig 8A) or several (fig 8A₁) oscillatory cycles. When stimulation occurred during spontaneous oscillations (Fig 8B), it increased the amplitude of both the positive and negative component of the waveform (peak to peak amplitude : 5.1 ± 0.4 mV vs spontaneous 2.7 ± 0.2 mV, paired t-test $P <$

0.05, $n=16$) (Fig 8B) without changing the mean membrane potential. However, there was no difference in the frequency of the oscillations before and after stimulation (94 ± 5 Hz vs spontaneous 95 ± 6 Hz, paired t-test, $P=0.2$, $n=16$).

When the neurons were hyperpolarized, the spontaneous and evoked oscillations disappeared, and stimulation caused simple depolarizing PSPs (fig 8C, bottom trace) in eight of 12 tested cells. When the neurons were depolarized, stimulation triggered repetitive firing in all cells (fig 8C, top trace). The PSPs revealed by hyperpolarization occurred at a latency of 5.6 ± 0.7 ms.

Stimulation reset the spontaneous rhythm. In figure 8D, the stimulus coincided with the hyperpolarizing phase of the oscillation in trace 1, and the peak of depolarization in trace 2 (dotted lines 1 and 2). Nevertheless, the positive peak of the first post-stimulus cycle occurred at the same latency in the two trials, and the two rhythms remained in synchrony for the next few cycles (dotted lines 3 and 4). However, synchronicity was lost with time (dotted lines 5 and 6). These observations were confirmed by averaging the responses around the time of stimulation (Fig 8D, bottom trace). Averaging eliminated spontaneous oscillations because these were not phase linked to the stimuli, while the first few post-stimulus cycles remained.

The enhancement of spontaneous oscillations by the synaptic inputs augmented the probability of discharge, so that stimulation at RMP elicited single spikes or doublets intermingled with the oscillations (fig 8E, top trace, inset) in 4 cells or train of 3 to 16 action potentials (fig 8E, bottom trace) in six cells, none of which discharged

spontaneously at rest. When trains of action potentials were evoked, the frequency of the action potentials was, in all cases, higher than the frequency of the underlying oscillations (143 ± 11 Hz vs 114 ± 7 Hz respectively, paired t-test, $P < 0.05$).

Bath application of DNQX suppressed the post-stimulus response from SupV ($n=2$) and NVmt ($n=1$) without affecting the spontaneous membrane oscillations (fig 8F). Eight of these cells were filled with neurobiotine, and all of them were found to be uncoupled unipolar neurons.

DISCUSSION

The results of the present study show that synaptic inputs to the somata of some muscle spindle primary afferent neurons of NVmes can elicit action potentials and increase the amplitude of intrinsic membrane oscillations. However, quantitative electromicroscopic analyses show that the somatic region of NVmes neurons receive few synaptic inputs (Hinrichsen and Larramendi 1970; Liem et al. 1991; Honma et al. 2001). In the rat, no more than 5 boutons per 100 μ m cell perimeter were found (Liem et al. 1991), and less than 8% of the boutons were in contact with the cell membrane (Liem et al. 1992). This probably explains why we obtained responses from only a quarter (27%) of the NVmes neurons that we sampled. Nevertheless, our data show that, when present, synaptic inputs have very strong effects, and this is due in large part to the distinctive properties of the target neurons.

Intrinsic properties

The recorded neurons had the distinctive electrophysiological properties already ascribed to NVmes: inward rectification upon membrane hyperpolarization (Khakh and Henderson 1998; Tanaka et al. 2003), accommodation of firing during depolarizing pulses (Del Negro and Chandler 1997), and subthreshold membrane oscillations (Pedroarena et al. 1999; Wu et al. 2001). These provide a recognizable signature for NVmes primary afferents, but in addition, we confirmed that all 81 neurons filled with neurobiotine had the typical unipolar morphology of primary afferents.

Coupling

Approximately 14% of our filled neurons were coupled to other neurons, half of which were also primary afferents. It has been known for decades that some NVmes neurons are closely coupled to one or two other primary afferents (Hinrichsen 1970; Hinrichsen and Larramendi 1970), and that gap junctions allow action potentials to pass from one neuron to another (Hinrichsen 1970; Baker and Llinas 1971). In this paper, we have provided the first evidence that a similar proportion are coupled to small multipolar neurons within NVmes, some of which have been shown to contain GABA (Lazarov and Chouchkov 1995).

Synaptic inputs

Stimulation of four cell groups at the caudal end of NVmes: SupV, IntV, NVmt and NVsnpr, evoked postsynaptic activity in the muscle spindle afferents. Inputs from SupV seem to be the most widespread or effective (29% response rate), followed by NVmt (18%), NVsnpr (17%) and IntV (8%).

Monophasic depolarizing potentials

We showed that many monophasic depolarizing PSPs could be blocked by bath-application of DNQX alone or in combination with APV, suggesting that both non-NMDA and NMDA receptors were being activated. NVmes neurons express kainate, AMPA, and NMDA receptors subunits (Petralia et al. 1994; Mineff et al. 1998; Turman et al. 1999), and Pelkey and Marshall (1998) have shown that glutamate depolarizes NVmes neurons *in vitro* via NMDA and non-NMDA receptors. It is possible that some

of these PSPs were generated by the recurrent axon collaterals of NVmes neurons described by Luo and Dessem (1996).

The lack of dendrites may account for very rapid rise and decay of some of these potentials, but the persistent sodium current (I_{NaP}) found in NVmes neurons (Wu et al. 2001) may also contribute to this. In NVmes neurons, I_{NaP} is activated around -69mV and reaches its peak around -40mV (Wu et al. 2001). It has been reported that I_{NaP} amplifies AMPA-mediated EPSPs in pyramidal cortical neurons (Gonzalez-Burgos and Barrionuevo 2001), which may explain why action potentials were easily triggered at RMP (Mean -57mV). It was necessary to hyperpolarize these neurons, which inactivates I_{NaP} channels, in order to see the underlying PSP.

A few depolarizing potentials were greatly impaired by membrane depolarization, suggesting that they depend on a current with an equilibrium potential positive to the RMP, but negative to the cationic currents mediating glutamatergic responses. They are likely mediated by GABA, which depolarizes primary afferent neurons of NVmes (Hayar et al. 1997; Verdier et al. 2003), TG and DRG (Gallagher et al. 1978; Puil and Spigelman 1988; Feltz and Rasminsky 1994; Valeyev et al 1999) through $GABA_A$ receptor activation. GABA depolarizes primary afferent neurons because their chloride reversal potential is above RMP. These neurons have a high intracellular concentration of Cl^- because they lack the Cl^- extruder KCC2 (Kanaka et al. 2001). Gallagher et al. (1978) showed that the reversal potential for iontophoretically induced GABA depolarization in cat spinal ganglia neurons was $-23.5 \pm 6.1 \text{ mV}$. In six of our tested neurons, the response disappeared at potentials ranging from -45mV to $-$

40mV, but we were unable to determine the reversal potential of these responses because the cells rectified and could not be depolarized above -40mV . Since these depolarizing potentials were modified by voltage changes imposed on the soma, they are likely to be caused by activation of the GABAergic synapses found on the cell body (Chen et al. 2001).

Biphasic potentials

It is probable that the small number of depolarizing PSPs that showed two phases of decay resulted from the summation of two excitatory inputs to the same cell. However, most of the biphasic responses included a hyperpolarizing phase, and up to now, all tested neurotransmitters depolarize these neurons, including GABA, and they have no receptors for glycine (Lazarov 2002). Glycine, however, would have been depolarizing since it also acts through chloride channels. It is possible that a positive-negative PSP sequence could be the result of electrotonic coupling, with the depolarizing phase mirroring a spike in the adjacent coupled cell, while the hyperpolarizing phase reflects the AHP (Gallaretta and Hestrin 1999). We did record positive-negative PSPs in three out of seven pairs of coupled neurons, but also recorded similar potentials from cells that appeared to be uncoupled. It seems more likely that the late hyperpolarization is caused by a yet unidentified transmitter or by activation of an intrinsic voltage-dependant hyperpolarizing current triggered by the depolarization.

The four areas from which PSPs were evoked contain mixed population of glutamatergic and GABAergic cells (Ginestal and Matute 1993; Turman and Chandler

1994; Li et al. 1996; Kolta et al. 2000). Stimulation of SupV caused short latency, perhaps monosynaptic PSPs, in NVmes, which is consistent with anatomical evidence of a direct projection (Rokx et al., 1986). Although there are direct pathways from NVsnpr to NVmes (Buisseret-Delmas et al. 1997), the onset latency suggests that most NVsnpr PSPs were at least disynaptic. The mean latency of IntV responses also suggests that the pathway is di- or poly-synaptic.

Most responses elicited from NVmt were monophasic depolarizing and biphasic PSPs. The PSPs had a short mean onset latency suggesting that most result from monosynaptic transmission. It is unlikely that they were caused by stimulation of trigeminal motoneurons, because these do not have axon collaterals (Shigenaga et al. 1988d). However, the nucleus contains glutamatergic, GABAergic and glycinergic interneuron subpopulations (Ginestal and Matute 1993; Kolta et al. 2000; Bourque and Kolta 2001).

Synaptic action potentials

Several (n=14) all or none action potentials that appear to be of synaptic origin were recorded. The absence of an underlying subthreshold PSP suggests that these spikes arise from inputs to the axon. We showed that some synaptic spikes could be blocked by bicuculline, suggesting that they rely on activation of GABA_A receptors, while others were abolished by DNQX indicating that they depend on the activation of non-NMDA receptors. The six that disappeared with membrane hyperpolarization were probably initiated in the initial segment of the axon, which is sometimes contacted by

synaptic boutons (Homna et al. 2001). Other “synaptic” spikes were not impaired by membrane hyperpolarization, suggesting that they are generated far from the soma. Activation of GABA synapses on terminals of sensory neurons has been shown to cause primary afferent depolarization (PAD), which if strong, can trigger action potentials which are conducted antidromically toward the soma and the periphery (Dubuc et al. 1985; Gossard et al. 1991; Cattaert et al. 1994). Most synaptic spikes were caused by SupV stimulation, and there are GABAergic terminals on many NVmes boutons found in this nucleus (Bae et al. 1997). Synaptic action potentials could also arise from synapses onto NVmes terminals in NVmt, where about 25% of them are contacted by presynaptic P-type boutons (Luo and Li 1991, Luo and Dessem 1999).

We recently showed that GABA has a direct action on the central axons of NVmes spindle afferents through GABA_A receptors, and that these receptors can be activated from SupV and the adjacent region of NVsnpr (Verdier et al. 2003). However, activation of these axonal receptors does not cause firing of NVmes afferents: instead it blocks the propagation of action potentials, perhaps through a local shunt (Verdier et al. 2003). Thus, it is very unlikely that this type of synapse is responsible for the BIC and DNQX sensitive action potentials. These action potentials may also be reflections of spikes produced in a coupled cell, but the fact that their kinetics are as rapid as those of “normal” spikes argues against this.

Effect of PSPs on intrinsic oscillations

Thirty-seven % of the recorded neurons showed spontaneous membrane potential oscillations, or could be made to oscillate by the injection of a small depolarizing current. The mean frequency was just under 110 Hz. Action potentials were generated on the positive peaks of the waves in about 12% of the neurons at RMP, and the majority of oscillating neurons could be made to fire repetitively by injecting current. These results confirm earlier findings in NVmes (Pedroarena et al. 1999; Wu et al. 2001), and are similar to those of Amir et al (1999) in the dorsal root ganglia. Amir et al. showed that about 35% of large DRG neurons (low threshold mechanoreceptors) recorded from young rats *in vitro* showed oscillations of 88-195 Hz when depolarized. Although few fired at RMP, injections of current induced firing that was sometimes repetitive. Oscillations in DRG and NVmes are both blocked by TTX (Amir et al. 1999; Pedroarena et al. 1999; Wu et al. 2001), and Wu et al (2001) believe that those seen in NVmes result from the interaction between intrinsic membrane properties, a 4-AP-sensitive non-inactivating K^+ current, and a persistent Na^+ current (I_{NaP}). Their independence from synaptic inputs is confirmed by our observation that they persist in presence of DNQX and the reports of Pedroarena et al. (1999) and Wu et al. (2001) that they persist in calcium-free medium.

We are the first to show that synaptic inputs modify the spontaneous oscillations, and that they are able to induce membrane oscillations in quiescent cells. The input resets the rhythm of spontaneous oscillations, and increases their amplitude for several cycles. Although a single shock can lead to a prolonged, high frequency burst of action

potentials, membrane hyperpolarization revealed that the underlying depolarizing PSP could be of very short duration. DNQX blocked the enhancement of oscillations caused by stimulation of SupV and NVmt, which is in accordance with the finding of Pelkey and Marshall (1998) that bath applications of ionotropic glutamate receptor agonists cause oscillations and firing in NVmes neurons.

Functional implications of synaptic inputs to NVmes neurons

Because the PSPs reset the ongoing membrane oscillations, they will tend to synchronize the depolarizing waves and associated action potentials in all oscillating cells that share the same input. This will reinforce the effects of electrotonic coupling, which also synchronizes the firing of bonded NVmes afferent neurons (Hinrichsen and Larramendi 1970; Baker and Llinàs 1971). Furthermore, the same multipolar neuron could be linked through gap junctions or chemical synapses to several NVmes cells, which could be a mechanism that synchronizes oscillations in distant groups of primary afferents.

It has been suggested that electrotonic coupling between primary afferents in NVmes of elasmobranchs has been retained during evolution because it amplifies an input from a subpopulation of receptors, and increased synchronous firing in the jaw closing motoneurons that they activate (Hinrichsen 1970). This would be an advantage to predators during hunting. Bennett (1972) suggested that synaptic inputs to these neurons could decouple them, thus reducing the strength of the jaw closing reflex. However, we have shown that synaptic inputs to NVmes appear to have the opposite

effect: they cause firing of the afferents and probably increase synchronicity. All four areas that produce PSPs in NVmes neurons receive monosynaptic inputs from them (Takata and Kawamura 1970; Miyakaki and Luschei 1987; Luschei 1987; Dessem and Taylor 1989; Luo et al. 1991). This mechanism could allow spindle afferent inputs to trigger synchronous bursts of firing in NVmes cell bodies under certain circumstances. The bursts may propagate throughout the central and peripheral axons and their branches, and in turn trigger bursts of activity in jaw closing motoneurons. Such a mechanism could maximize the speed and force of biting, during both attack and defense, but it may also be brought into play during the chewing of hard or tough foods.

However, many things need to be determined before we can assign any clear function to these processes. We have already shown that the axonal tree becomes compartmentalized during fictive mastication (Westberg et al, 2000), and that the propagation of action potentials along parts of the main axons can be blocked by GABAergic axo-axonic synapses controlled by neurons within SupV and NVsnpr (Verdier et al, 2003). The relationship between action potentials coming from the stem axon and intrinsic membrane oscillations, and the ultimate effects of somatically generated spikes on NVmes targets, must be investigated before functions can be assigned.

Acknowledgments: This work was supported by the Canadian Institutes for Health Research.

FIGURE LEGENDS

Figure 1: Photomicrographs of NVmes neurons filled with neurobiotine. **A.** Example of a single primary afferent. **B.** Example of two labeled primary afferents that were tightly apposed with a single process emerging from each of them (arrows). **C.** Primary afferent and a multipolar neuron coupled together through somatic contact. **D.** Primary afferent neuron coupled to the dendrite of a multipolar neuron (arrow). (n) in each panel indicates the number of cells showing similar types of labeling. The scale bar in B applies to all panels.

Figure 2: Electrophysiological properties of NVmes neurons: **A.** Example of a rebound action potential (off spike) elicited at the end of a small hyperpolarizing pulse. Inset displays the off-spike at higher magnification. **B.** Injection of strong hyperpolarizing pulses reveals an inward rectification (sag) while membrane depolarization triggers repetitive firing which rapidly accommodates. **C.** I-V relationship of the neuron shown in B. Note the inward rectification upon hyperpolarization revealed by the difference between the early negative peak (sag potential, open circles) and steady state membrane potential (filled circles). During depolarizing pulses an outward rectification prevents depolarization above -40mV. **D.** Example of a NVmes neuron showing spontaneous activity and membrane potential oscillations at resting membrane potential. **E.** In another cell, membrane oscillations at resting membrane potential are eliminated by hyperpolarization (bottom trace), while depolarization increases the amplitude of the

oscillations, and probability of action potentials (second trace). Further increases in the level of depolarization leads to repetitive burst discharges (top trace).

Figure 3: Short-latency action potentials: **A.** Photomicrographs of labeled nuclei are superposed on a slice diagram to show the recording (R) and stimulating (S) positions. The dye injected into the masseteric and facial muscles labels the NVmes, the NVmt, and the facial nucleus (NVII). **B.** Stimulation of SupV in normal aCSF elicited a short-latency action potential (top trace). Hyperpolarization does not reveal an underlying PSP (bottom traces). **C.** Example of an antidromic action potential elicited by stimulation of SupV in calcium-free aCSF. Hyperpolarization does not reveal an underlying PSP (bottom trace). This response follows high frequency stimulation (250Hz) (right trace).

Figure 4: Monophasic depolarizing potentials that are revealed by hyperpolarization. **A.** In this neuron, there was no response at RMP when SupV was stimulated at $400\mu\text{A}$, but an action potential was elicited by $410\mu\text{A}$. Hyperpolarization revealed a monophasic depolarizing PSP of very short duration (bottom), while depolarization led to repetitive firing (top). **B.** In another neuron, stimulation of SupV triggered an action potential at RMP (left panel, top trace) and a subthreshold depolarizing PSP at hyperpolarized potential (left panel, bottom trace). Both were blocked by bath application of DNQX ($10\mu\text{M}$) (middle panel).

Figure 5: Monophasic depolarizing potentials with slower kinetics. **A.** Stimulation of SupV produced a monophasic depolarizing potential at resting membrane potential

(RMP) that increased in amplitude with hyperpolarization (bottom). During applied depolarization, the neuron fired (top). **B.** In a second neuron, the amplitude of a PSP caused by stimulation of NVsnpr increased with hyperpolarization (bottom), but disappeared with depolarization (top). Calibration bars in A apply to B. **C.** In this other NVmes neuron, the monophasic depolarizing PSP elicited by stimulation of IntV at RMP (top trace) was blocked by bath-application of DNQX (middle trace). **D.** An other example showing a monophasic depolarizing PSP evoked by stimulation of SupV (top trace) that decreased in amplitude with bath-application of DNQX (10 μ M) (middle trace). Further addition of AP5 (75 μ M) to the bath suppressed the PSP (bottom trace).

Figure 6: All or none synaptic action potentials. **A.** Synaptic action potential elicited by stimulation of IntV (top trace). With sublaminal stimulation, no subthreshold PSP could be observed (arrow, middle left trace). This action potential follows high frequency stimulation (130 Hz, bottom trace). Membrane hyperpolarization does not reveal a subthreshold response (arrow, bottom right trace). **B.** Action potential evoked by stimulation of SupV, in another cell, was abolished by DNQX (10 μ M). **C.** In a third cell, an action potential evoked by stimulation of SupV was abolished by BIC (10 μ M).

Figure 7: Characterization of biphasic PSPs. **A.** IntV elicited a depolarizing PSP with two decay phases (RMP). With hyperpolarization, it increased in amplitude and duration (bottom trace). Action potential was triggered during depolarization (top trace). **B.** Example of sustained depolarization subsequent to the stimulation of IntV at 50Hz (top trace). With an increase in the frequency (80Hz), an action potential was elicited during the sustained depolarization (bottom trace). **C.** Example of a short latency

biphasic PSP (RMP) elicited by stimulation of IntV. Membrane hyperpolarization eliminates the negative component (bottom trace), while membrane depolarization allowed an action potential to be triggered (top trace).

Figure 8: Synaptic effects on membrane oscillations. **A** and **A₁**. Examples of oscillatory potentials in two neurons that were triggered by stimulation of SupV (**A**-average of 18 traces; **A₁**-average of 12 traces). **B**. Stimulation of SupV (bottom trace) increased the amplitude of the spontaneous oscillations (top trace). **C**. The middle trace displays an oscillatory potential at RMP following stimulation of SupV. Membrane hyperpolarization reveals a monophasic depolarizing PSP (bottom trace) while membrane depolarization triggers action potentials discharge (top trace). **D**. Two recordings from the same cell show spontaneous membrane oscillations that were clearly out of phase in the two cycles (dotted lines 1 and 2) preceding SupV stimulation. Stimulation resets the rhythms in the same way regardless of phase, and this synchronizing effect lasted for several cycles. Eventually, the underlying rhythm reemerged (dotted lines 5 and 6). The bottom trace is an average of twelve traces. **E**. Examples of doublet (top) and repetitive discharge (bottom) after stimulation of SupV in two different cells. Inset displays the oscillations at higher magnification. **F**. Bath application of DNQX abolishes the stimulus related oscillatory activity (right panel) but does not impair the spontaneous oscillations (left panel). The first and third traces of each panel are single traces. The second and fourth traces are average of 8 traces.

TABLE 1. Responses of NVmes neurons to stimulation of adjacent areas

| <i>Stimulation site</i> | <i>Latency of PSPs (ms)</i> <i>Mean ± SE</i> | <i>Monophasic PSPs</i> | <i>Synaptic action potentials</i> | <i>Biphasic PSPs</i> | <i>Enhancement of oscillatory behavior</i> | <i>*Antidromic spikes</i> | <i>**Short-latency action potentials</i> | <i>No response</i> |
|---------------------------|---|------------------------|-----------------------------------|----------------------|--|---------------------------|--|--------------------|
| SupV (n = 214) | 2.4 ± 0.5 | 16 | 8 | 23 | 15 | 17 | 97 | 38 |
| IntV (n = 113) | 4.9 ± 1.0 | 3 | 2 | 4 | 0 | 3 | 18 | 83 |
| NVmt (n = 49) | 2.1 ± 0.6 | 6 | 2 | 0 | 1 | | 16 | 24 |
| NVsnp (n = 45) | 4.1 ± 0.9 | 3 | 3 | 1 | 1 | | 3 | 34 |
| Total (n = 421) | | 28 | 15 | 28 | 17 | 20 | 134 | 179 |

*Recorded in calcium-free aCSF

**Not considered in this study due to uncertainty about their antidromic or synaptic nature.

Figure 1

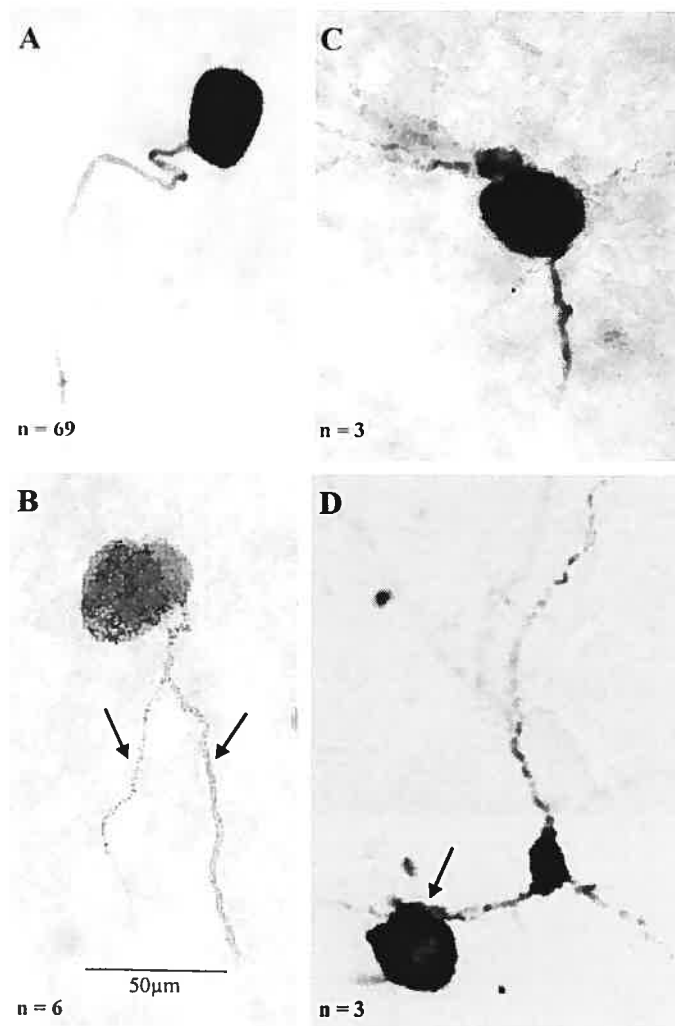


Figure 2

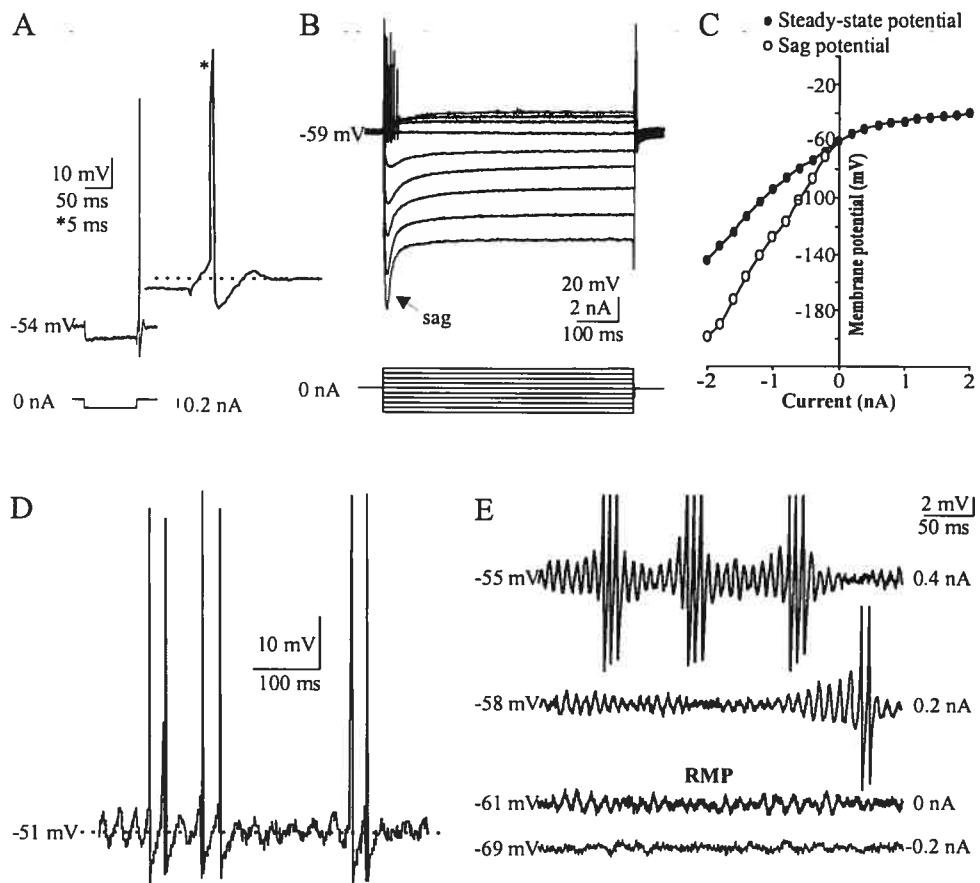


Figure 3

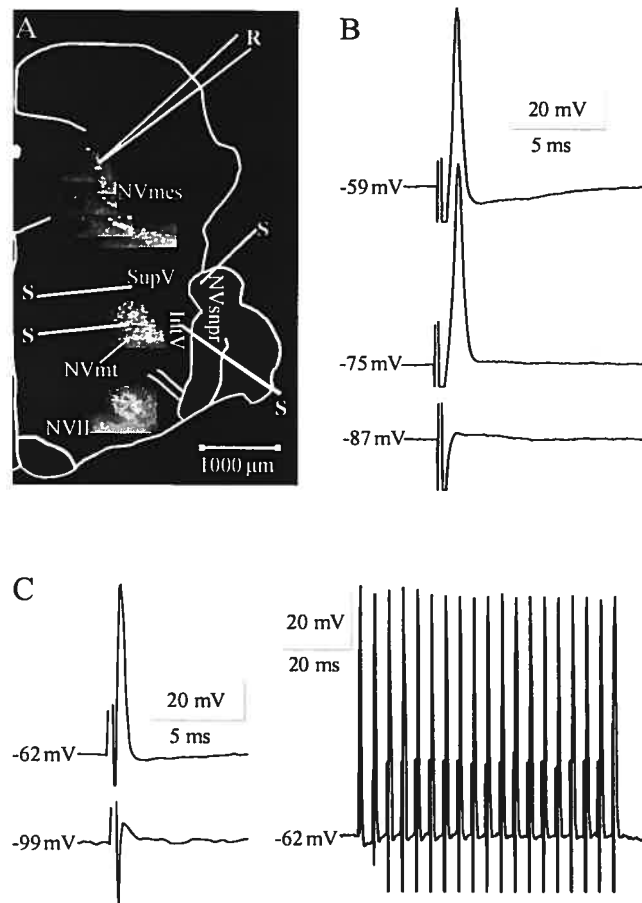


Figure 4

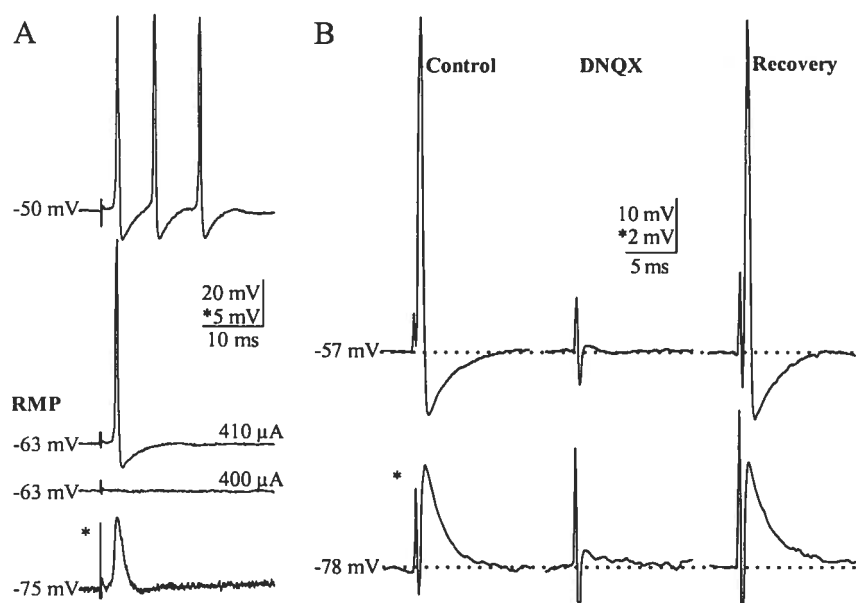


Figure 5

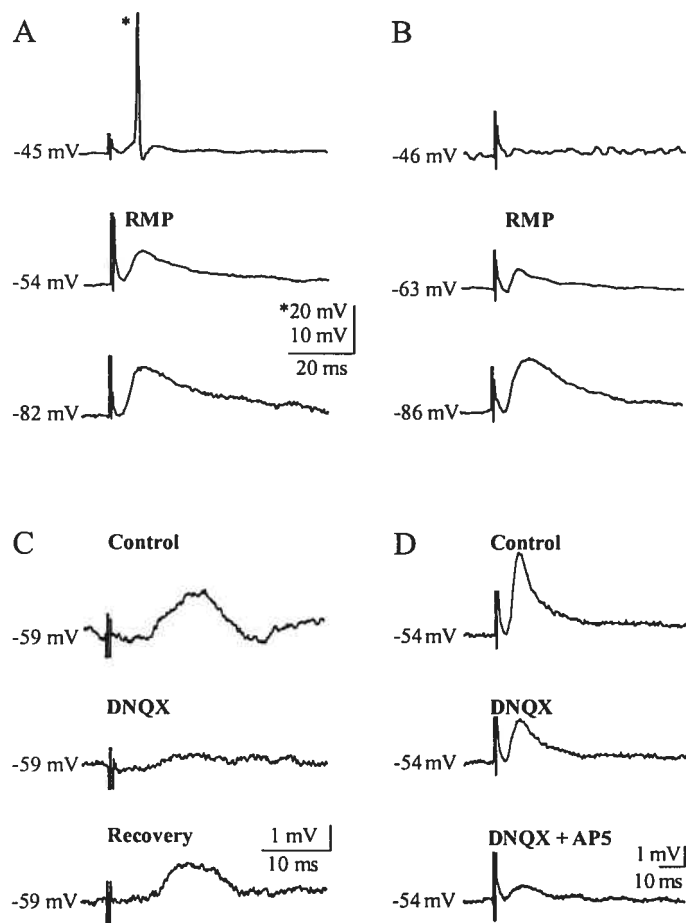


Figure 6

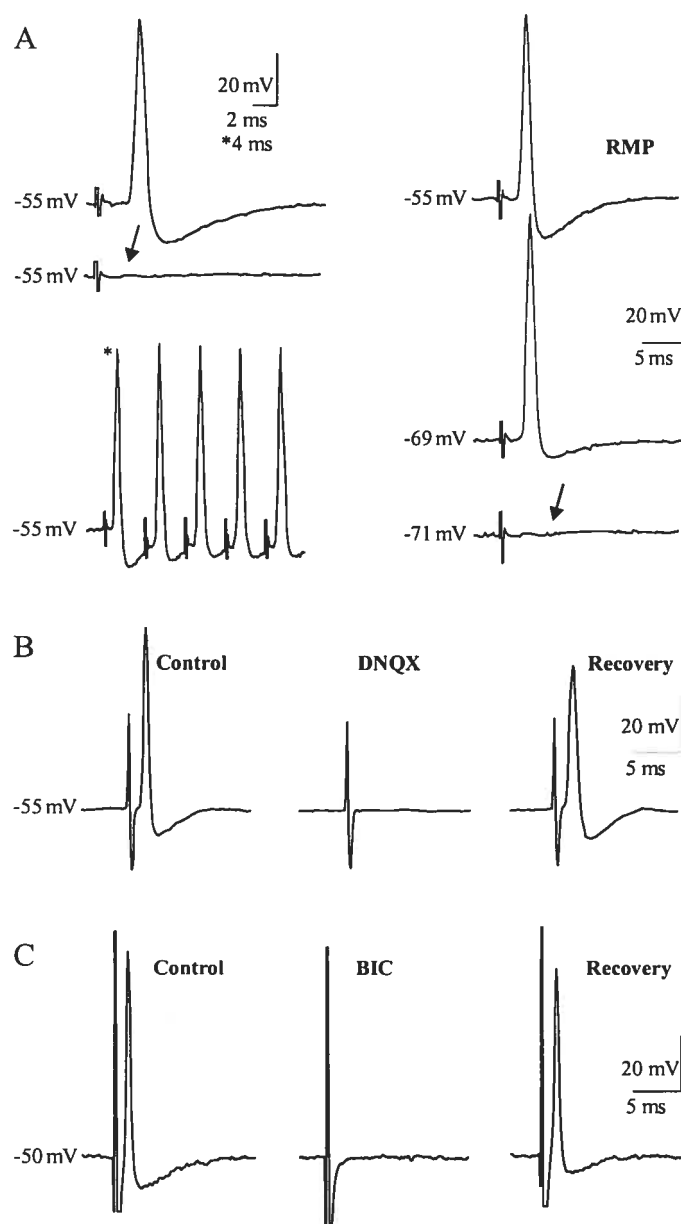


Figure 7

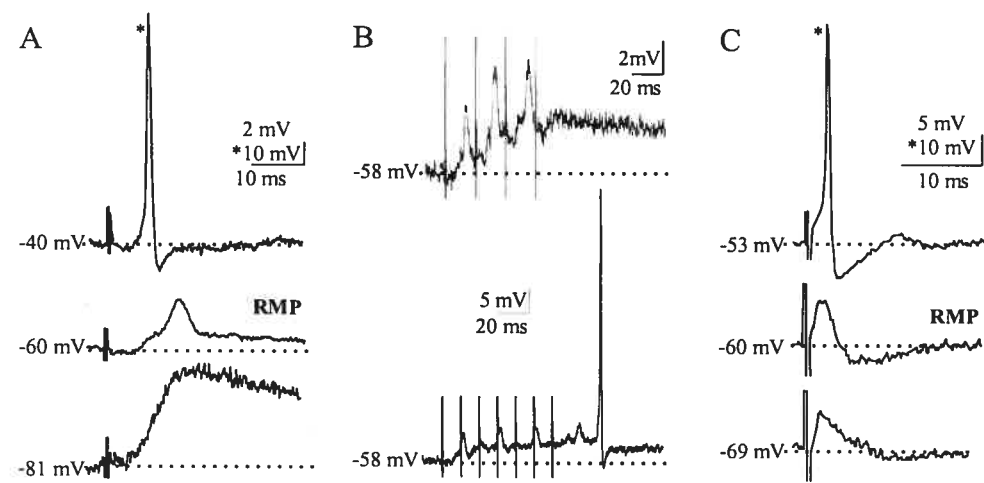
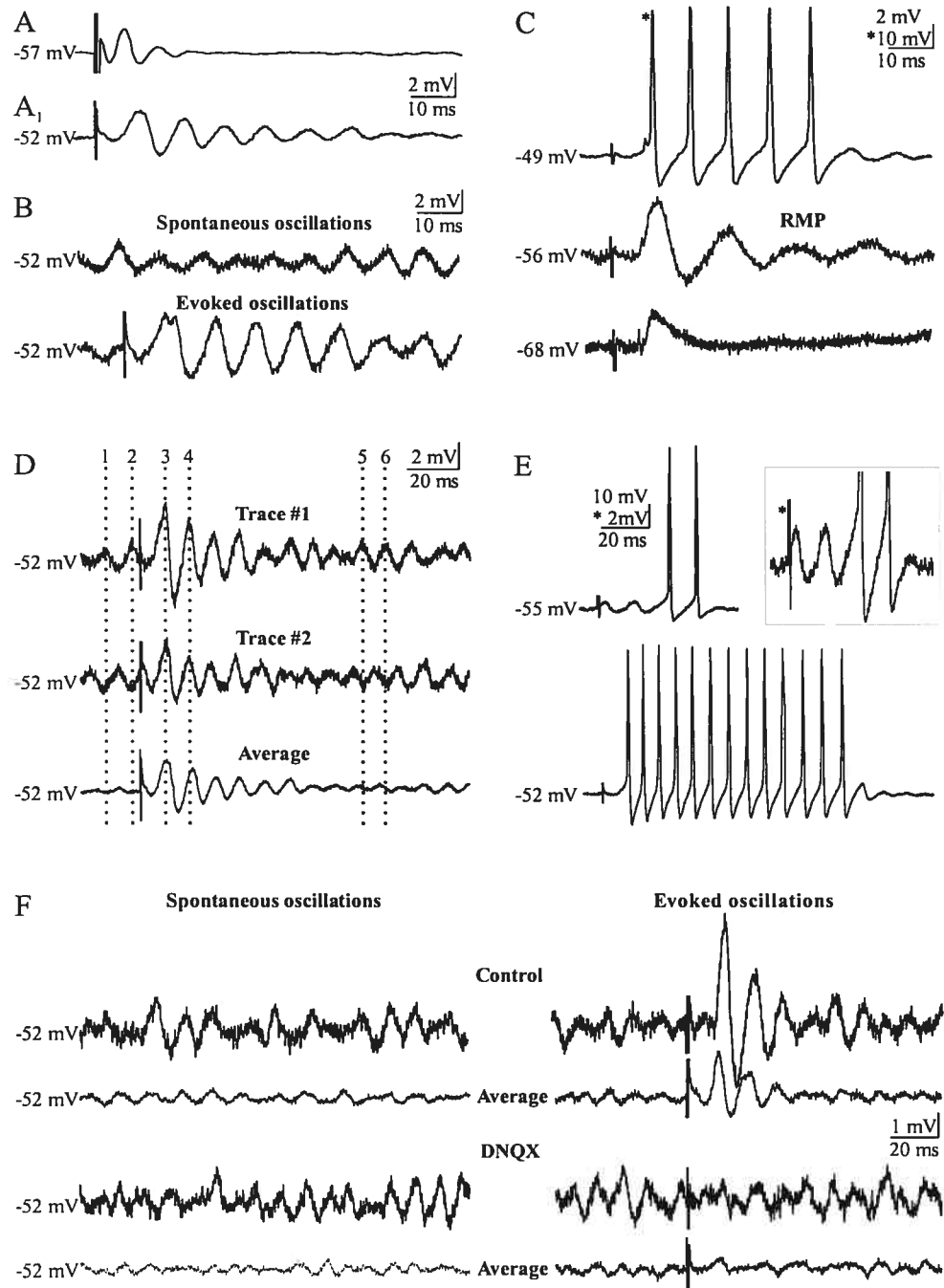


Figure 8



REFERENCES

1. **Aghajanian GK, Rasmussen K.** Intracellular studies in the facial nucleus illustrating a simple new method for obtaining viable motoneurons in adult rat brain slices. *Synapse* 3: 331-338, 1989.
2. **Alvarado-Mallart MR, Batini C, Buisseret-Delmas C, Corvisier J.** Trigeminal representations of the masticatory and extraocular proprioceptors as revealed by horseradish peroxidase retrograde transport. *Exp Brain Res* 23: 167-179, 1975.
3. **Amir R, Michaelis M, Devor M.** Membrane potential oscillations in dorsal root ganglion neurons: role in normal electrogenesis and neuropathic pain. *J Neurosci* 19: 8589-8596, 1999.
4. **Bae YC, Park KP, Yoshida A, Nakagawa S, Kurata S, Chen K, Takemura M, Shigenaga Y.** Identification of gamma-aminobutyric acid-immunoreactive axon endings associated with mesencephalic periodontal afferent terminals and morphometry of the two types of terminals in the cat supratrigeminal nucleus. *J Comp Neurol* 389: 127-138, 1997.
5. **Baker R, Llinas R.** Electrotonic coupling between neurons in the rat mesencephalic nucleus. *J Physiol* 212: 45-63, 1971.
6. **Bennett MVL.** A comparison of electrically and chemically mediated transmission. In: *Structure and function of synapses*. Pappas GD, Purpura DP (eds). Raven, New York, 1972.
7. **Bourque M-J, Kolta A.** Properties and interconnections of trigeminal interneurons of the lateral pontine reticular formation in the rat. *J Neurophysiol* 86: 2583-2596, 2001.

8. **Buisseret-Delmas C, Pinganaud G, Compoin C, Buisseret P.** Projection from trigeminal nuclei to neurons of the mesencephalic trigeminal nucleus in rat. *Neurosci Lett* 229: 189-192, 1997.
9. **Byers MR, O'Connor TA, Martin RF, Dong WK.** Mesencephalic trigeminal sensory neurons of cat: axon pathways and structure of mechanoreceptive endings in periodontal ligament. *J Comp Neurol* 250: 181-191, 1986.
10. **Capra NF, Anderson KV, Atkinson RC.** Localization and morphometric analysis of masticatory muscle afferent neurons in the nucleus of the mesencephalic root of the trigeminal nerve in the cat. *Acta Anat* 122: 115-125, 1985.
11. **Catteart D, el Manira A, Clarac F.** Chloride conductance produces both presynaptic inhibition and antidromic spikes in primary afferents. *Brain Res* 666: 109-112, 1994.
12. **Chen P, Li J, Li J, Mizuno N.** Glutamic acid decarboxylase-like immunoreactive axon terminals in synaptic contact with mesencephalic trigeminal nucleus neurons in the rat. *Neurosci Lett* 298: 167-170, 2001.
13. **Cook SP, Vulchanova L, Hargreaves KM, Elde R, McCleskey EW.** Distinct ATP receptors on pain-sensing and stretch-sensing neurons. *Nature* 387: 505-508, 1997.
14. **Copray JC, Liem RS, Ter Horst GJ, Van Willigen JD.** Dopaminergic afferents to the mesencephalic trigeminal nucleus of the rat: a light and electron microscope immunocytochemistry study. *Brain Res* 514: 343-348, 1990.
15. **Del Negro CA, Chandler SH.** Physiological and theoretical analysis of K⁺ currents controlling discharge in neonatal rat mesencephalic trigeminal neurons. *J Neurophysiol* 77: 537-553, 1997.
16. **Dessem D, Taylor A.** Morphology of jaw-muscle spindle afferents in the rat. *J*

- Comp Neurol* 282: 389-403, 1989.
17. **Dubuc R, Cabelguen J-M, Rossignol S.** Rhythmic antidromic discharges of single primary afferents recorded in cut dorsal root filaments during locomotion in the cat. *Brain Res* 359: 375-378, 1985.
 18. **Feltz P, Rasminsky M.** A model for the mode of action of GABA on primary afferent terminals: depolarizing effects of GABA applied iontophoretically to neurones of mammalian dorsal root ganglia. *Neuropharmacology* 13: 553-563, 1974.
 19. **Galarreta M, Hestrin S.** A network of fast-spiking cells in the neocortex connected by electrical synapses. *Nature* 402: 72-75, 1999.
 20. **Gallagher JP, Higashi H, Nishi S.** Characterization and ionic basis of GABA-induced depolarizations recorded in vitro from cat primary afferent neurones. *J Physiol* 275: 263-282, 1978.
 21. **Ginestal E, Matute C.** Gamma-aminobutyric acid-immunoreactive neurons in the rat trigeminal nuclei. *Histochemistry* 99: 49-55, 1993.
 22. **Gonzalez-Burgos G, Barrionuevo G.** Voltage-gated sodium channels shape subthreshold EPSPs in layer 5 pyramidal neurons from rat prefrontal cortex. *J Neurophysiol* 86: 1671-1684, 2001.
 23. **Gossard JP, Cabelguen J-M, Rossignol S.** An intracellular study of muscle primary afferents during fictive locomotion in the cat. *J Neurophysiol* 65: 914-926, 1991.
 24. **Hayar A, Poulter MO, Pelkey K, Feltz P, Marshall KC.** Mesencephalic trigeminal neuron responses to gamma-aminobutyric acid. *Brain Res* 753: 120-127, 1997.

25. **Hinrichsen CF.** Coupling between cells of the trigeminal mesencephalic nucleus. *J Dent Res* 49:1369-1373, 1970.
26. **Hinrichsen CF, Larramendi LM.** The trigeminal mesencephalic nucleus. II. Electron microscopy. *Am J Anat* 127: 303-319, 1970.
27. **Honma S, Moritani M, Zhang LF, Lu LQ, Yoshida A, Appenteng K, Shigenaga Y.** Quantitative ultrastructure of synapses on functionally identified primary afferent neurons in the cat trigeminal mesencephalic nucleus. *Exp Brain Res* 137: 150-162, 2001.
28. **Huettner JE.** Glutamate receptor channels in rat DRG neurons: activation by kainate and quisqualate and blockade of desensitization by Con A. *Neuron* 5: 255-266, 1990.
29. **Jerge CR.** Organization and function of the trigeminal mesencephalic nucleus. *J Neurophysiol* 26: 379-392, 1963.
30. **Kanaka C, Ohno K, Okabe A, Kuriyama K, Itoh T, Fukuda A, Sato K.** The differential expression patterns of messenger RNAs encoding K-Cl cotransporters (KCC1,2) and Na-K-2Cl cotransporter (NKCC1) in the rat nervous system. *Neuroscience* 104: 933-946, 2001.
31. **Khakh BS, Henderson G.** (1998) Hyperpolarization-activated cationic currents (I_h) in neurones of the trigeminal mesencephalic nucleus of the rat. *J Physiol.* 510: 695-704.
32. **Khakh BS, Humphrey PP, Henderson G.** ATP-gated cation channels (P2X purinoceptors) in trigeminal mesencephalic nucleus neurons of the rat. *J Physiol* 498: 709-715, 1997.

33. **Kilpatrick GJ, Jones BJ, Tyers MB.** Binding of the 5-HT₃ ligand, [3H]GR65630, to rat area postrema, vagus nerve and the brains of several species. *Eur J Pharmacol* 159: 157-164, 1989.
34. **Kolta A, Westberg KG, Lund JP.** Identification of brainstem interneurons projecting to the trigeminal motor nucleus and adjacent structures in the rabbit. *J Chem Neuroanat* 19: 175-195, 2000.
35. **Krettek JE, Price JL.** Amygdaloid projections to subcortical structures within the basal forebrain and brainstem in the rat and cat. *J Comp Neurol* 178: 225-254, 1978.
36. **Lazarov NE, Chouchkov CN.** Immunocytochemical localization of tyrosine hydroxylase and gamma-aminobutyric acid in the mesencephalic trigeminal nucleus of the cat: a light and electron microscopic study. *Anat Rec* 242: 123-131, 1995.
37. **Lazarov NE.** Comparative analysis of the chemical neuroanatomy of the mammalian trigeminal ganglion and mesencephalic trigeminal nucleus. *Prog Neurobiol* 66: 19-59, 2002.
38. **Li YQ, Takada M, Kaneko T, Mizuno N.** GABAergic and glycinergic neurons projecting to the trigeminal motor nucleus: a double labeling study in the rat. *J Comp Neurol* 373: 498-510, 1996.
39. **Lieberman AR.** Sensory ganglia. In: *The peripheral nerve*. Landon, D.N. (Ed), Chapman and Hall, London, 1976.
40. **Liem RS, Copray JC, Van Willigen JD.** Ultrastructure of the rat mesencephalic trigeminal nucleus. *Acta Anatomica* 140: 112-119, 1991.
41. **Liem RS, Copray JC, Van Willigen JD.** Distribution of synaptic boutons in the mesencephalic trigeminal nucleus of the rat: a quantitative electron-microscopical study. *Acta Anatomica* 143: 74-78, 1992.

42. **Luo P, Li J.** Monosynaptic connections between neurons of trigeminal mesencephalic nucleus and jaw-closing motoneurons in the rat: an intracellular horseradish peroxidase labeling study. *Brain Res* 559: 267-275, 1991.
43. **Luo P, Dessem D.** Ultrastructural anatomy of physiologically identified jaw-muscle spindle afferent terminations onto retrogradely labeled jaw-elevator motoneurons in the rat. *J Comp Neurol* 406: 384-401, 1999.
44. **Luo PF, Wang BR, Peng ZZ, Li JS.** Morphological characteristics and terminating patterns of masseteric neurons of the mesencephalic trigeminal nucleus in the rat: an intracellular horseradish peroxidase labeling study. *J Comp Neurol* 303: 286-299, 1991.
45. **Luo P, Dessem D, Zhang J.** Axonal projections and synapses from the supratrigeminal region to hypoglossal motoneurons in the rat. *Brain Res* 890: 314-329, 2001.
46. **Luschei ES.** Central projections of the mesencephalic nucleus of the fifth nerve: an autoradiographic study. *J Comp Neurol* 263: 137-145, 1987.
47. **Mineff EM, Popratiloff A, Usunoff KG, Marani E.** Immunocytochemical localization of the AMPA receptor subunits in the mesencephalic trigeminal nucleus of the rat. *Arch Physiol Biochem* 106: 203-209, 1998.
48. **Miyazaki R, Luschei ES.** Responses of neurons in nucleus supratrigeminalis to sinusoidal jaw movements in the cat. *Exp Neurol* 96: 145-157, 1987.
49. **Nagy JI, Buss M, Daddona PE.** On the innervation of trigeminal mesencephalic primary afferent neurons by adenosine deaminase-containing projections from the hypothalamus in the rat. *Neuroscience* 17: 141-156, 1986.

50. **Pedroarena CM, Pose IE, Yamuy J, Chase MH, Morales FR.** Oscillatory membrane potential activity in the soma of a primary afferent neuron. *J Neurophysiol* 82: 1465-1476, 1999.
51. **Pelkey KA, Marshall KC.** Actions of excitatory amino acids on mesencephalic trigeminal neurons. *Can J Physiol Pharmacol* 76: 900-908, 1998.
52. **Petralia RS, Wang YX, Wenthold RJ.** Histological and ultrastructural localization of the kainate receptor subunits, KA2 and GluR6/7, in the rat nervous system using selective antipeptide antibodies. *J Comp Neurol* 349: 85-110, 1994.
53. **Pose I, Sampogna S, Chase MH, Morales FR.** Mesencephalic trigeminal neurons are innervated by nitric oxide synthase-containing fibers and respond to nitric oxide. *Brain Res* 960: 81-89, 2003.
54. **Puil E, Spigelman I.** Electrophysiological responses of trigeminal root ganglion neurons in vitro. *Neuroscience* 24: 635-646, 1988.
55. **Rokx JT, Luiten PG, Van Willigen JD.** Afferent projections to the mesencephalic trigeminal nucleus in the rat. Anterograde tracing with Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *Acta Anatomica* 132: 260-264, 1988.
56. **Rokx JT, van Willigen JD, Juch PJ.** Bilateral brainstem connections of the rat supratrigeminal region. *Acta Anatomica (Basel)* 127 :16-21, 1986.
57. **Sahara Y, Noro N, Iida Y, Soma K, Nakamura Y.** Glutamate receptor subunits GluR5 and KA-2 are coexpressed in rat trigeminal ganglion neurons. *J Neurosci* 17: 6611-6620, 1997.
58. **Shigenaga Y, Mitsuhiro Y, Yoshida A, Cao CQ, Tsuru H.** Morphology of single mesencephalic trigeminal neurons innervating masseter muscle of the cat. *Brain Res* 445: 392-399, 1988a.

59. **Shigenaga Y, Sera M, Nishimori T, Suemune S, Nishimura M, Yoshida A, Tsuru K.** The central projection of masticatory afferent fibers to the trigeminal sensory nuclear complex and upper cervical spinal cord. *J Comp Neurol* 268: 489-507, 1988b.
60. **Shigenaga Y, Yoshida A, Mitsuhiro Y, Doe K, Suemune S.** Morphology of single mesencephalic trigeminal neurons innervating periodontal ligament of the cat. *Brain Res* 448: 331-338, 1988c.
61. **Shigenaga Y, Yoshida A, Tsuru K, Mitsuhiro Y, Otani K, Cao CQ.** Physiological and morphological characteristics of cat masticatory motoneurons: intracellular injection of HRP. *Brain Res* 461: 238-256, 1988d.
62. **Takata M, Kawamura Y.** Neurophysiologic properties of the supratrigeminal nucleus. *Jpn J Physiol* 20: 1-11, 1970.
63. **Takeda M, Ikeda M, Tanimoto T, Lipski J, Matsumoto S.** Changes of the excitability of rat trigeminal root ganglion neurons evoked by alpha(2)-adrenoreceptors. *Neuroscience* 115: 731-741, 2002.
64. **Tanaka S, Wu N, Hsaio CF, Turman J Jr, Chandler SH.** Development of inward rectification and control of membrane excitability in mesencephalic V neurons. *J Neurophysiol* 89: 1288-1298, 2003.
65. **Ter Horst GJ, Copray JC, Liem RS, Van Willigen JD.** Projections from the rostral parvocellular reticular formation to pontine and medullary nuclei in the rat: involvement in autonomic regulation and orofacial motor control. *Neuroscience* 40: 735-758, 1991.
66. **Turman JE Jr, Chandler SH.** Immunohistochemical evidence for GABA and glycine-containing trigeminal premotoneurons in the guinea pig. *Synapse* 18: 7-20,

1994.

67. **Turman JE Jr, Ajdari J, Chandler SH.** NMDA receptor NR1 and NR2A/B subunit expression in trigeminal neurons during early postnatal development. *J Comp Neurol* 409: 237-249, 1999.
68. **Turman JE Jr, Chandler SH.** Immunohistochemical localization of glutamate and glutaminase in guinea pig trigeminal premotoneurons. *Brain Res* 634: 49-61, 1994.
69. **Valeyev AY, Hackman JC, Holohean AM, Wood PM, Katz JL, Davidoff RA.** GABA-Induced Cl⁻ current in cultured embryonic human dorsal root ganglion neurons. *J Neurophysiol* 82: 1-9, 1999.
70. **Verdier D, Lund JP, Kolta A.** GABAergic control of action potential propagation along axonal branches of mammalian sensory neurons. *J Neurosci* 23:2002-2007, 2003.
71. **Wu N, Hsiao CF, Chandler SH.** Membrane resonance and subthreshold membrane oscillations in mesencephalic V neurons: participants in burst generation. *J Neurosci* 21: 3729-3739, 2001.
72. **Yamamoto M, Kondo H.** Calcitonin gene-related peptide (CGRP)-immunoreactive nerve varicosities in synaptic contact with sensory neurons in the trigeminal ganglion of rats. *Neurosci Lett* 104: 253-257, 1989.
73. **Zhang JD, Yoshida A, Shigenaga Y.** Ultrastructural analysis of inputs around the soma of an intra-cellularly labeled masseter muscle spindle afferent in cat mesencephalic trigeminal nucleus. *J Brain Res* 38: 495-502, 1997.

Quatrième Chapitre

DISCUSSION GÉNÉRALE

S'il est généralement admis que l'excitabilité des neurones sensoriels peut être centralement modulée, les mécanismes de cette modulation ne sont pas encore tout à fait élucidés. Il est vrai que les études traitant de la dépolarisation des terminaisons des afférences primaires et de l'inhibition présynaptique consécutive ont fourni bons nombres de réponses. Toutefois, il reste encore plusieurs questions sans réponse sans compter que ces études elles-mêmes ont suscité de nombreuses autres questions. Les études présentées au cours du chapitre précédent, nous ont fourni quelques éléments de réponses pour le cas particulier des neurones sensoriels innervant les fuseaux neuromusculaires des muscles de fermeture de la mâchoire dont les corps cellulaires sont localisés dans le NVmes. Au cours de cette discussion générale, nous allons dans un premier temps traiter des résultats obtenus en tentant de les intégrer avec les connaissances actuelles et de réfléchir sur leurs implications relativement au concept de la régulation du feedback sensoriel par le GPC masticatoire. Par la suite, nous essayerons d'envisager quels types d'expériences pourraient constituer une suite logique et intéressante pour la continuité du projet amorcé dans ces études.

1. CONTRÔLE DE LA PROPAGATION DES POTENTIELS D'ACTION PAR DES SYNAPSES GABAÉRGIQUES AXONALES

Les résultats de la première étude suggèrent que l'activation de synapses GABAérgiques localisées, non pas aux terminaisons, mais sur l'arbre axonal lui-même soit en mesure d'affecter la propagation des potentiels d'action qui voyagent dans l'axone. En effet, 59% (38/64) des applications locales de GABA sur les axones des

afférences primaires du NVmes ont affecté la propagation des potentiels d'action antidromiques évoqués par une stimulation électrique des voies descendantes. L'effet le plus fréquent (2/3 des cas) consistait en une abolition réversible des réponses antidromiques. Dans les autres cas (1/3), l'application locale de GABA a causé une diminution réversible et significative de l'amplitude des potentiels d'action. Ces effets dépendaient de l'activation des récepteurs GABA_A, car ils ont pu être reproduits par des applications locales de muscimol et être bloqués par des applications de picrotoxine dans le bain. Ces effets ont pu être reproduits dans un milieu sans calcium contenant une forte concentration de magnésium (3.8mM) reconnu pour empêcher la transmission synaptique suggérant qu'ils sont médiés par un effet direct du GABA sur l'axone des cellules enregistrées. L'application de GABA sur le soma des neurones du NVmes, dans la majorité des cas (14/21), a causé une diminution importante de l'amplitude ainsi qu'une augmentation de la durée des potentiels d'action. Dans une minorité de cas (2/21), l'application de GABA au corps cellulaire a supprimé le potentiel d'action antidromique. Ces différents effets des applications de GABA sur les potentiels d'action antidromiques ont pu être reproduits par la stimulation électrique d'interneurones localisés dans SupV et dans la partie dorsale du NVsnpr. Finalement, nous avons réussi à démontrer des appositions entre des boutons immunoréactifs au GABA ou à la GAD et l'axone principal d'afférences fusoriales marquées avec du Dil.

En définitive, les résultats de cette étude supportent l'hypothèse émise par Westberg *et al.* (2000) de l'existence de synapses GABAergiques sur l'arbre axonal des afférences fusoriales trigéminales dont l'activation pourrait permettre une compartimentalisation fonctionnelle de ces neurones. Ces résultats n'écartent pas la

possibilité que l'effet du GABA puisse avoir été exercé de façon non-synaptique par diffusion du GABA relâché par les boutons en passant.

1.1 Mécanismes d'action du GABA

Nous avons présumé que les effets des applications de GABA sur les potentiels d'action antidromiques résultaient d'une dérivation du courant «shunt» causé par l'augmentation d'une conductance chlore suite à l'activation des récepteurs GABA_A selon un phénomène similaire à ce qui a été rapporté par Cattaert et ses collaborateurs (1994, 1999, 2001). En fait, ces différentes études menées sur les neurones sensoriels de l'écrevisse dont les axones ne sont pas myélinisés, nous apprennent que lorsqu'on active une synapse GABAergique sur une afférence primaire, on produit deux événements: une augmentation de la conductance chlore et une dépolarisation. La dépolarisation, il est vrai, résulte de l'augmentation de la conductance chlore, mais les deux événements, une fois générés, peuvent avoir des conséquences différentes. L'augmentation de la conductance chlore produit une dérivation qui court-circuite la dépolarisation locale générée par le potentiel d'action en propagation. Selon l'importance de la conductance chlore, le shunt peut se traduire par une diminution d'amplitude du potentiel d'action ou par son abolition. Toutefois, ce phénomène est local. C'est au site même où les canaux chlore sont ouverts que cela se passe. La dépolarisation d'autre part, dans un axone non-myélinisé, peut se propager aux sites adjacents et sur son parcours activer les canaux sodiques voltage-dépendants et produire une augmentation de l'excitabilité en ce sens qu'elle approche le potentiel membranaire du seuil de déclenchement des potentiels d'action. Ainsi, la dépolarisation peut conduire

à la génération de potentiels d'action. Ces potentiels d'action vont se propager préférentiellement dans la direction antidromique en raison des propriétés de conduction active de la membrane de l'arbre axonal résultant d'une grande concentration de canaux sodiques par opposition avec la conductance passive qui prévaut aux terminaisons. Selon les études de Cattaert et collaborateurs (1999, 2001), il semble toutefois que si la dépolarisation est trop importante, elle peut causer une inactivation des canaux sodiques et prévenir la propagation des potentiels d'action au même titre que l'augmentation de la conductance chlore. Certaines observations de l'expérience de Marshall et collaborateurs (Hayar *et al.* 1997) laissent à penser que le GABA exerce également une action dualiste sur les neurones du NVmes. Ces auteurs nous apprennent que la dépolarisation causée par le GABA s'accompagne d'une diminution significative de la résistance d'entrée des cellules. Cette diminution de la résistance d'entrée résulte très probablement de l'augmentation de la conductance chlore. Les auteurs soulignent le fait que c'est surtout après une récupération significative de la résistance d'entrée que la dépolarisation résiduelle semble causer une augmentation importante de l'excitabilité. Alors à ce moment précis, l'injection d'un courant qui s'est révélé sub-liminaire avant l'application du GABA, arrive à causer une décharge dans les neurones du NVmes. Il est possible qu'à ce moment, c'est l'action de la dépolarisation qui prévaut. Maintenant, transposons ce scénario d'une action dualiste du GABA à une surface cellulaire très restreinte d'un nœud de Ranvier sur l'axone d'un neurone du NVmes. Des synapses GABAergiques qui s'activeraient à ce niveau vont causer de la même manière une augmentation de la conductance chlore et une dépolarisation. Toutefois, en raison de la conduction saltatoire qui prévaut sur l'arbre axonal myélinisé, seule une dépolarisation réellement importante pourra se propager et causer une décharge dans les nœuds

subséquents. Alors, l'effet le plus probant qui risque de se produire sur un potentiel d'action qui traverse l'axone à ce moment, est un blocage de la conduction soit par un shunt important ou par une inactivation des canaux sodiques au site d'activation des synapses GABAergiques. Par contre, si l'augmentation de la conductance chlore n'est pas assez importante pour shunter complètement le potentiel d'action, ce qui pourrait être le cas si on traverse une région où la densité des récepteurs GABAergiques est moindre ou si l'application de GABA n'active pas suffisamment de ces récepteurs, celui-ci va simplement accuser une diminution d'amplitude alors qu'il traverse le ou les nœud(s) de Ranvier sujet(s) à l'action du GABA et pourra être capté en aval. Ces explications servent à justifier nos présomptions que l'activation des synapses GABAergiques aux terminaisons est responsable des décharges antidromiques alors que l'activation de ces mêmes synapses sur l'arbre axonal lui-même nuit à la propagation des potentiels d'action.

1.2 Applications somatiques versus applications axonales du GABA

Maintenant que le mécanisme d'action du GABA est éclairci, on peut se demander qu'est-ce qui explique la différence entre l'effet du GABA sur le soma et sur l'axone. En ce qui concerne la différence entre l'occurrence de blocages complets lors des applications axonales et les applications somatiques, il est possible que cela tient tout simplement de la surface membranaire touchée par rapport au mode d'application et à la désensibilisation des récepteurs GABAergiques. En effet, ces récepteurs montrent une désensibilisation importante (Hayar *et al.* 1997). La surface d'un nœud de Ranvier

étant de beaucoup inférieure à la surface du corps cellulaire, lors d'une application de GABA, la probabilité d'activer de façon simultanée les différents récepteurs GABAergiques d'un nœud de Ranvier par diffusion passive du GABA est plus grande que celle d'activer simultanément les récepteurs sur toute la surface somatique. Alors, le scénario au corps cellulaire pourrait être comme suit : tandis que le GABA diffuse dans la tranche, certains récepteurs vont être touchés et s'activer alors que d'autres, par exemple ceux de la surface opposée, n'ont pas encore été touchés. Toutefois, pendant que la diffusion se poursuit, les récepteurs touchés en premiers deviennent désensibilisés et ne sont plus affectés par le GABA alors que ceux de la surface opposée sont activés et causent l'augmentation de la conductance chlore. De ce fait, au corps cellulaire, le potentiel d'action même s'il est shunté finira presque toujours par se propager à un site non touché et pourra être capté lors des enregistrements. En ce qui à trait aux changements dans la cinétique du potentiel d'action observés lors des applications de GABA au soma mais pas lors des applications axonales, une explication plausible serait que le potentiel d'action shunté au corps cellulaire ne se régénère pas mais se propage de façon passive. Étant donné que le corps cellulaire représente une grande surface membranaire, la capacitance importante de la membrane somatique va avoir comme effet de ralentir la propagation du courant causant ainsi une augmentation de la durée du potentiel d'action. Une autre alternative qui pourrait expliquer les différences de cinétique observées, serait que la dépolarisation causée par le GABA active ou inactive certaines conductances ioniques voltage-dépendantes absentes aux nœuds de Ranvier, dont certaines conductances potassiques. Par exemple, dans une étude de Del Negro et Chandler (1997) qui traite de l'implication des courants potassiques dans le mode de décharge des cellules du NVmes, l'application de TEA, un bloqueur de certains canaux

potassiques, augmente la durée du potentiel d'action et diminue l'amplitude de l'AHP tout comme les applications de GABA. Toutefois, ces auteurs ne rapportent pas une diminution de l'amplitude des potentiels d'action par l'application de TEA suggérant que si les effets sur la cinétique du potentiel d'action relèvent d'une action indirecte du GABA sur les conductances membranaires, la diminution d'amplitude elle serait imputable au shunt causé par le GABA tout comme lors des applications axonales. À cet égard, il est possible que la différence dans l'importance de la diminution d'amplitude des potentiels d'action observée entre les applications au corps cellulaire et sur l'axone, proviendrait du fait que dans les cas d'applications axonales, les potentiels d'action ont pu se régénérer partiellement lors de leur propagation du site d'application du GABA vers le corps cellulaire. Ainsi, il est même possible que certains des cas où les applications axonales de GABA semblaient sans effet, étaient en fait des cas dans lesquels les potentiels d'action ont pu être régénérés complètement avant d'atteindre le corps cellulaire.

1.3 Rôle fonctionnel des synapses GABAergiques axonales

Westberg *et al.* (2000) ont suggéré que l'activation des synapses GABAergiques axonales servait à compartimentaliser les neurones du NVmes. La question qui se pose naturellement est quelle pourrait être l'utilité d'une telle compartimentalisation? Au cours de la présente section, nous allons tenter une réflexion sur ce thème en proposant quelques hypothèses qui pourraient expliquer une telle compartimentalisation. Toutefois, nous voulons à prime abord identifier les groupes neuronaux susceptibles d'être impliqués dans la génération des potentiels d'action antidromiques et dans la

compartimentalisation et suggérer le site de contact sur l'axone des neurones du NVmes pour les terminaisons qui assurent la compartimentalisation.

1.3.1 Identification des groupes neuronaux responsables de la décharge antidromique et de la compartimentalisation.

Selon Westberg et ses collaborateurs (2000), l'augmentation de l'excitabilité dans les projections centrales observée pendant la phase de fermeture de la mastication fictive pourrait résulter de l'addition au niveau de l'axone central de potentiels d'action antidromiques générés par une dépolarisation des terminaisons. Quelle population neuronale pourrait causer ces décharges antidromiques? Nous ne pouvons l'affirmer avec certitude, mais il est possible que ces potentiels d'action résultent de l'activation de neurones intrinsèques des régions de projection des afférences fusoriales du NVmes là où les enregistrements ont été effectués par Westberg et collaborateurs, i.e. SupV, PCRt- α et NVspo- γ . En effet, nous avons vu au cours de la revue de la littérature, que des terminaisons axo-axoniques sont retrouvées sur les terminaisons centrales des neurones du NVmes à ces différents sites (Luo et Li 1991; Saha *et al.* 1991; Bae *et al.* 1996; Yang *et al.* 1997a). Nous savons aussi qu'au sein de ces noyaux, on retrouve des neurones GABAergiques (Li *et al.* 1996; Yang *et al.* 1997). Nous avons également vu que certains neurones du PCRt, de SupV et de NVspo- γ déchargent rythmiquement pendant la mastication fictive (Donga et Lund 1991; Inoue *et al.* 1992; Westberg *et al.* 1998). Donc, il est possible que l'activation phasique des neurones GABAergiques de ces régions soit en cause dans la génération des potentiels d'actions supplémentaires dans les axones des afférences fusoriales trigéminales.

Maintenant, quels sont les groupes neuronaux qui réalisent la compartimentalisation fonctionnelle des afférences fusoriales du NVmes? Nous avons pu reproduire les effets des applications de GABA par des stimulations électriques de la région latérale de SupV ainsi que dans la partie dorsale de NVsnpr. Que retrouve-t-on à ces deux endroits? Dans la partie dorsale du NVsnpr, on retrouve les neurones sensoriels de second-ordre qui reçoivent un input des structures intraorales et des fuseaux neuromusculaires (Shigenaga *et al.* 1986; Luo *et al.* 1995). C'est aussi dans cette partie que l'on retrouve les neurones qui projettent aux motoneurones des muscles de fermeture dans le NVmt (Li *et al.* 1995; Yoshida *et al.* 1998; Kolta *et al.* 2000). C'est dans cette partie que semblent être concentrés les neurones GABAergiques retrouvés dans ce noyau (Ginestal *et al.* 1993; Li *et al.* 1996). C'est également à ce niveau que l'on retrouve la plus grande proportion de neurones déchargeant de façon rythmique pendant la mastication fictive (Tsuboi *et al.* 2003). Notons aussi, selon l'étude de Tsuboi et collaborateurs que la plupart des neurones qui déchargeaient pendant la phase de fermeture recevaient majoritairement un input des fuseaux neuromusculaires. Pour ce qui est de la région latérale de SupV, nous n'avons pas d'information particulière pour cette partie du noyau. Toutefois, nous savons que SupV contient des neurones GABAergiques et que les neurones de Supv reçoivent un input des afférences fusoriales. Donc, il n'est pas impossible que certains d'entre eux soient localisés latéralement et aient pu être activés par les stimulations électriques. De plus, nous savons que les dendrites des neurones du NVsnpr s'étendent à la formation réticulée adjacente (Yoshida *et al.* 1998), alors il existe une probabilité que certaines des stimulations dans la partie latérale de SupV activaient aussi des neurones du NVsnpr.

Nous pensons donc, que les contacts sur l'arbre axonal des neurones sensoriel du NVmes viennent des neurones de ces deux régions.

Étant donné que pendant la mastication fictive, seuls les potentiels d'actions supplémentaires provenant de l'invasion antidromique de l'axone central sont bloqués au niveau du corps cellulaire des neurones du NVmes mais pas la décharge orthodromique provenant de la périphérie, ces synapses axonales sont probablement localisées sur le tronc commun lui-même et non pas à la bifurcation, ni sur l'axone périphérique ou central. En fait, nous avons réussi à observer des appositions entre des boutons immunoréactifs au GABA et l'axone d'afférences fusoriales marquées par le Dil. Le diamètre de l'axone (environ 5 μm) permet de supposer qu'il s'agit probablement du tronc commun. Dans l'étude de Cattaert *et al.* (1999), il a été démontré que les terminaisons GABAergiques possiblement à l'origine des dépolarisations d'afférences primaires, étaient localisées au premier point d'embranchement de l'axone sensoriel. C'est un site intéressant, car les points d'embranchement correspondent à des régions de faible impédance où la probabilité d'un échec de la conduction des potentiels d'action est la plus élevée. C'est donc une position stratégique pour affecter la conduction des potentiels d'action dans l'arbre axonal. Selon Shigenaga, les points d'embranchement sur les axones des neurones du NVmes, correspondent à des surfaces dénudées de myéline relativement importantes (communication personnelle). Par conséquent, au niveau du tronc commun des neurones du NVmes, les synapses GABAergiques responsables de la compartimentalisation pourraient être localisées aux points d'embranchement entre l'axone principal et les collatérales.

1.3.2 Conséquence fonctionnelle de la compartimentalisation et des décharges antidromiques

Quel pourrait être la conséquence d'une compartimentalisation des afférences fusoriales des muscles de fermeture de la mâchoire? Un élément de réponse pourrait être fourni en considérant l'organisation de l'arbre axonal des neurones du NVmes. Nous savons que la projection des neurones du NVmes est organisée rostro-caudalement. Nous avons vu que de la branche ascendante de l'axone, qui constitue la partie rostrale de l'arbre axonal des neurones du NVmes, émergeaient des collatérales axonales projetant dans la partie rostrale de SupV ainsi que dans la partie caudale du NVmes (Luo *et al.* 1995). Une compartimentalisation des afférences fusoriales du NVmes aura comme conséquence de bloquer la transmission des potentiels d'action antidromiques générés aux terminaisons à ces structures.

Considérons d'abord SupV. Nous savons que ce noyau contient des neurones glutamatergiques, glycinergiques et GABAergiques (Brodal *et al.* 1988; Ginestal *et al.* 1993; Turman et Chandler 1994a,b; Li *et al.* 1996; Rampon *et al.* 1996; Kolta *et al.* 2000). Nous savons aussi que les neurones de ce noyau projettent de façon bilatérale au NVmt (Rokx *et al.* 1986; Li *et al.* 1993; Kamogawa *et al.* 1994). Ces neurones sont très probablement impliqués dans la coordination bilatérale de la mâchoire. Fait intéressant, Luo *et al.* (2001) ont démontré une projection des afférences fusoriales à des neurones de SupV qui projettent au NVmt contralatéral. Rappelons nous que les afférences du NVmes projettent de façon strictement ipsilatérale. C'est donc via les connections à des

neurones commissuraux que l'information en provenance des afférences fusoriales innervant les muscles de chaque côté de la mâchoire peut être intégrée pour permettre une coordination bilatérale qui tienne compte de l'input proprioceptif. Si les potentiels d'action antidromiques générés aux terminaisons sont bloqués par l'activation des synapses GABAergiques axonales, le signal qui vient de la périphérie sera transmis au côté contralatéral via les neurones de SupV commissuraux sans être contaminé par ces derniers. Les neurones de SupV projettent également au cervelet (Somana *et al.* 1980). Avec la compartimentalisation, l'information proprioceptive trigéminal qui parvient au cervelet via les neurones de SupV ne sera pas contaminée par la décharge antidromique générée aux terminaisons. L'étude de Luo et Dessem (1995) a démontré des appositions directes entre des terminaisons d'afférences fusoriales marquées intracellulairement et des neurones trigéminothalamiques marqués rétrogradement dans SupV. Via cette projection, l'information proprioceptive trigéminal est convoyée aux centres supérieurs. Avec la compartimentalisation, l'information proprioceptive trigéminal qui parvient aux centres supérieurs via les neurones de SupV ne sera pas contaminée par la décharge antidromique générée aux terminaisons. Nous avons vu que les neurones de SupV en plus de projeter au NVmt projettent également au NVII et au NXII (Rokx *et al.* 1986; Li *et al.* 1993). De par ces projections, les neurones de SupV participent à la coordination des mouvements de la mâchoire avec les mouvements des muscles faciaux et de la langue pendant la mastication. Avec la compartimentalisation, l'information proprioceptive trigéminal qui parvient au NVII et NXII via les neurones de SupV ne sera pas contaminée par la décharge antidromique générée aux terminaisons. Ainsi, la coordination de l'activité de ces différents muscles sera réalisée en fonction d'une information proprioceptive qui corresponde à la réalité. Il faut toutefois considérer le fait

que les neurones des régions caudales de la formation réticulée et du CNST projettent également aux différentes structures innervées par les neurones de SupV et de ce fait, vont transmettre le signal proprioceptif contaminé à ces différents sites. Il est possible que les outputs divergents des neurones de SupV et des neurones des structures caudales fournissent aux centres supérieurs un feedback du niveau de contrôle exercé sur les afférences fusoriales pendant la mastication.

Pour ce qui est du NVmes, il est établi que les afférences fusoriales établissent des contacts synaptiques entre elles (Luo et Dessem 1996). Ce qui n'est pas encore déterminé, c'est si ces contacts sont réalisés uniquement entre les neurones innervant un même muscle de fermeture ou si des neurones innervant différents muscles se contactent synaptiquement. Dans la seconde éventualité, la compartimentalisation aurait comme conséquence de prévenir une excitation inappropriée des muscles agonistes par la décharge antidromique en prévenant l'activation des motoneurones les innervant par les afférences fusoriales. On ne sait pas non plus si les afférences fusoriales contactent synaptiquement les afférences parodontales du NVmes. Nous avons vu que les afférences parodontales projettent aux prémotoneurones de SupV qui inhibent les motoneurones de fermeture de la mâchoire (Minkels *et al.* 1995). Par conséquent, une suractivation des afférences parodontales du NVmes par un input synaptique en provenance des afférences fusoriales convoyant les potentiels d'action supplémentaires pourrait perturber la fermeture de la mâchoire via une activation de ces interneurones. La compartimentalisation pourrait prévenir une telle situation. Il est possible aussi, qu'à l'intérieur du NVmes, les afférences fusoriales contactent synaptiquement les interneurones du noyau. Peu d'études se sont intéressées à ces interneurones, alors on

ne connaît pas très bien leurs sites de projections. Toutefois, une étude de Lucchi *et al.* (1997) a révélé une projection de ces interneurons à la moelle épinière cervicale. Si ces neurones reçoivent un input des afférences fusoriales du NVmes, ils pourraient être impliqués dans la coordination de l'activité des muscles de la mâchoire et des mouvements de la tête pendant la locomotion (Lund *et al.* 1984a). Il est possible que ces interneurons projettent à de nombreuses autres structures et s'ils sont contactés synaptiquement par les afférences fusoriales. Avec la compartimentalisation, l'input proprioceptif transmis à ces neurones ne sera pas contaminé par les décharges antidromiques générées aux terminaisons centrales.

Il a été démontré que l'activité antidromique générée pendant la locomotion se propage à l'intérieur des racines dorsales et des axones des nerfs périphériques (Dubuc *et al.* 1985, 1988; Gossard *et al.* 1991) et il a été proposé qu'elle module l'influx d'activité sensorielle vers le système nerveux central en entrant en collision avec les potentiels d'action orthodromiques et en changeant l'excitabilité des récepteurs en périphérie (Slesinger et Bell, 1985; Nusbaum *et al.*, 1997; Gossard *et al.*, 1999). En ce qui a trait à la mastication, la compartimentalisation aurait comme conséquence de prévenir un tel effet périphérique en prévenant l'invasion de la branche périphérique par les potentiels d'action générés antidromiquement au niveau des terminaisons centrales.

Avant de conclure cette section, il nous faut considérer la possibilité que l'excitation phasique des afférences fusoriales rapportée dans cette étude puisse ne pas refléter une fluctuation d'excitabilité qui se produit normalement, mais qu'elle soit inhérente à la condition d'ouverture maintenue de la mâchoire. En d'autres termes,

l'augmentation de l'excitabilité de ces afférences pourrait servir à contrer ou à corriger la situation anormale en cours. En effet, la décharge maintenue d'un groupe cellulaire dont la fonction est de signaler la longueur du muscle peut être perçue par les centres supérieurs du SNC comme faisant état d'une résistance anormale à la fermeture de la mâchoire comme si une bouchée trop grosse d'un aliment trop dur s'opposait à la fermeture de la mâchoire. Une telle situation nécessiterait une activité accrue des muscles de fermeture qui se doit d'être rigoureusement contrôlée. Alors, en plus d'une action directe sur les motoneurons de fermeture, le GPC pourrait agir indirectement en amplifiant le signal des afférences fusoriales via la génération d'une décharge antidromique aux terminaisons. En fait, ce raisonnement rappelle l'expérience de Nakamura *et al.* (1976) qui ont rapporté que chez les chats immobilisés, un abaissement soutenu de la mâchoire augmente l'amplitude de l'activité rythmique induite dans le nerf masséter par une stimulation corticale.

1.4 Inhibition phasique

Et l'inhibition phasique de la décharge tonique des neurones du NVmes observée par Westberg *et al.* (2000) pendant la phase d'ouverture de la mastication fictive, d'où provient-elle? En ce qui concerne l'inhibition des unités enregistrées dans le NVmes, on peut supposer, en dépit du faible pourcentage de blocage de potentiels d'action antidromiques obtenu lors des applications somatiques dans notre étude, que les neurones GABAergiques soient en cause. Pourquoi? Les études anatomiques démontrent que le réseau de fibres et de terminaisons GABAergiques dans le NVmes est relativement dense et recouvre littéralement les neurones sensoriels du NVmes (Coprav

et al. 1990c; Lazarov *et al.* 2000). La densité des fibres est si importante que celles-ci semblent mêmes artefactuelles (Kolta 1990). Ces informations suggèrent même la possibilité d'une libération non synaptique du GABA. Il est donc probable, qu'en situation réelle, l'activation de ce dense réseau de fibres puisse causer un effet immédiat sur une très grande surface cellulaire et bloquer complètement la propagation de potentiels d'action en provenance de la périphérie. Dans ce cas, les résultats obtenus par les applications locales de GABA sur le soma peuvent ne pas être le reflet de la réalité. Ainsi, il demeure possible, que le GABA puisse être responsable de l'inhibition observée pendant la phase d'ouverture de la mastication fictive dans les afférences fusoriales enregistrées dans le NVmes lors des études de Kolta *et al.* (1990) et Westberg *et al.* (2000). Cependant, d'autres neurotransmetteurs peuvent être impliqués. Toutefois, il est difficile de se prononcer sur un transmetteur particulier, car tous ceux qui ont été testés sur ces cellules semblent causer une dépolarisation et contribuer à une augmentation de leur excitabilité. C'est pourquoi le GABA demeure le candidat idéal car en dépit de la dépolarisation qu'il induit, il peut contribuer à une inhibition en raison du shunt local qu'il crée. Il y a toutefois des évidences en faveur de la sérotonine, car il a été démontré que l'application de sérotonine par microiontophorèse inhibe la décharge des afférences fusoriales trigéminales (DeMontigny et Lund 1980).

Et pour l'inhibition phasique observée dans les unités enregistrées au niveau de l'arbre axonal caudal? Il est possible que l'activation de synapses axonales GABAergiques localisées non pas rostralement cette fois, mais caudalement au niveau de l'axone central soit en cause. En effet, la différence entre l'occurrence d'inhibition entre les unités enregistrées dans le NVmes et les unités enregistrées caudalement

suggère que ce contrôle ne s'effectue pas au niveau de la branche périphérique. Puisque le pourcentage d'inhibition est extrêmement élevé, il est possible que ces synapses seraient localisées sur l'axone central tout juste après la bifurcation et que cette innervation serait relativement importante. Cela impliquerait donc qu'il y aurait quatre populations de neurones GABAergiques: les deux premières seraient actives pendant la phase de fermeture et une contacterait les terminaisons des afférences primaires du NVmes et l'autre la partie rostrale de l'axone principal alors que les deux autres seraient actives pendant la phase d'ouverture et une contacterait la partie proximale de l'axone central et l'autre le corps cellulaire des afférences fusoriales trigéminales. Outre l'hyperpolarisation phasique des motoneurones de fermeture, l'inhibition phasique des neurones du NVmes pourrait contribuer à l'inhibition du réflexe de fermeture de la mâchoire rapportée par Chase et McGinty (1970) pendant la phase d'ouverture de la mastication. Il existe également une possibilité que l'inhibition observée dans les unités enregistrées au niveau de l'arbre axonal caudal est tonique et que tous les spikes enregistrés pendant la phase de fermeture sont antidromiques.

L'activation de synapses glutamatergiques sur les axones des afférences fusoriales pourraient également être impliquée dans l'inhibition phasique observée dans les unités enregistrées au niveau de l'arbre axonal caudal. En effet, Lee *et al.*, (2002) ont obtenu des évidences suggérant la présence de récepteurs AMPA fonctionnels localisés principalement à proximité des terminaisons centrales dans une sous-population de neurones du DRG. Ils ont démontré que l'activation des récepteurs AMPA présynaptiques par une application exogène d'agonistes cause une inhibition de la libération de glutamate par les terminaisons, possiblement via une DAP. Dans cette

étude, ils ont postulé que la dépolarisation médiée par les récepteurs AMPA shunte la propagation du potentiel d'action en créant une aire local ayant un input à conductance élevée, qui diminue l'ampleur de la dépolarisation pendant le potentiel d'action et ralentit la propagation du potentiel d'action. Cette dépolarisation médiée par les récepteurs AMPA pourrait également inactiver les canaux sodiques voltage-dépendants, les rendant ainsi moins disponibles pour la génération d'un potentiel d'action. Donc, il est possible que l'on retrouve des récepteurs AMPA, localisés non sur les terminaisons, mais sur l'axone des afférences fusoriales du NVmes et que leur activation pourrait bloquer la propagation des potentiels d'action le long de l'axone au même titre que l'activation des récepteurs GABA_A axonaux.

1.5 Expériences proposées

L'interprétation des résultats de cet article a reposé sur de nombreuses suppositions et certaines questions devront trouver réponses pour valider les idées avancées. Par exemple, il faudra déterminer si l'excitabilité des afférences parodontales du NVmes est modulée pendant la mastication fictive. Pour cette question précise, l'équipe Lund-Kolta prévoit répéter l'expérience de Westberg *et al.* (2000) en s'intéressant cette fois aux afférences parodontales. Toutefois, cette expérience se révèle encore plus ardue que la première car ces afférences sont beaucoup moins nombreuses que les afférences fusoriales et aussi parce qu'il est plus difficile de les activer de façon sélective, alors l'identification des unités risque d'être beaucoup plus incertaine. Il faudra déterminer si la compartimentalisation concerne autant ces afférences que les afférences fusoriales. Il faudrait identifier les populations de neurones qui causent la

décharge antidromique dans les afférences fusoriales. Il faudrait déterminer si les centres supérieurs sont requis pour ces changements d'excitabilité. Bref, une panoplie de questions qui ne trouveront certainement pas réponse en une ou deux études et qui nécessiteront prioritairement l'utilisation d'une préparation *in vivo*. Toutefois, certains éléments de réponses peuvent être obtenus dans la préparation de tranches de tronc cérébral utilisée dans cette étude. Par exemple, des expériences sont en cours actuellement, dans les laboratoires du Dr Kolta et du Dr Lund, qui visent à déterminer si une décharge orthodromique dans les afférences fusoriales trigéminales peut également être bloquée par l'activation de synapses GABAergique axonales. Ces expériences combinent une technique de patches simultanés de l'axone et du corps cellulaire avec des applications locales de GABA et pourraient même permettre de déterminer ce qui se passe réellement dans l'axone lorsque les synapses GABAergiques sont activées. Il va sans dire que cette expérience représente un niveau de difficulté extrêmement élevé.

Toutefois certaines expériences plus simples peuvent être réalisées qui peuvent permettre de répondre à quelques questions. Par exemple, notre étude ne nous a pas permis de déterminer avec certitude la localisation des contacts GABAergiques axonales en rapport à l'organisation de l'arbre axonal. En fait, la partie de l'étude dans laquelle nous avons combiné l'immunohistochimie contre le GABA avec la microscopie confocale avait été entreprise avec beaucoup d'optimisme dans le but de répondre à cet objectif. Toutefois, la pénétration limitée de l'anticorps dans le tissu combinée avec le fait que l'arbre axonal de ces neurones suit une trajectoire compliquée et n'est pas toujours au même niveau dorso-ventral que le corps cellulaire ont fait qu'il s'est avéré impossible de suivre l'axone d'une cellule particulière sur un long parcours à des

niveaux où l'immunoréactivité était constante. Cependant, les quelques cas où on a pu suivre l'axone sur un assez long parcours, suggèrent qu'il y a des fibres GABAergiques tout le long de l'axone au niveau des parties plus rostrales que l'on a pu examiner. Ce qui pourrait être intéressant, c'est de reprendre l'expérience des applications locales de GABA mais cette fois d'effectuer une lésion au site effectif de blocage à l'aide d'une électrode très fine après avoir injectée intracellulairement la cellule avec la neurobiotine. Il faudrait attendre 2 ou 3 heures après le remplissage de la cellule pour permettre au traceur de diffuser. Le site d'application de GABA peut rester marqué temporairement par l'ajout de fast-green dans la pipette de GABA. La prochaine étape serait de resectionner la tranche après l'avoir fixée. Pour augmenter les chances de récupérer les cellules, il faudrait viser surtout les cellules localisées au centre de la tranche et il serait intéressant d'effectuer plusieurs lésions dans des sites repères qui pourraient servir à l'alignement des coupes lors de la reconstruction. Dans ces expériences, il pourrait s'avérer plus intéressant d'utiliser l'alexa comme traceur rétrograde que le Dil car il n'est pas altéré par les procédures de révélation de la neurobiotine.

Il serait intéressant de vérifier si les neurones du PCRt- α et de NVspo- γ peuvent causer des potentiels d'action antidromiques dans les neurones du NVmes en effectuant des stimulations électriques et des applications locales de glutamate dans ces régions pendant qu'on enregistre intracellulairement dans les neurones du NVmes. Il ne sera pas possible de faire ces expériences sur des tranches transverses, il faudra donner un angle au bloc de tissu lors du sectionnement des tranches de telle sorte à avoir une tranche dont le bord dorsal est beaucoup plus rostral que la partie ventrale. La réponse obtenue devrait être un potentiel d'action tout ou rien non affecté par des injections de courant

dépolarisant et hyperpolarisant dans la cellule et qui devrait pouvoir être bloquée par une application de bicuculline ou de picrotoxine dans le bain. Il serait intéressant que les expériences utilisant les stimulations électriques pour évoquer les réponses soient effectuées en présence de DNQX et d'APV afin de s'assurer que la stimulation n'active pas un neurone excitateur qui lui contacte un neurone GABAergique d'une autre région. Au cours des expériences utilisant les applications locales de glutamate, il serait intéressant de vérifier en même temps si les afférences du NVmes ont des récepteurs glutamatergiques sur leurs terminaisons en répétant les applications de glutamate dans un milieu sans calcium lorsqu'un site effectif a été trouvé. Lee *et al.* (2002) ont trouvé des évidences suggérant la présence de récepteurs AMPA fonctionnels sur les terminaisons centrales d'une sous-population de neurones du DRG. Ils ont démontré que l'activation de ces récepteurs AMPA présynaptiques par une application exogène d'agonistes causait une inhibition de la libération de glutamate par les terminaisons.

Finalement, il serait intéressant de vérifier comment les applications locales de GABA et les stimulations des interneurons GABAergiques affectent la communication entre les cellules du NVmes et les motoneurons des muscles de fermeture de la mâchoire. Par exemple, pour démontrer que les synapses GABAergiques axonales peuvent effectivement permettre une compartimentalisation des neurones du NVmes, il pourrait se révéler intéressant de mettre une électrode d'enregistrement extracellulaire dans le NVmt pour vérifier ce qui se passe lorsque, par l'application localisée de GABA ou par les stimulations dans la région latérale de SupV ou dans NVsnpr, nous parvenons à empêcher la propagation du potentiel antidromique au corps cellulaire. Également il serait intéressant, à l'aide d'enregistrements intracellulaires dans les motoneurons de

fermeture de la mâchoire d'examiner comment les PPSEs évoqués par une stimulation dans le NVmes sont affectés par ces procédures. Il est certain qu'il faudra avant tout déterminer l'effet direct des applications locales de GABA et de la stimulation des interneurons du NVsnpr et de la partie latérale de SupV sur les motoneurons eux-mêmes.

2. INPUTS SYNAPTIQUES AUX NEURONES DU NVMES

Les résultats du deuxième article confirment les données anatomiques démontrant des contacts synaptiques sur les neurones du NVmes. Suite à des stimulations électriques dans SupV, NVsnpr, IntV et NVmt des PPSs ont été enregistrés dans des neurones du NVmes marqués par injection intracellulaire de neurobiotine. Ces réponses consistaient en des potentiels synaptiques monophasiques ou biphasiques dont certains ont pu être bloqués par l'application dans le bain de DNQX et/ou d'APV suggérant que ces réponses résultaient de l'activation des récepteurs glutamatergiques NMDA et non-NMDA. Des potentiels d'action synaptiques tout ou rien ont été obtenus qui représentaient probablement des inputs synaptiques sur le segment initial ou sur l'arbre axonal des cellules du NVmes. Certains de ces potentiels d'action ont pu être bloqués par l'application de bicuculline ou de DNQX suggérant qu'ils étaient médiés par l'activation des récepteurs GABA_A ou des récepteurs glutamatergiques non-NMDA. Trente-sept % des neurones enregistrés présentaient des oscillations membranaires et des décharges en bouffées spontanément ou lors d'injections de courant dépolarisant. Dans certains des neurones présentant cette propriété, les inputs synaptiques ont causé un rephasage et une augmentation de l'amplitude des oscillations suscitant même parfois

une décharge répétitive dans ces neurones. Ces effets des inputs synaptiques sur les oscillations membranaires impliquaient l'activation des récepteurs glutamatergiques non-NMDA, car ils ont pu être bloqués par des applications de DNQX dans le bain. Finalement, cette étude nous révèle l'existence de couplage électrotonique entre les neurones sensoriels et les interneurones du NVmes.

En définitive, il semble que les inputs synaptiques à ces neurones contribuent principalement à augmenter leur excitabilité. Donc, les résultats de l'étude n'ont pas permis de confirmer l'hypothèse émise par Kolta *et al.* (1990) et par Westberg *et al.* (2000) que l'inhibition phasique observée dans les afférences fusoriales trigéminales enregistrées dans le NVmes pendant la phase d'ouverture relevait d'une activité inhibitrice phasique exercée par le GPC masticatoire sur le soma des neurones du NVmes.

Les résultats de cette étude ont été discutés de façon relativement complète dans l'article. Alors dans cette discussion générale, l'emphase sera placée sur comment le GPC masticatoire pourrait agir, en utilisant les différents neurotransmetteurs contenus dans les boutons qui contactent les neurones du NVmes, sur le couplage électrotonique ainsi que sur les propriétés intrinsèques de ces neurones pour moduler leur excitabilité.

2.1 Modulation du couplage électrotonique

La présence de couplage électrotonique entre les cellules du NVmes a fréquemment été rapportée. De façon générale, les études rapportent l'occurrence

d'agrégats relativement importants pouvant contenir jusqu'à neuf cellules. Toutefois, de tels agrégats n'ont pas été observés dans la présente étude, et n'ont pas été rapportés dans d'autres études utilisant le marquage intracellulaire sur des tranches de tronc cérébral. Il est possible que cette situation soit imputable aux conditions expérimentales. Par exemple, certaines connexines qui forment les jonctions gap sont sensibles au voltage et il est possible que l'injection d'un fort courant dépolarisant tel que celui utilisé pour injecter le traceur dans les cellules tende à fermer ces jonctions. De fait, l'incidence du couplage peut être sous-estimée dans notre étude. En fait, certains enregistrements nous ont permis de déceler le couplage électrotonique par la présence de «spikelets» apparaissant spontanément ou avec une injection de courant dépolarisant dans des cas où le remplissage du neurone n'a pas révélé de couplage. L'une des fonctions du couplage c'est de favoriser une synchronisation de la décharge de toutes les cellules d'une population. Également, le couplage permet d'étendre les effets d'un input synaptique à tous les neurones d'un agrégat car il a été démontré que les potentiels postsynaptiques peuvent traverser les jonctions gap (De Miguel *et al.* 2001). Par conséquent, le couplage constitue une autre cible intéressante du GPC pour moduler l'excitabilité des cellules du NVmes. Plusieurs études effectuées dans d'autres régions du cerveau démontrent que le couplage peut être modulé par l'action de certains neurotransmetteurs (Hatton 1998 pour revue). Parmi ceux-ci, il a été démontré que la dopamine diminue le couplage entre les neurones du noyau accumbens et de la rétine via l'activation des récepteurs D1 (Dong et McReynolds 1991; Hampson *et al.* 1992; Mills et Massey 1995; O'Donnell et Grace 1993) et l'augmente dans ces mêmes structures via l'activation des récepteurs D2 (Dong et McReynolds 1991; O'Donnell et Grace 1993; Onn et Grace 1994). À cet égard, considérant la distribution différentielle des

récepteurs dopaminergiques D1 et D2 dans les régions rostrale et caudale du NVmes, l'effet d'un input dopaminergique aux neurones du NVmes tendrait à découpler les afférences fusoriales (localisées rostralement) et à coupler les afférences parodontales (localisées caudalement). Au bout du compte, un input dopaminergique aura comme résultat une amplification sélective du signal en provenance des afférences parodontales. La sérotonine diminue le couplage entre les cellules pyramidales du cortex pariétal via l'activation des récepteurs 5-HT₂ (Rörig et Sutor 1996) lesquels on le sait sont présents dans la membrane des cellules du NVmes. La noradrénaline diminue le couplage entre les neurones du néocortex via l'activation des récepteurs β (Rörig *et al.* 1995). Toutefois, la présence de ce récepteur n'a pas encore été démontré dans les neurones du NVmes. Le GABA, quant à lui, découple les neurones de l'olive inférieure via l'activation des récepteurs GABA_A (Lang *et al.* 1996). Toutefois, le GABA est hyperpolarisant dans les neurones de l'olive inférieure contrairement à son action dépolarisante sur les neurones du NVmes (Garifoli *et al.* 2001). Le glutamate module également le couplage en augmentant son incidence entre les neurones de l'olive inférieure et les cellules de Mauthner via l'activation des récepteurs NMDA (Hatton et Yang 1989; Yang *et al.* 1990; Pereda *et al.* 1996). Il semblerait selon ces études que c'est par l'augmentation de la concentration du calcium intracellulaire que cet effet est réalisé. Finalement, le NO produit une augmentation de l'incidence du couplage entre les neurones de l'olive inférieure (Yang et Hatton 1999). Ces différents neurotransmetteurs sont présents dans les terminaisons contactant les neurones du NVmes et peuvent donc contribuer à moduler l'excitabilité de ces neurones.

2.2 Modulation des propriétés intrinsèques des neurones du NVmes

Les propriétés intrinsèques des neurones du NVmes suggèrent que ce sont des cellules fortement équipées pour réagir à une hyperpolarisation ou une dépolarisation d'origine synaptique. Certaines des conductances qui soutendent ces propriétés peuvent être inhibées ou amplifiées sous l'influence de certains neurotransmetteurs et de ce fait constituent des cibles intéressantes pour le GPC en vue d'une modulation de l'excitabilité des neurones sensoriels du NVmes.

2.2.1 Modulation du courant I_h

Nous avons observé une rectification entrante à l'hyperpolarisation membranaire qui se manifeste sous la forme d'un sag dépolarisant dans plus de 95% des cellules enregistrées. Ce courant favorise une plus grande excitabilité cellulaire en permettant de contrecarrer l'hyperpolarisation et en générant un potentiel d'action rebond suite à une hyperpolarisation. Toutefois, s'il existe un neurotransmetteur capable d'hyperpolariser ces neurones qui aurait permis de recruter ce courant par le biais d'une hyperpolarisation d'origine synaptique, celui-ci n'a pas encore été identifié. Néanmoins, ce courant I_h est sollicité pendant la phase d'hyperpolarisation du potentiel d'action et une action modulatrice du GPC sur ce courant pourrait avoir un impact important sur la fréquence de décharge et l'excitabilité de ces neurones. Par exemple une des actions du GPC pourrait consister à modifier le seuil d'activation de ce courant pour le rendre actif au potentiel membranaire de repos et ainsi favoriser une plus grande excitabilité cellulaire. Pour rendre I_h opérant au potentiel de repos, une substance neuro-active donnée devrait

être en mesure de dévier la courbe d'activation de ce courant vers un niveau plus dépolarisé se rapprochant du potentiel de repos de la cellule. En fait, plusieurs études ont démontré que ce courant peut être modulé par l'action de certains neuro-modulateurs. Khakh et Hendersen (1998) ont démontré que l'application d'ATP γ S, un agoniste des récepteurs P2X, causait une inhibition de ce courant dans les neurones du NVmes. Cet effet pouvait être bloqué par une injection intracellulaire de BAPTA suggérant qu'il repose sur une entrée de calcium dans la cellule via les récepteurs P2X. L'inhibition de ce courant se traduit par un shift hyperpolarisant de 10mV de sa courbe d'activation ayant comme conséquence qu'une hyperpolarisation plus importante est requise pour l'activation du courant I_h suite à l'activation de ces récepteurs. Cette même équipe (Khakh *et al.* 1997) a démontré que l'activation des récepteurs P2X causait une augmentation de l'excitabilité cellulaire. Cela démontre qu'il est possible d'inhiber I_h et de quand même disposer de d'autres mécanismes pour augmenter l'excitabilité des neurones du NVmes. Khakh et Henderson (1997) ont démontré que l'application de forskolin (qui augmente l'AMPC) pouvait induire un shift dépolarisant de 5 mV de la courbe d'activation de I_h . Donc le neurotransmetteur ou le neuromodulateur qui pourrait produire une augmentation de ce courant doit être à même de produire une élévation de l'AMPC. Grafe *et al.* (1997), ont démontré la présence de canaux I_h sur l'axone des neurones sensoriels du nerf vague. De plus, il a été suggéré que la modulation de I_h dans les terminaisons des afférences primaires pouvait contribuer à une hyperalgésie (Ingram et Williams 1994, 1996). Il est donc tentant de présumer que ce courant pourrait être présent non seulement au corps cellulaire des neurones du NVmes, mais également sur l'axone et les terminaisons et pourrait être sujet à une modulation différentielle par le GPC à ces différents sites.

2.2.2 Modulation des oscillations membranaires

Quoique l'activité oscillatoire rencontrée dans les cellules du NVmes relève des propriétés intrinsèques de ces neurones, il est toutefois possible, étant donné sa dépendance au voltage, de moduler cette activité par une dépolarisation ou une hyperpolarisation d'origine synaptique. En fait, nos données confirment ce fait en démontrant que les oscillations peuvent être amplifiées et rephasées par un input glutamatergique et que cette modulation conduit à une augmentation de l'excitabilité des neurones du NVmes. Il est possible que d'autres neurotransmetteurs exercent l'effet contraire et contribuent à inhiber les neurones du NVmes en supprimant les oscillations. En fait, une activité oscillatoire similaire à celle retrouvée dans les cellules du NVmes a été observée dans les neurones de l'olive inférieure (Placantonakis *et al.* 2000) et il a été démontré que la sérotonine supprime ces oscillations via un effet sur les récepteurs 5-HT₂. Toutefois, Hsiao *et al.* (1997) ont démontré dans les motoneurones trigéminaux que la sérotonine causait une augmentation du courant I_{NAP} via ces mêmes récepteurs. Nous savons que le courant I_{NAP} est le principal courant responsable de la génération des oscillations dans les neurones du NVmes (Pedroarena *et al.* 1999; Wu *et al.* 2001). Par conséquent, on s'attendrait à une amplification des oscillations dans ces neurones avec la sérotonine. Toutefois, selon DeMontigny et Lund (1980), la sérotonine inhibe la décharge des afférences fusoriales du système trigéminal.

Il semble exister un lien entre le couplage électrotonique et les oscillations membranaires. En effet, selon une étude de Bleasel et Pettigrew (1992), dans les neurones de l'olive inférieure du rat, le décours temporel du développement des

oscillations du potentiel membranaire coïncide avec celui de la maturation des jonctions gap. Puisque la sérotonine inhibe le couplage électrotonique, il est possible que son effet sur les oscillations résulte de son effet sur le couplage. Également, puisque le glutamate affecte le couplage (Yang *et al.* 1990; Pereda *et al.* 1996), il se peut que l'augmentation de l'amplitude des oscillations et le rephasage observés dans notre étude viennent de ce que l'input glutamatergique augmente de façon transitoire l'incidence du couplage entre les neurones du NVmes. Il semble, selon ces deux études, que ce soit via l'activation des récepteurs NMDA que le glutamate cause une augmentation du couplage électrotonique. Toutefois, nous sommes parvenus à bloquer les effets de nos stimulations sur les oscillations par l'application de DNQX. Cette situation s'explique peut-être simplement par le fait que le blocage de la composante non-NMDA de notre input a eu un effet préventif sur l'activation des récepteurs NMDA en empêchant la dépolarisation nécessaire pour permettre le déblocage de ces récepteurs par les ions magnésium.

2.2.3 Modulation des propriétés d'accommodation

Les résultats de l'étude nous montrent qu'une majorité des neurones du NVmes montrent une accommodation de leur décharge pendant les dépolarisations membranaires. Souvent, cette accommodation s'accompagnait d'une difficulté à dépolariser ces cellules même avec des injections très importantes de courant. Le principal courant responsable de cette propriété selon l'étude de Del Negro et Chandler (1997) serait le courant sortant potassique I_{4-AP} . Ce courant contribue également à la phase repolarisante des oscillations membranaires. Ce courant représente donc une cible intéressante pour une action du CPG ayant pour but de moduler l'excitabilité des afférences fusoriales. Toutefois, les études portant sur la modulation des courants

potassiques sortants par les neurotransmetteurs dans les cellules neuronales n'ont pas été effectuées dans des conditions où le courant I_{4-AP} était isolé. Il est donc difficile de déterminer quel type d'input pourrait utiliser le GPC masticatoire pour moduler ce courant de façon spécifique et ainsi moduler l'accommodation de la décharge dans les neurones du NVmes. Selon Del Negro et Chandler (1997), certaines conditions pathologiques générées par une genèse anormale de potentiels d'action somatiques ou une décharge ectopique, telles que les dyskynésies tardives ou le bruxisme nocturne, pourraient résulter d'une modulation de ce courant.

2.3 Expériences proposées

Pour faire suite au projet amorcé dans cette étude, il faudrait continuer d'explorer les connections entre les cellules du NVmes et les noyaux adjacents par des stimulations dans diverses autres régions. Dans cette section, une démarche qui pourrait se révéler intéressante, serait d'exploiter différents plans de coupe. Les différents plans de coupe permettent de conserver des fractions distinctes du réseau neuronal responsable de la mastication. Par exemple, une coupe sagittale, permet de conserver des structures rostrales et caudales au NVmes qui peuvent se révéler des sources importantes d'inputs synaptiques à ce noyau et qui se trouvent à être perdues dans les coupes transversales que nous employons actuellement. De plus, même quand certaines structures sont conservées dans deux plans de coupe différents, l'intégrité de certaines connections peut être mieux préservée dans un plan que dans un autre. Un plan de coupe horizontal comportant sur une même tranche les noyaux moteurs V, VII et XII développé par Anaïs Laudry-Schoënbeck, une ancienne étudiante en stage d'été au laboratoire du Dr Kolta, se

révèle particulièrement intéressant. Ce plan de coupe permettrait d'investiguer la relation entre les afférences du NVmes et les motoneurones de l'hypoglosse. En effet, nous savons que les afférences fusoriales du NVmes projettent au NXII (Zhang *et al.* 2001, 2003) et il existe des évidences électrophysiologiques que les afférences fusoriales et parodontales du NVmes modulent l'activité des motoneurones de l'hypoglosse (Tolu *et al.* 1994). Un plan de coupe qui inclurait les neurones dopaminergiques de la substance noire pourrait également se révéler d'un grand intérêt étant donné la distribution différentielle des récepteurs dopaminergiques D₁ et D₂ sur les afférences fusoriales et parodontales du NVmes. Les expériences sur ces coupes devraient être effectuées sur des tranches dans lesquelles les afférences fusoriales et les afférences parodontales sont marquées rétrogradement par deux traceurs différents selon une technique développée au laboratoire du Dr Kolta. Par la suite, il sera possible d'intégrer les données obtenues par l'utilisation de ces différents plans de coupes pour tenter de reconstituer le réseau des connections impliquant le NVmes. Certaines de nos données préliminaires démontrent l'occurrence de potentiels postsynaptiques suite à la stimulation électrique du raphé et du PAG deux régions qui gagnent à être exploitées en raison de leur implication dans le contrôle des mouvements de la mâchoire (Oliveras *et al.* 1974; Sessle et Hu 1981; Sessle *et al.* 1981). Il faudrait, au cours des expériences, examiner comment la stimulation répétitive de certaines régions module les propriétés intrinsèques des neurones du NVmes, particulièrement les oscillations membranaires. Également, il faudra vérifier l'effet des réponses synaptiques sur les réponses antidromiques évoquées par des stimulations dans les régions contenant les projections centrales de ces neurones. Il serait intéressant aussi de vérifier l'effet des stimulations électriques dans différentes régions sur une décharge orthodromique générée par une

injection de courant dépolarisant. En effet, nous avons quelques données préliminaires démontrant que certaines stimulations qui n'évoquaient aucune réponse postsynaptique perceptible semblaient être en mesure toutefois de stopper une décharge induite par injection de courant dépolarisant. Il faudrait vérifier également si l'utilisation d'un agent découpleur prévient les effets d'amplification et de rephasage des inputs synaptiques sur l'activité oscillatoire. À ce sujet, des expériences de doubles enregistrements en patch pourraient se révéler très intéressantes pour vérifier l'effet des différents inputs sur la synchronisation des décharges entre les neurones du NVmes. Finalement, les interneurons du noyau gagnent à être étudiés puisqu'ils sont connectés électrotoniquement et synaptiquement aux neurones sensoriels du NVmes. Là encore, les expériences devraient être effectuées en patch en microscopie infrarouge pour s'assurer de viser sélectivement ces neurones.

3. CONTRIBUTIONS DE L'ÉTUDE ET CONCLUSION

En conclusion, les résultats des deux études démontrent que l'excitabilité des neurones sensoriels primaires du NVmes peut être centralement modulée via des inputs sur le corps cellulaire et sur l'axone de ces cellules. Spécifiquement, les résultats de la première étude démontrent que les inputs GABAergiques en provenance d'interneurones locaux sur les axones centraux contrôlent la propagation des potentiels d'action le long de l'arbre axonal de ces neurones. Ces résultats confirment l'hypothèse émise par Westberg *et al.* (2000) que les potentiels d'action antidromiques générés au niveau des projections centrales n'atteignent pas le corps cellulaire des afférences fusoriales en raison d'un contrôle synaptique actif de nature GABAergique exercé sur l'axone. Un tel contrôle synaptique pourrait avoir comme conséquence fonctionnelle de

compartimentaliser ces cellules sensorielles de telle sorte que l'axone central pourrait fonctionner comme un interneurone qui relaie l'excitation transmise au niveau des terminaisons aux motoneurones trigéminaux alors que les autres parties du neurone continuent d'acheminer l'information sensorielle en provenance de la périphérie. Une telle compartimentalisation préviendrait également l'invasion de la branche périphérique de l'axone par l'excitation transmise au niveau des terminaisons centrales. La deuxième étude, d'autre part, fournit la première description physiologique de réponses postsynaptiques dans des neurones sensoriels primaires et corrobore les données anatomiques démontrant des contacts synaptiques sur les neurones du NVmes. Les résultats de cette étude nous démontrent que les inputs synaptiques au corps cellulaire ont comme impact majeur de déclencher des potentiels d'action, d'amplifier les oscillations membranaires et d'induire des décharges répétitives dans ces neurones. Ces comportements, à la base, relèvent des propriétés intrinsèques de ces neurones et, dans les neurones des GRDs, de tels comportements (décharges ectopiques, oscillations et décharges répétitives) ont été associés à la douleur neuropathique du fait que leur incidence augmente dans les afférences primaires myélinisées de gros calibre quand les nerfs cutanés sont endommagés. La démonstration apportée dans la deuxième étude que les inputs synaptiques peuvent moduler l'activité oscillatoire et les propriétés de décharge de ces neurones lorsque considérée à la lumière de la contribution de ces propriétés au développement de la douleur neuropathique soulève la possibilité que les afférences fusoriales du NVmes pourraient être impliquées dans le traitement de l'information nociceptive. En définitive, les résultats des deux études s'additionnent aux données existantes actuellement sur l'innervation synaptique des neurones du NVmes et sur les évidences physiologiques d'une modulation de leur excitabilité pendant la

mastication fictive pour révéler un tableau complexe qui reflète probablement le fait que ces neurones jouent un rôle plus important que celui de transmetteurs passifs de l'information générée en périphérie mais pourraient, en fait, faire partie de la circuiterie qui génère la mastication. Il reste, toutefois, encore beaucoup de questions à répondre pour être vraiment en mesure de saisir les différents aspects de la modulation de l'excitabilité des afférences fusoriales du NVmes ainsi que leurs implications fonctionnelles. Néanmoins, une telle investigation peut se révéler extrêmement fructueuse, car la position de ces neurones sensoriels primaires à l'intérieur du système nerveux central constitue un atout majeur à exploiter afin de comprendre comment s'effectue l'intégration sensori-motrice. Également, une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans la régulation de l'excitabilité des neurones sensoriels primaires du NVmes peut contribuer à un meilleur discernement des voies d'action à exploiter pour le traitement des pathologies associées à des dysfonctions au sein du système trigéminal.

RÉFÉRENCES

1. Alley, K.E., 1973. Quantitative analysis of the synaptogenic period in the trigeminal mesencephalic nucleus. *Anat. Rec.* 177, 49-60.
2. Amir R, Michaelis M, Devor M (1999) Membrane potential oscillations in dorsal root ganglion neurons: role in normal electrogenesis and neuropathic pain. *J Neurosci* 19: 8589-8596.
3. Amir R, Michaelis M, Devor M (2002) Burst discharge in primary sensory neurons: triggered by subthreshold oscillations, maintained by depolarizing afterpotentials. *J Neurosci* 22: 1187-98.
4. Angelucci A, Clasca F, Sur M (1996) Anterograde axonal tracing with the subunit B of cholera toxin : a highly sensitive immunohistochemical protocol for revealing fine axonal morphology in adult and neonatal brain. *J Neurosci Meth* 65: 101-112.
5. Appenteng K, Conyers L, Curtis J, Moore JA (1990) Monosynaptic connexions of single V interneurons to the contralateral motor nucleus in anaesthetised rats. *Brain Res* 514: 128-130.
6. Appenteng K, Curtis JC, Grimwood PD, Min MY, Yang HW (1995) Modulation of transmission in reflex pathways of trigeminal motoneurons. In: Taylor A, Gladden MH, Durbaba R, editors. *Alpha and gamma motor system*. New York Plenum Press, p 29-36.
7. Appenteng K, Donga R, Williams RG (1985) Morphological and electrophysiological determination of the projections of jaw-elevator muscle spindle afferents in rats. *J Physiol* 369: 93-113.

8. Appenteng K, Girdlestone D (1987) Transneuronal transport of wheat germ agglutinin-conjugated horseradish peroxidase into trigeminal interneurons of the rat. *J Comp Neurol* 258: 387-396.
9. Appenteng K, Lund JP, Seguin JJ (1982) Intraoral mechanoreceptor activity during jaw movement in the anesthetized rabbit. *J Neurophysiol* 48: 27-37.
10. Appenteng K, Lund JP, Seguin JJ (1982) Behavior of cutaneous mechanoreceptors recorded in mandibular division of Gasserian ganglion of the rabbit during movements of lower jaw. *J Neurophysiol* 47: 151-166.
11. Appenteng K, Morimoto K, Taylor A (1980) Fusimotor activity in masseter nerve of the cat during reflex jaw movement. *J Physiol (London)* 305: 415-431.
12. Appenteng K, O'Donovan MJ, Somjen G, Stephens JA, Taylor A (1978) The projection of jaw elevator muscle spindle afferents to fifth nerve motoneurons in the cat. *J Physiol* 279: 409-23.
13. Arvidsson U, Ulfhake B, Cullheim S, Shupliakov O, Brodin E, Frank J, Bennett GW, Fone KCF, Visser TJ, Hokfelt T (1992) Thyrotropin-releasing hormone (TRH)-like immunoreactivity in the grey monkey (*Macaca fascicularis*) spinal cord and medulla oblongata with special emphasis on the bulbospinal tract. *J Comp Neurol* 321: 1-18.
14. Babic N, Mettenleiter T, Ugolini G, Flamand A, Coulon P (1994) Propagation of pseudorabies virus in the nervous system of the mouse after intranasal inoculation. *Virology* 204: 616-625.
15. Bae YC, Ihn HJ, Park MJ, Ottersen OP, Moritani M, Yoshida A, Shigenaga Y (2000) Identification of signal substances in synapses made between primary

- afferents and their associated axon terminals in the rat trigeminal sensory nuclei. *J Comp Neurol* 418: 299-309.
16. Bae YC, Nakagawa S, Yabuta NH, Yoshida A, Park KP, Moritani M, Chen K, Nagase Y, Takemura M, Shigenaga Y (1996) Electron microscopic observation of synaptic connections of jaw-muscle spindle and periodontal afferent terminals in the trigeminal motor and supratrigeminal nuclei in the cat. *J Comp Neurol* 374:421-435.
 17. Bae YC, Nakamura T, Ihn HJ, Choi MH, Yoshida A, Moritani M, Honma S, Shigenaga Y (1999) Distribution pattern of inhibitory and excitatory synapses in the dendritic tree of single masseter α -motoneurons in the cat. *J Comp Neurol* 414: 454-468.
 18. Bae YC, Park KP, Yoshida A, Nakagawa S, Kurata S, Chen K, Takemura M, Shigenaga Y (1997) Identification of γ -aminobutyric acid-immunoreactive axon endings associated with mesencephalic periodontal afferent terminals and morphology of the two types of terminals in the cat supratrigeminal nucleus. *J Comp Neurol* 389:127-138.
 19. Baker R, Llinas R (1971) Electrotonic coupling between neurones in the rat mesencephalic nucleus. *J Physiol* 212: 45-63.
 20. Bartrup JT, Newberry NR (1996) Electrophysiological consequences of ligand binding to the desensitized 5-HT₃ receptor in mammalian NG108-15 cells. *J Physiol* 490: 679-90. Basbaum A, Fields HL (1978) Endogenous pain control mechanisms: Review and hypothesis. *Ann Neural* 4: 451-462.
 21. Ben-Ari Y (2002) Excitatory action of GABA during development: the nature of the nurture *Nature Neurosci Reviews* 3: 728-738.

22. Bleasel AF, Pettigrew AG (1992) Development and properties of spontaneous oscillations of the membrane potential in inferior olivary neurons in the rat. *Brain Res Dev Brain Res* 65: 43-50.
23. Bonaventure P, Voorn P, Luyten WHML, Leysen JE (1998a) 5HT1B and 5HT1D receptor mRNA differential co-localization with peptide mRNA in the guinea pig trigeminal ganglion. *Neuroreport* 9: 641-645.
24. Bourque M-J, Kolta A (2001) Properties and interconnections of trigeminal interneurons of the lateral pontine reticular formation in the rat. *J Neurophysiol* 86: 2583-2596.
25. Boyd LA (1985) Review. In: *The Muscle Spindle*. Boyd IA and Gladden MH (eds). London, Macmillan, pp. 129-150.
26. Brandt HM, Apkarian AV (1992) Biotin-dextran : a sensitive anterograde tracer for neuroanatomic studies in rat and monkey. *J Neurosci Meth* 45: 35-40.
27. Bremer F (1923) Physiologie nerveuse de la mastication chez le chat et le lapin. *Archs Internal Physiol* 21: 308-352.
28. Brodal A, Szabo T, Torvik A (1956) Corticofugal fibers to sensory trigeminal nuclei and nucleus of solitary tract; an experimental study in the cat. *J Comp Neurol* 106: 527-55.
29. Brodal P, Mihailoff G, Border B, Ottersen OP, Storm-Mathisen J (1988) GABA-containing neurones in the pontine nuclei of rat, cat and monkey. An immunocytochemical study *Neuroscience* 25: 27-45.
30. Buell G, Lewis C, Collo G, North RA, Surprenant A (1996) An antagonist-insensitive P2X receptor expressed in epithelia and brain. *EMBO J* 15: 55-62.

31. Buisseret-Delmas C, Pinganaud G, Compoin C, Buisseret P (1997) Projection from trigeminal nuclei to neurons of the mesencephalic trigeminal nucleus in rat. *Neurosci Lett* 229: 189-192.
32. Byers MR (1985) Sensory innervation of periodontal ligament of rat molars consists of unencapsulated Ruffini-like mechanoreceptors and free nerve endings. *J Comp Neurol* 231: 500-18.
33. Byers MR, Dong WK (1989) Comparison of trigeminal receptor location and structure in the periodontal ligament of different types of teeth from the rat, cat, and monkey. *J Comp Neurol* 279: 117-127.
34. Byers MR, O'Connor TA, Martin RF, Dong WK (1986) Mesencephalic trigeminal sensory neurons of cat: axon pathways and structure of mechanoreceptive endings in periodontal ligament. *J Comp Neurol* 250: 181-91.
35. Capra NF, Anderson KV, Atkinson RC (1985) Localization and morphometric analysis of masticatory muscle afferent neurons in the nucleus of the mesencephalic root of the trigeminal nerve in the cat. *Acta Anat* 122: 115-125.
36. Capra NF, Anderson KV, Pride JB, Jones TJE (1984) Simultaneous demonstration of neuronal somata that innervate the tooth pulp and adjacent periodontal tissues, using two retrogradely transported anatomic markers. *Exp Neurol* 86: 165-170.
37. Cattaert D, el Manira A (1999) Shunting versus inactivation: analysis of presynaptic inhibitory mechanisms in primary afferents of the crayfish. *J Neurosci* 19: 6079-6089.

38. Cattaert D, Libersat F, el Manira A (2001) Presynaptic inhibition and antidromic spikes in primary afferents of the crayfish: a computational and experimental analysis. *J Neurosci* 21: 1007-1021.
39. Cattaert D, el Manira A, Clarac F (1994) Chloride conductance produces both presynaptic inhibition and antidromic spikes in primary afferents. *Brain Res* 666: 109-112.
40. Champagnat J, Fortin G (1997) Primordial respiratory like rhythm generation in the vertebrate embryo. *Trends Neurosci* 20: 119-124.
41. Chandler SH (1989) Evidence for excitatory amino acid transmission between mesencephalic nucleus of V afferent and jaw closer motoneurons in the guinea pig. *Brain Res* 477: 252-264.
42. Chandler SH, Goldberg LJ (1984) Differentiation of the neural pathways mediating cortically induced and dopaminergic activation of the central pattern generator (CPG) for rhythmical jaw movements in the anesthetized guinea pig. *Brain Res* 323: 297-301.
43. Chandler SH, Goldberg LJ, Alba B (1985) Effects of a serotonin agonist and antagonist on cortically induced rhythmical jaw movements in the anesthetized guinea pig. *Brain Res* 334: 201-6.
44. Chandler SH, Hsiao C-F, Inoue T, Goldberg LJ (1994) Electrophysiological properties of guinea pig trigeminal motoneurons recorded in vitro. *J Neurophysiol* 1: 129-145.
45. Chandler SH, Tal M (1986) The effects of brain stem transections on the neuronal networks responsible for rhythmical jaw muscle activity in the guinea pig. *J Neurosci* 6: 1831-42.

46. Chandler SH, Trueblood PR (1995) Pharmacological mechanisms controlling trigeminal motoneuronal excitability. In: *Brain and Oral Function: Oral Motor Function and Dysfunction*, edited by Morimoto T, Matsuya T and Takada K. Amsterdam: Elsevier, p. 99-105.
47. Chase M, McGinty DJ (1970) Modulation of spontaneous and reflex activity of the jaw musculature by orbital cortical stimulation in the freely moving cat. *Brain Res* 19: 117-126.
48. Chen P, Li J-L, Li J-S, Mizuno N (2001) Glutamic acid decarboxylase-like immunoreactive axon terminals in synaptic contact with mesencephalic trigeminal nucleus neurons in the rat. *Neurosci Lett* 298: 167-170.
49. Cody FWJ, Harrison LM, Taylor A (1975) Analysis of activity of muscle spindles of the jaw-closing muscles during normal movements in the cat. *J Physiol (Lond.)* 253: 565-582.
50. Cody FWJ, Lee RWH, Taylor A (1972) A functional analysis of the components of the mesencephalic nucleus of the fifth nerve in the cat. *J Physiol (Lond.)* 226: 249-261.
51. Colonnier M, Steriade MM, Landry P (1979) Selective resistance of sensory cells of the mesencephalic trigeminal nucleus to kainic acid-induced lesions. *Brain Res* 172: 552-556.
52. Conradi S, Cullheim S, Gollvik L, Kellerth J-O (1983) Electron microscopic observations on the synaptic contacts of group Ia muscle spindle afferents in the cat lumbosacral spinal cord. *Brain Res* 265: 31-39.
53. Cook SP, Vulchanova L, Hargreaves KM, Elde R, McCleskey EW (1997) Distinct ATP receptors on pain-sensing and stretch-sensing neurons. *Nature* 387: 505-508.

54. Copray JCVM, Liem RSB, Ter Horst GJ, Van Willigen JD (1990a) Dopaminergic afferents to the mesencephalic trigeminal nucleus of the rat: a light and electron microscope immunocytochemistry study. *Brain Res* 514: 343-348.
55. Copray JCVM, Liem RSB, Ter Horst GJ, Van Willigen JD (1991) Origin, distribution and morphology of serotonergic afferents to the mesencephalic trigeminal nucleus of the rat *Neurosci Lett* 121: 97-101.
56. Copray JCVM, Liem RSB, Van Willigen JD (1990b) Morphological arrangement between astrocytes and trigeminal mesencephalic primary afferent neurons in the rat. *Exp Brain Res* 83: 215-218.
57. Copray JCVM, Ter Horst GJ, Liem RSB, Van Willigen JD (1990c) Neurotransmitters and neuropeptides within the mesencephalic trigeminal nucleus of the rat: an immunohistochemical analysis. *Neuroscience* 37: 399-411.
58. Cornea-Hebert V, Riad M, Wu C, Singh SK, Descarries L (1999) Cellular and subcellular distribution of the serotonin 5-HT_{2A} receptor in the central nervous system of adult rat. *J Comp Neurol* 409:187-209.
59. Curtis JC, Appenteng K (1993) The electrical geometry, electrical properties and synaptic connections onto rat V motoneurons in vitro. *J Physiol* 465: 85-119.
60. Darian-Smith I, Yokota T (1966) Corticofugal effects on different neuron types within the cat's brain stem activated by tactile stimulation of the face. *J Neurophysiol* 29: 185-206.
61. De Montigny C, Lund JP (1980) A microiontophoretic study of the action of kainic acid and putative neurotransmitters in the rat mesencephalic trigeminal nucleus. *Neuroscience* 5: 1621-1628.

62. Del Negro CA, Chandler SH (1997) Physiological and theoretical analysis of k^+ currents controlling discharge in neonatal rat mesencephalic trigeminal neurons. *J Neurophysiol* 77: 537-553.
63. Dellow PG, Lund JP (1971) Evidence for central timing of rhythmical mastication. *J Physiol* 215: 1-13.
64. De-Miguel FF, Vargas-Caballero M, Garcia-Perez E (2001) Spread of synaptic potentials through electrical synapses in Retzius neurones of the leech. *J Exp Biol* 204: 3241-50.
65. Descarries L, Berthelet F, Garcia S, Beaudet A (1986) Dopaminergic projection from nucleus raphe dorsalis to neostriatum in the rat. *J Comp Neurol* 249: 511-520.
66. Dessem D, Dong R, Luo P (1997) Primary- and secondary-like jaw-muscle spindle afferents have characteristic topographic distributions. *J Neurophysiol* 77: 2925-2944.
67. Dessem D, Luo P (1999) Jaw-muscle spindle afferent feedback to the cervical spinal cord in the rat. *Exp Brain Res* 128: 451-9.
68. Dessem D, Taylor A (1989) Morphology of jaw-muscle spindle afferents in the rat. *J Comp Neurol* 282: 389-403.
69. Destombes J, Horcholle-Bossavit G, Simon M, Thiesson D (1996) GABA-like immunoreactive terminals on lumbar motoneurons of the adult cat. A quantitative ultrastructural study. *Neurosci Res* 24: 123-30.
70. Dong C-J, McReynolds JS (1991) The relationship between light, dopamine release and horizontal cell coupling in the mudpuppy retina. *J Physiol* 440: 291-309.

71. Donga R, Dubuc R, Kolta A, Lund JP (1992) Evidence that the masticatory muscles receive a direct innervation from cell group k in the rabbit. *Neuroscience* 49: 951-61.
72. Donga R, Lund JP (1991) Discharge patterns of trigeminal commissural last-order interneurons during fictive mastication in the rabbit. *J Neurophysiol* 66:1564-1578.
73. Donga R, Lund JP, Veilleux D (1990) An electrophysiological study of trigeminal commissural interneurons in the anaesthetized rabbit. *Brain Res* 515: 351-354.
74. Dubner R, Sessle BJ, Storey AT (1978) Jaw, facial, and tongue reflexes, in: *The Neural Basis of Oral and Facial Function*, Plenum Press, New York, pp. 246-310.
75. Dubuc R, Cabelguen J-M, Rossignol S (1985) Rhythmic antidromic discharges of single primary afferents recorded in cut dorsal root filaments during locomotion in the cat. *Brain Res* 359: 375-378.
76. Dubuc R, Cabelguen JM, Rossignol S (1988) Rhythmic fluctuations of dorsal root potentials and antidromic discharges of primary afferents during fictive locomotion in the cat. *J Neurophysiol* 60: 2014-36.
77. Duchen MR (1986) Excitation of mouse motoneurons by GABA-mediated primary afferent depolarization. *Brain Res* 379: 182-7.
78. Eccles JC, Eccles RM, Magni F (1961) Central inhibitory action attributable to presynaptic depolarization produced by muscle afferent volleys. *J Physiol* 159: 147-166.
79. Eisenman J, Landgren S, Novin D (1963) Functional organization in the main sensory trigeminal nucleus and in the rostral subdivisions of the nucleus of the spinal trigeminal tract in the cat. *Acta Physiol Scand* 59: 1-44.

80. Enomoto S, Katakura N, Sunada T, Katayama T, Hirose Y, Ishiwata Y, Nakamura Y (1987) Cortically induced masticatory rhythm in masseter motoneurons after blocking inhibition by strychnine and tetanus toxin. *Neurosci Res* 4: 396-412.
81. Enomoto S, Kohase H, Nakamura Y (1995) Dual brain stem projection from the cortical masticatory area in guinea-pig. *NeuroReport* 6: 1573-1577.
82. Enomoto S, Schwartz G, Lund JP (1987) The effects of cortical ablation on mastication in the rabbit. *Neurosci Lett* 82: 162-166.
83. Fay RA, Norgren R (1997a) Identification of rat brainstem multisynaptic connections to the oral motor nuclei using pseudorabies virus I. Facial muscle motor systems. *Brain Res Rev* 25: 276-290.
84. Fay RA, Norgren R (1997b) Identification of rat brainstem multisynaptic connections to the oral motor nuclei using pseudorabies virus I. Lingual muscle motor systems. *Brain Res Rev* 25: 291-311.
85. Fay RA, Norgren R (1997c) Identification of rat brainstem multisynaptic connections to the oral motor nuclei using pseudorabies virus I. Masticatory muscle motor systems. *Brain Res Rev* 25: 255-275.
86. Feltz P, Rasminsky M (1974) A model for the mode of action of GABA on primary afferent terminals: depolarizing effects of GABA applied iontophoretically to neurones of mammalian dorsal root ganglia. *Neuropharmacology* 13: 553-563.
87. Ferrier D (1986) *The Function of the Brain*, 2nd ed., Smith & Elder & Co., London.
88. Foerster O (1931) The cerebral cortex in man. *Lancet* 221: 309.

89. Fornal CA, Metzler CW, Marrosu F, Ribiero-do-Valle LE, Jacobs BL (1996) A subgroup of dorsal raphe serotonergic neurons in the cat is strongly activated during oral-buccal movements. *Brain Res* 716: 123-133.
90. Forssberg H, Grillner S, Rossignol S (1975) Phase dependent reflex reversal during walking in chronic spinal cats. *Brain Res* 85: 103-107.
91. Fort P, Luppi, P-H, Jouvét, M (1994) Afferent to the nucleus reticularis parvicellularis of the cat medulla oblongata: a tract-tracing study with cholera toxin B subunit. *J Comp Neurol* 342: 603-618.
92. Fort P., Luppi P-H., Sakai K., Salvat D., Jouvét M. (1990) Nuclei of origin of monoaminergic, peptidergic, and cholinergic afferents to the cat trigeminal motor nucleus: A double-labeling study with cholera-toxin as a retrograde tracer. *J Comp. Neurol.* 301: 262-275.
93. Frank K, Fuortes MG (1957) Presynaptic and postsynaptic inhibition of monosynaptic reflexes. *Fed Proc* 16: 39-40..
94. Funakoshi M, Amano N (1974) Periodontal jaw reflexes in the albino rat. *J Dent Res* 53 : 598-605.
95. Fyffe REW, Light AR (1984) The ultrastructure of group Ia afferent fiber synapses in the lumbosacral spinal cord of the cat. *Brain Res* 300: 201-209.
96. Gallagher JP, Higashi H, Nishi S (1978) Characterization and ionic basis of GABA-induced depolarizations recorded in vitro from cat primary afferent neurones. *J Physiol.* 275: 263-282.
97. Garifoli A, Scardilli G, Perciavalle V. (2001) Effects of cerebellar dentate nucleus GABAergic cells on rat inferior olivary neurons. *Neuroreport.* 12:3709-13.

98. Ginestal E, Matute C (1993) Gamma-aminobutyric acid-immunoreactive neurons in the rat trigeminal nuclei. *Histochemistry* 99: 49-55.
99. Gladden MH (1976) Structural features relative to the function of intrafusal muscle fibres in the cat. *Prog Brain Res* 44: 51-59.
100. Gladden MH, McWilliam PN (1977) The activity of intrafusal muscle fibres during cortical stimulation in the cat. *J Physiol (Lond.)* 273: 8-29.
101. Glenn Hatton (1998) Synaptic modulation of neuronal coupling
102. Gobel S (1971) Structural organization of the main sensory nucleus. In : Oral-facial sensory and motor mechanism. R Dubner and Y Kawamura (eds) pp 183-204. Appleton-Century-Crofts. New York.
103. Goldberg LJ (1971) Masseter muscle excitation induced by stimulation of periodontal and gingival receptors in man. *Brain Res* 32: 369-381.
104. Goldberg LJ, Chandler SH, Tal M (1982) Relationship between jaw movements and trigeminal motoneuron membrane-potential fluctuations during cortically induced rhythmical jaw movements in the guinea pig. *J Neurophysiol* 48: 110-125.
105. Goldberg LJ, Nakamura Y (1968) Lingually induced inhibition of masseteric motoneurons. *Experientia* 24: 371-373.
106. Goldberg LJ, Tal M (1978) Intracellular recording in trigeminal motoneurons of the anesthetized guinea pig during rhythmic jaw movements. *Exp Neurol* 1: 102-110.
107. Goodwin GM, Hoffman DS, Luschei ES (1978) The strength of the reflex response to sinusoidal stretch of monkey jaw closing muscles during voluntary contraction. *J Physiol (Lond)* 275: 81-111.

108. Goodwin GM, Luschei ES (1974) Effects of destroying spindle afferents from the jaw muscles on mastication in monkeys. *J Neurophysiol* 37: 967-981.
109. Goodwin GM, Luschei ES (1975) Discharge of spindle afferents from jaw-closing muscles during chewing in alert monkeys. *J Neurophysiol* 38: 560-571.
110. Gossard JP (1996) Control of transmission in muscle group 1A afferents during fictive locomotion in the cat. *J Neurophysiol* 76: 4104-4112.
111. Gossard JP, Bouyer L, Rossignol S (1999) The effects of antidromic discharges on orthodromic firing of primary afferents in the cat. *Brain Res* 825: 132-145.
112. Gossard JP, Cabelguen JM, Rossignol S (1989) Intra-axonal recordings of cutaneous primary afferents during fictive locomotion in the cat. *J Neurophysiol* 62: 1177-88.
113. Gossard JP, Cabelguen J-M, Rossignol S (1991) An intracellular study of muscle primary afferents during fictive locomotion in the cat. *J Neurophysiol* 65: 914-926.
114. Gottlieb S, Taylor A (1983) Interpretation of fusimotor activity in cat masseter nerve during reflex jaw movements. *J Physiol (London)* 345: 423-438.
115. Gottlieb S, Taylor A, Bosley MA (1984) The distribution of afferent neurones in the mesencephalic nucleus of the fifth nerve in the cat. *J Comp Neurol* 228: 273-283.
116. Grafe P, Quasthoff S, Grosskreutz J, Alzheimer C (1997) Function of the hyperpolarization-activated inward rectification in nonmyelinated peripheral rat and human axons. *J Neurophysiol* 77: 421-6.
117. Gray EG (1962) A morphological basis for pre-synaptic inhibition. *Nature* 193: 82-83.

118. Grill HJ, Kaplan J.M (1990) Caudal brainstem participates in the distributed neural control of feeding, in: *Handbook of Behavioral Neurobiology*. Stricker E (Ed.) Plenum Press, New York, pp. 125–149.
119. Grillner S (1981) Control of locomotion in bipeds, tetrapods, and fish. In *Handbook of Physiology, Section I: The Nervous System. Vol. 2*, J. M. Brookhart and V. B. Mountcastle, eds., Williams and Wilkins, Baltimore.
120. Grimwood PD, Appenteng K, Curtis JC (1992) Monosynaptic EPSPs elicited by single interneurons and spindle afferents in trigeminal motoneurons of anaesthetised rats. *J Physiol (Lond)* 455: 641-662.
121. Grzanna R, Chee WK, Akeyson EW (1987) Noradrenergic projections to the brainstem nuclei: evidence for differential projections from noradrenergic subgroups. *J Comp Neurol*. 263: 76-91.
122. Hampson ECGM, Vaney DI, Weiler R (1992) Dopaminergic modulation of gap junction permeability between amacrine cells in mammalian retina. *J Neurosci* 12: 4911–4922.
123. Hannam AG, Matthews B (1969) Reflex jaw opening in response to stimulation of periodontal mechanoreceptors in the cat. *Arch Oral Biol* 14: 415.
124. Hannam AG, Matthews B, Yemm R (1970) Receptors Involved in the Response of the Masseter Muscle to Tooth Contact in Man. *Arch Oral Biol* 15:17-24.
125. Harrisson F, Corbin KB (1941) The Central Pathway for the Jaw-Jerk. *Am J Physiol* 135: 439-445.
126. Harris-Warrick RM (1988) Chemical modulation of central pattern generators. In: *Neural Control of Rhythmic Movements in Vertebrates*, edited by A. H. Cohen, S. Rossignol, and S. Grillner. New York: Wiley, p. 285-331.

127. Hashimoto N, Katayama T, Ishiwata Y, Nakamura Y (1989) Induction of rhythmic jaw movements by stimulation of the mesencephalic reticular formation in the guinea pig. *J Neurosci* 9: 2887-2901.
128. Hassanali J (1997) Quantitative and somatotopic mapping of neurones in the trigeminal mesencephalic nucleus and ganglion innervating teeth in monkey and baboon. *Arch Oral Biol* 42: 673-682.
129. Hatton GI (1998) Synaptic modulation of neuronal coupling. *Cell Biol Int* 22: 765-80.
130. Hayar A, Poulter MO, Pelkey K, Feltz P, Marshall KC (1997) Mesencephalic trigeminal neuron responses to gamma-aminobutyric acid. *Brain Res* 753: 120-127.
131. Hayashi H, Sumino R, Sessle BJ (1984) Functional organization of trigeminal subnucleus interpolaris: nociceptive and innocuous afferent inputs, projections to thalamus, cerebellum, and spinal cord, and descending modulation from periaqueductal gray. *J Neurophysiol* 57: 890-905.
132. Henderson G, Pepper CM, Shefner SA (1982) Electrophysiological properties of neurones contained in the locus coeruleus and mesencephalic nucleus of the trigeminal nerve in vitro. *Exp Brain Res* 45: 29-37.
133. Hidaka O, Morimoto T, Kato T, Masuda Y, Inoue T, Takada K (1999) Behavior of jaw muscle spindle afferents during cortically induced rhythmic jaw movements in the anesthetized rabbit. *J Neurophysiol* 82: 2633-2640.
134. Hidaka O, Morimoto T, Masuda Y, Kato T, Matsuo R, Inoue T, Kobayashi M, Takada K (1997) Regulation of masticatory force during cortically induced

- rhythmic jaw movements in the anesthetized rabbit. *J Neurophysiol* 77: 3168-3179.
135. Hinrichsen CFL (1970) Coupling between cells of the trigeminal mesencephalic nucleus. *J Dent Res* 49: 1369-1373.
136. Hinrichsen CFL, Larramendi LMH (1968) Synapses and cluster formation of the mouse mesencephalic fifth nucleus. *Brain Res* 7: 296-299.
137. Hinrichsen CFL, Larramendi LMH (1969) Features of trigeminal mesencephalic nucleus structure and organization. I. Light microscopy. *Am J Anat* 126: 497-506.
138. Hinrichsen CFL, Larramendi LMH (1970) The trigeminal mesencephalic nucleus. II. Electron microscopy. *Am J Anat* 127: 303-320.
139. Hiraba K, Taira M, Sahara Y, Nakamura Y (1988) Single-unit activity in bulbar reticular formation during food ingestion in chronic cats. *J Neurophysiol* 60: 1333-49.
140. Honma S, Moritani M, Zhang LF, Lu LQ, Yoshida A, Appenteng K, Shigenaga Y (2001) Quantitative ultrastructure of synapses on functionally identified primary afferent neurons in the cat trigeminal mesencephalic nucleus. *Exp Brain Res* 137: 150-162.
141. Hsiao CF, Del Negro CA, Trueblood PR, Chandler SH (1998) Ionic basis for serotonin-induced bistable membrane properties in guinea pig trigeminal motoneurons. *J Neurophysiol* 79: 2847-2856.
142. Hsiao CF, Trueblood PR, Levine MS, Chandler SH (1997) Multiple effects of serotonin on membrane properties of trigeminal motoneurons in vitro. *J Neurophysiol* 77: 2910-2924.

143. Ichikawa T, Shimizu T (1998) Organization of choline acetyltransferase-containing structures in the cranial nerve motor nuclei and spinal cord of the monkey. *Brain Res* 779: 96-103.
144. Inagaki N, Yamatodani AQ, Shinoda K, Shiotani Y, Tohyama M, Watanabe T, Wada H (1987) The histaminergic innervation of the mesencephalic nucleus of the trigeminal nerve in rat brain: A light and electron microscopical study. *Brain Res* 418: 388-391.
145. Ingram SL, Williams JT (1996) Modulation of the hyperpolarization-activated current (I_h) by cyclic nucleotides in guinea-pig primary afferent neurons. *J Physiol* 492: 97-106.
146. Ingram SL, Williams JT (1994) Opioid inhibition of I_h via adenylyl cyclase. *Neuron* 13:179-86.
147. Inoue H, Morimoto T, Kawamura Y (1981) Response characteristics and classification of muscle spindles of the masseter muscle in the cat. *Exp Neurol* 74: 548-560.
148. Inoue M, Nozawa-Inoue K, Donga R, Yamada Y (2002) Convergence of selected inputs from sensory afferents to trigeminal premotorneurons with possible projections to masseter motoneurons in the rabbit. *Brain Res* 957: 183-191.
149. Inoue T, Chandler SH, Goldberg LJ (1994) Neuropharmacological mechanisms underlying rhythmical discharges in trigeminal interneurons during fictive mastication. *J Neurophysiol* 71: 2061-2073.
150. Inoue T, Kato T, Masuda Y, Nakamura T, Kawamura Y, Morimoto T (1989) Modification of masticatory behavior after trigeminal deafferentation in the rabbit. *Exp Brain Res* 74: 579-591.

151. Inoue T, Masuda Y, Nagashima T, Yoshikawa K, Morimoto T (1992) Properties of rhythmically active reticular neurons around the trigeminal motor nucleus during fictive mastication in the rat. *Neurosci Res* 14: 275-294.
152. Ishii H, Kang Y (2002) Molecular basis underlying GABAA responses in rat mesencephalic trigeminal neurons. *Neuroreport* 13: 2265-2269.
153. Jacquin MF, Chiaia NL, Haring JH, Rhoades RW (1990) intersubnuclear connections within the rat trigeminal brainstem complex. *Somatosens Mot Res* 7: 399-420.
154. Jacquin MF, Rhoades RW, Enfiejian HL, Egger MD (1983) Organisation and morphology of masticatory neurons in the rat : a retrograde HRP study. *J Comp Neurol* 218: 239-256.
155. Jacquin TD, Borday V, Schneider-Maunoury S, Topilko P, Ghilini G, Kato F, Chamay P, Champagnat J (1996) Reorganization of pontine rhythmogenic neuronal networks in Krox-20 knockout mice. *Neuron* 17: 747-758.
156. Jerge CR (1963) Organization and function of the trigeminal mesencephalic nucleus. *J Neurophysiol* 26: 379-392.
157. Jerge CR (1963) The function of the nucleus supratrigeminalis. *J Neurophysiol* 26: 393-402.
158. Jüch PJW, Minkels RF, Van Willigen D (1993) Inhibitory commissural connections of neurones in the trigeminal motor nucleus of the rat. *Archs oral Biol* 38: 1083-1091.
159. Jüch PJW, Minkels RF, Van Willigen D, Ijkema-Paassen (1995) Does the supratrigeminal area contain elements of a neuronal pathway involved in jaw-opening reflex activity in the rat? Non publié

160. Kamogawa H, Hanashima N, Naito K, Kagaya K (1988) Candidate interneurons mediating peripherally evoked disynaptic inhibition of masseter motoneurons of both sides. *Neurosci Lett* 95: 149-154.
161. Kamogawa H, Manabe K, Kondo M, Naito K (1994) Supra and juxtatrigeminal inhibitory premotoneurons with bifurcating axons projections to masseter motoneurons on both sides.
162. Kanaka C, Ohno K, Okabe A, Kuriyama K, Itoh T, Fukuda A, Sato K (2001) The differential expression patterns of messenger RNAs encoding K-Cl cotransporters (KCC1,2) and Na-K-2Cl cotransporter (NKCC1) in the rat nervous system. *Neuroscience* 104: 933-946.
163. Kandel ER, Schwartz (1985) *Principles of neural science*. Second edition. Elsevier
164. Katakura N, Chandler SH (1990) An iontophoretic analysis of the pharmacologic mechanisms responsible for trigeminal motoneuronal discharge during masticatory-like activity in the guinea pig. *J Neurophysiol* 63: 356-369.
165. Katakura N, Nakajima M, Nakamura Y (1999) Ontogenetic analysis of brainstem mechanisms of ingestive activities *in vitro*. In: *Neurobiology of mastication—from molecular to systems approach*. Nakamura Y, Sessle B (eds). Amsterdam. Elsevier Science
166. Katoh M, Taira M, Katakura N, Nakamura Y (1982) Cortically induced effects on trigeminal motoneurons after transection of the brain stem at the pontobulbar junction of the cat. *Neurosci Lett* 33: 141-146.
167. Kawamura Y, Tsukamoto S (1960) Analysis of jaw movements from the cortical jaw motor area and amygdala. *Jpn J Physiol* 10: 471-488.

168. Khakh BS, Henderson G (1998) Hyperpolarization-activated cationic currents (I_h) in neurones of the trigeminal mesencephalic nucleus of the rat. *J Physiol* 510: 695-704.
169. Khakh BS, Humphrey PPA, Henderson G (1997) ATP-gated cation channels (P2X purinoceptors) in trigeminal mesencephalic nucleus neurones of the rat. *J Physiol (London)* 498: 709-715.
170. Kidokoro Y, Kubota K, Shuto S, Sumino R (1968a) Possible interneurons responsible for reflex inhibition of motoneurons of jaw-closing muscles from the inferior dental nerve. *J Neurophysiol* 37: 709-716.
171. Kidokoro Y, Kubota K, Shuto S, Sumino R (1968b) Reflex organization of cat masticatory muscles. *J Neurophysiol* 31: 709-716.
172. Kim JS, Bushnell MC, Duncan GH, Lund JP (1986) The modulation of sensory transmission through the medullary dorsal horn during cortically driven mastication. *Can J Physiol Pharmacol* 64: 999-.
173. Kim Y, Chandler SH (1995) NMDA-induced burst discharge in guinea pig trigeminal motoneurons in vitro. *J Neurophysiol* 74: 279-346.
174. Kirchhoff C, Leah JD, Jung S, Reeh PW (1992) Excitation of cutaneous sensory nerve endings in the rat by 4-aminopyridine and tetraethyl-ammonium. *J Neurophysiol* 67: 125-131.
175. Kishimoto H, Bae YC, Yoshida A, Moritani M, Takemura M, Nakagawa S, Nagase Y, Wada T, Sessle BJ, Shigenaga Y (1998) Central distribution of synaptic contacts of primary and secondary jaw muscle spindle afferents in the trigeminal motor nucleus of the cat. *J Comp Neurol* 391: 50-63.

176. Kocsis JD, Bowe CM, Waxman (1986) Different effects of 4-aminopyridine on sensory and motor fibers: pathogenesis and paresthesias. *36*: 117-120.
177. Kocsis JD, Eng DL, Gordon TR, Waxman (1987) Fonctionnal differences between 4-aminopyridine and tetraethyl-ammonium-sensitive potassium channels in myelinated axons. *Neurosci Lett75*: 193-198.
178. Kogo M, Funk GO, Chandler SH (1996) Rhythmical oral-motor activity recorded in an in vitro brainstem preparation. *Somatosens Motor Res13*: 39-48.
179. Kolta A (1990) Caractérisation électrophysiologique, immunocytochimique et pharmacologique des afférences fusoriales des muscles de fermeture de la mâchoire. Thèse de doctorat, Université de Montréal.
180. Kolta A (1997) In vitro investigation of synaptic relations between interneurons surrounding the trigeminal motor nucleus and masseteric motoneurons. *J Neurophysiol 78*: 1720-1725.
181. Kolta A, Dubuc R, Lund JP (1993) An immunocytochemical and autoradiographic investigation of the serotonergic innervation of trigeminal mesencephalic and motor nuclei in the rabbit. *Neuroscience 53*: 1113-1126.
182. Kolta A, Lund JP, Rossignol S (1990) Modulation of activity of spindle afferents recorded in trigeminal mesencephalic nucleus of rabbit during fictive mastication. *J Neurophysiol 64*: 1067-1076.
183. Kolta A, Westberg K-G, Lund JP (2000) Identification of brainstem interneurons projecting to the trigeminal motor nucleus and adjacent structures in the rabbit. *J Chem Anat 19*: 175-195.
184. Kuypers HG, Tuerk JD (1964) The distribution of the cortical fibres within the nuclei cuneatus and gracilis in the cat. *J Anat 98*: 143-62.

185. Kuypers HGJM (1958) An anatomical analysis of cortico-bulbar connexions to the pons and lower brain stem in the cat. *J Anat* 92: 198-.
186. Kuypers HGJM (1958) Some projections from the peri-central cortex to the pons and lower brain stem in monkey and chimpanzee. *J Comp Neurol* 110: 221-.
187. Lakke EAJF, Lazarov NE, Usunoff KG, Marani E (2000) A direct nigro-trigeminal projection in the rat an anterograde tracer study using biotinylated dextran amine. *Eur J Neurosci* 12: 135.
188. Landgren S, Olsson KA (1976) Localization of evoked potentials in the digastric, masseteric, supra- and intertrigeminal subnuclei of the cat. *Exp Brain Res* 26: 299-318.
189. Landgren S, Olsson KA, Westberg KG (1986) Bulbar neurons with axonal projections to the trigeminal motor nucleus in the cat. *Exp Brain Res* 65: 98-111.
190. Lang EJ, Sugihara I, Llinás R (1996) GABAergic modulation of complex spike activity by the cerebellar nucleo-olivary pathway in rat. *J Neurophysiol* 76: 255-275.
191. Lauterborn JC, Isackson PJ, Montalvo R, Gall CM (1993) In situ hybridization localization of choline acetyltransferase mRNA in adult rat brain and spinal cord. *Brain Res Mol Brain Res* 17: 59-69.
192. Lavigne G, Kim JS, Valiquette C, Lund JP (1987) Evidence that periodontal pressoreceptors provide positive feedback to jaw closing muscles during mastication. *J Neurophysiol* 58: 342-358.
193. Lazarov NE (2000) The mesencephalic trigeminal nucleus in the cat. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 153: 1-103.

194. Lazarov NE (2002) Comparative analysis of the chemical neuroanatomy of the mammalian trigeminal ganglion and mesencephalic trigeminal nucleus. *Prog Neurobiol* 66: 19-56.
195. Lazarov NE, Chouchkov CN (1995) Immunocytochemical localization of tyrosine hydroxylase and γ -aminobutyric acid in the mesencephalic trigeminal nucleus of the cat: a light and electron microscopic study. *Anat Rec* 242: 123-131.
196. Lazarov NE, Chouchkov CN (1995) Serotonin-containing projections to the mesencephalic trigeminal nucleus of the cat. *Anat Rec* 241: 136-142.
197. Lazarov NE, Pilgrim C (1997) Localization of D1 and D2 dopamine receptors in the rat mesencephalic trigeminal nucleus by immunocytochemistry and in situ hybridization. *Neurosci Lett* 236: 83-86.
198. Lee CJ, Bardoni R, Tong C-K, Engelman HS, Joseph DJ, Magherini PC, MacDermott AB (2002) Functional expression of AMPA receptors on central terminals of rat dorsal root ganglion neurons and presynaptic inhibition of glutamate release. *Neuron* 35: 135-146.
199. Li J-L, Shigemoto R, Kulik A, Chen P, Nomura S, Kanedo T, Mizuno N (2001) Immunocytochemical localization of GABA_B receptors in mesencephalic trigeminal nucleus neurons in the rat. *Neurosci Lett* 315: 93-97.
200. Li YQ, Takada M, Kaneko T, Mizuno N (1995) Premotor neurons for trigeminal motor nucleus neurons innervating the jaw-closing and jaw-opening muscles: differential distribution in the lower brainstem of the rat. *J Comp Neurol* 356: 563-579.

201. Li YQ, Takada M, Kaneko T, Mizuno N (1996) GABAergic and glycinergic neurons projecting to the trigeminal motor nucleus: a double labeling study in the rat. *J Comp Neurol* 373: 498-510.
202. Li YQ, Takada M, Kaneko T, Mizuno N (1997) Distribution of GABAergic and glycinergic premotor neurons projecting to the facial and hypoglossal nuclei in the rat. *J Comp Neurol* 378: 283-94.
203. Li Y-Q, Takada M, Mizuno N (1993) Collateral projections of single neurons in the periaqueductal gray and dorsal raphe nucleus to both the trigeminal sensory complex and spinal cord in the rat. *Neurosci Lett* 153: 153-156.
204. Li Y-Q, Takada M, Mizuno N (1993a) Identification of premotor interneurons which project bilaterally to the trigeminal motor, facial or hypoglossal nuclei: a fluorescent retrograde double-labeling study in the rat. *Brain Res* 677: 160-164.
205. Li YQ, Takada M, Mizuno N (1993b) Premotor neurones projecting simultaneously to two orofacial motor nuclei by sending their branched axons. A study with a fluorescent retrograde double-labeling technique in the rat. *Neurosci Lett* 152: 29-32.
206. Li Y-Q, Takada M, Mizuno N (1993c) The sites of origin of serotonergic afferent fibers in the trigeminal motor, facial, and hypoglossal nuclei in the rat. *Neurosci Res* 17: 307-313.
207. Li Y-Q, Takada M, Shinonaga Y, Mizuno N (1993) Collateral projections of single neurons in the nucleus raphe magnus to both the sensory trigeminal nuclei and spinal cord in the rat. *Brain Res* 602: 331-335.

208. Li YQ, Takada M, Shinonaga Y, Mizuno N (1993) Direct projections from the midbrain periaqueductal gray and the dorsal raphe nucleus to the trigeminal sensory complex in the rat. *Neuroscience* 54: 431-43.
209. Liem RSB, Copray JCVM (1996) Immunogold localization of serotonin within synaptic terminals in the rat mesencephalic trigeminal nucleus. *Acta Anat* 155: 50-56.
210. Liem RSB, Copray JCVM, Van der Want JJ (1997) Dopamine-immunoreactivity in the rat mesencephalic trigeminal nucleus: an ultrastructural analysis. *Brain Res* 755: 319-325.
211. Liem RSB, Copray JCVM, Van Willigen JD (1991) Ultrastructure of the rat mesencephalic trigeminal nucleus. *Acta Anat* 140: 112-119.
212. Liem RSB, Copray JCVM, Van Willigen JD (1992) Distribution of synaptic boutons in the mesencephalic trigeminal nucleus of the rat — a quantitative electron-microscopical study. *Acta Anat* 143: 74-78.
213. Liem RSB, Copray JCVM, Van Willigen JD (1993) Serotonin-immunoreactive terminals in the mesencephalic trigeminal nucleus of the rat: an electron microscopic immunocytochemical study. *Acta Anat* 148: 34-41.
214. Limwongse V, DeSantis M (1977) Cell body locations and axonal pathways of neurons innervating muscles of mastication in the rat. *Am J Anat* 149: 477-478.
215. Linden RWA (1978) Properties of intraoral mechanoreceptors represented in the mesencephalic nucleus of the fifth nerve in the cat. *J Physiol (London)* 279: 395-408.
216. Lingenhöhl K, Friauf E (1991) Sensory neurons and motoneurons of the jaw-closing reflex pathway in rats: a combined morphological and physiological study

- using the intracellular horseradish peroxidase technique. *Exp Brain Res* 83: 385-396.
217. Lucchi ML, Scapolo PA, Barazzoni AM, Clavenzani P, Lalatta Costerbosa G, Berardinelli P, Bortolami R (1997) Mesencephalic trigeminal nucleus neurons supplying the jaw closing muscles have no spinal projection: A fluorescent double-labeling study in birds and mammals. *Anat Rec* 249: 255-258.
218. Lund JP (1985) Sensorimotor Integration in the Control of Mastication In: *Advances in the Biosciences*, vol. 52, Oro-facial Pain and Neuromuscular Dysfunction, Edited by I. Klineberg and B. Sessle, Pergamon Press, Oxford.
219. Lund JP (1991) Mastication and its control by the brain stem. *Crit Rev Oral Biol Med* 2: 33-64.
220. Lund JP, Dellow PG (1971) The influence of interactive stimuli on rhythmical masticatory movements in rabbits. *Arch Oral Biol* 76: 215-223.
221. Lund JP, Drew T, Rossignol S (1984a) A study of jaw reflexes of the awake cat during mastication and locomotion, *Brain Behav Evo* 25: 146.
222. Lund JP, Enomoto S, Hayashi H, Hiraba K, Katoh M, Nakamura Y, Sahara Y, Taira M (1983) Phase-linked variations in the amplitude of the digastric nerve jaw-opening reflex response during fictive mastication in the rabbit. *Can J Physiol Pharmacol* 61: 1122-.
223. Lund JP, Kolta A, Westberg K-G, Scott G (1998) Brainstem mechanisms underlying feeding behaviors. *Current Opinion in Neurobiology* 8: 718-724.
224. Lund JP, McLachlan RS, Dellow PG (1971) A Lateral Jaw Movement Reflex. *Exp Neurol* 31: 189-190.

225. Lund JP, Olsson KA (1983) The importance of reflexes and their control during jaw movements. *TINS* 6: 458.
226. Lund JP, Richmond FJ, Touloumis C, Patry Y, Lamarre Y (1978) The distribution of Golgi tendon organs and muscle spindles in masseter and temporalis muscles of the cat. *Neuroscience* (2): 259-70.
227. Lund JP, Rossignol S (1981) Modulation of the amplitude of the digastric jaw opening reflex during the masticatory cycle. *Neuroscience* 6: 95-.
228. Lund JP, Rossignol S, Murakami T (1981) Interactions between the jaw-opening reflex and mastication. *Can J Physiol Pharmacol* 59: 683.
229. Lund JP, Sasamoto K, Murakami T, Olsson KA (1984b) Analysis of Rhythmical Jaw Movements Produced by Electrical Stimulation of Motor-Sensory Cortex of Rabbits. *J Neurophysiol* 52: 1014-1029.
230. Lund JP, Scott G, Kolta A, Westberg KG (1999) Role of cortical inputs and brainstem interneuron populations in patterning mastication. In: *Neurobiology of mastication—from molecular to systems approach*. Y Nakamura Sessle BJ (eds). Elsevier Science. 504-514.
231. Lundberg JM, Hokfelt T (1983) Coexistence of peptides and classical neurotransmitters. *Trends Neurosci* 6: 325-333.
232. Luo P, Dessem D (1996) Morphological evidence for recurrent jaw-muscle spindle afferent feedback within the mesencephalic trigeminal nucleus. *Brain Research* 710: 260-264.
233. Luo P, Li J (1991) Monosynaptic connections between neurons of trigeminal mesencephalic nucleus and jaw-closing motoneurons in the rat: an intracellular horseradish peroxidase labeling study. *Brain Res* 559: 267-275.

234. Luo P, Dessem D (1995) Inputs from identified jaw-muscle spindle afferents to trigeminothalamic neurons in the rat: a double-labeling study using retrograde HRP and intracellular biotinamide. *J Comp Neurol* 353: 50-66.
235. Luo P, Dessem D (1999) Ultrastructural anatomy of physiologically identified jaw-muscle spindle afferent terminations onto retrogradely labeled jaw-elevator motoneurons in the rat. *J Comp Neurol* 406: 384-401.
236. Luo P, Dessem D, Zhang J (2001a) Axonal projections and synapses from the supratrigeminal region to hypoglossal motoneurons in the rat. *Brain Res* 890: 314-329.
237. Luo P, Wong R, Dessem D (1995a) Projection of jaw-muscle spindle afferents to the caudal brain stem in rat demonstrated using intracellular biotinamide. *J Comp Neurol* 353: 63-78.
238. Luo P, Wong R, Dessem D (1995b) Ultrastructural basis for synaptic transmission between jaw-muscle spindle afferents and trigeminothalamic neurons in the rostral trigeminal sensory nuclei of the cat. *J Comp Neurol* 363: 109-128.
239. Luo P, Zhang J, Dessem D (2000) Polysynaptic pathway from trigeminal mesencephalic neurons to the hypoglossal nucleus in the rat. *Soc Neurosci Abst* 26: 691.
240. Luo PF, Haines A, Dessem D (2001) Elucidation of neuronal circuitry: protocol(s) combining intracellular labeling, neuroanatomical tracing and immunocytochemical methodologies. *Brain Res Protocols* 7: 222-234.
241. Luo PF, Wang BR, Peng ZZ, Li JS (1991) Morphological characteristics and terminating patterns of masseteric neurons of the mesencephalic trigeminal

- nucleus in the rat: an intracellular horseradish peroxidase labeling study. *J Comp Neurol* 303: 286-299.
242. Luschei E (1987) Central projections of the mesencephalic nucleus of the fifth nerve: an autoradiographic Study. *J Comp Neurol* 263: 137-145.
243. Luschei ES, Garthwaite CR, Armstrong ME (1971) Relationship of firing patterns of units in face area of monkey precentral cortex to conditioned jaw movements. *J Neurophysiol* 34: 552.
244. Luschei ES, Goldberg LJ (1981) Neural mechanisms of mandibular control. In *Handbook of Physiology. Vol. 2. Motor Control. Part 2.* J. M. Brookhart, V. B. Mountcastle, V. B. Brooks, and S. R. Geiger. eds. pp. 1237-1274. American Physiological Society, Bethesda, MD.
245. Lynch R (1985) A qualitative investigation of the topographical representation of masticatory muscles within the motor trigeminal nucleus of the rat: a horseradish peroxidase study. *Brain Res* 327: 354-358.
246. Magnusson KR, Clements JR, Larson AA, Madl JE, Beitz AJ (1987) Localization of glutamate in trigeminothalamic projection neurons: a combined retrograde transport-immunohistochemical study. *Somatosens Res* 4: 177-90.
247. Magoun HW, Ranson SW, Fisher C (1933) Corticofugal pathways for mastication, lapping and other motor functions in the cat. *Arch Neurol Psychiat* 30: 292.
248. Marfurt CF, Rajchert DM (1991) Trigeminal primary afferent projections to "non-trigeminal" areas of the rat central nervous system. *J Comp Neurol* 303: 489-511.
249. Margeta-Mitrovic M, Mitrovic L, Riley RC, Jan LY, Basbaum AI (1999) Immunohistochemical localization of GABA_B receptors in the rat central nervous system. *J Comp Neurol* 405: 299-321.

250. Marieb EN (1993) Anatomie et physiologie humaine. Édition du nouveau pédagogique.
251. Matthews PBC (1972) Mammalian Muscle Receptors and Their Central Actions, Arnold, London.
252. Meessen H, Olszewski J (1949) Cytoarchitekton-ischer atlas des rautenhirns des kaninchens, Karger, Basel.
253. Mills SL, Massey SC (1995) Differential properties of two gap junctional pathways made by AII amacrine cells. *Nature* 377: 734–737.
254. Mineff EM, Popratiloff A, Romansky R, Kazakos V, Kaimaktschieff V, Usunoff KG, Ovtsharoff W, Marani E (1998) Evidence for a possible glycinergic inhibitory neurotransmission in the midbrain and rostral pons of the rat studied by gephyrin. *Archs Physiol Biochem* 106: 210-220.
255. Mineff EM, Popratiloff A, Usunoff KG, Marani E (1998) Immunocytochemical localization of the AMPA receptor subunits in the mesencephalic trigeminal nucleus of the rat. *Archs of Physiol Biochem* 106: 203-209.
256. Minkels RF, Jüch PJW, Ter Horst GJ, Van Willigen JD (1991) Projections of the parvocellular reticular formation to the contralateral mesencephalic trigeminal nucleus in the rat. *Brain Res* 547: 13-21.
257. Minkels RF, Jüch PJW, Van Willigen D (1995) Interneurones of the supratrigeminal area mediating reflex inhibition of trigeminal and facial motoneurones in the rat. *Archs Oral Biol* 40: 275-284.
258. Mizuno N (1970) Projection fibers from the main sensory trigeminal nucleus and the supratrigeminal region. *J Comp Neurol* 139: 457-71.

259. Mizuno N, Kanoshi A, Sato M (1975) Localization of masticatory motoneurons in the cat and rat by means of retrograde axonal transport of horseradish peroxydase. *J Comp Neurol* 754: 105-116.
260. Mizuno N, Matsuda K, Sato M, Konishi A, Uemura M, Matsushima R (1980) Morphological studies on the masticatory motor system. A Myotopical arrangement of masticator motoneurons, in: K. Kubota Y. Nakamura, G.-H. Schumacher Eds., *Jaw Position and Jaw Movement*, Veb Verlag Volk und Gesundheit, Berlin, pp. 198-206.
261. Mizuno N, Sauerland EK, Clemente DC (1968) Projections from the orbital gyrus in the cat. I. To brain stem structures. *J Comp Neurol* 133: 463-476.
262. Mizuno N, Yasui Y, Nomura K, Itoh K, Konishi A, Takada M, Kudo M (1983) A light and electron microscopic study of premotor neurons for the trigeminal motor nucleus. *J Comp Neurol* 215: 290-298.
263. Moore J, Appenteng K (1990) The membrane properties and firing characteristics of rat jaw-elevator motoneurons. *J Physiol* 423: 137-153.
264. Morales M, Battenberg E, Bloom FE (1998) Distribution of neurons expressing immunoreactivity for the 5HTs receptor subtypes in the rat brain and spinal cord. *J Comp Neurol* 385: 385-401.
265. Morimoto T, Inoue H, Kawamura Y (1982) Diameter spectra of sensory and motor fibers in nerves to jaw-closing and jaw-opening muscles in the cat. *Jap J Physiol* 32: 171-182.
266. Morimoto T, Inoue T, Masuda Y, Nagashima T (1989) Sensory components facilitating jaw-closing muscle activities in the rabbit. *Exp Brain Res* 76: 424-440.

267. Morimoto T, Kawamura Y (1973) Properties of tongue and jaw movements elicited by stimulation of the orbital gyrus of the cat. *Arch Oral Biol* 18: 361.
268. Morimoto T, Takebe H, Sakan I, Kawamura Y (1978) Reflex activation of extrinsic tongue muscles by jaw closing muscle proprioceptors. *Jpn J Physiol* 28: 461-471.
269. Moriyama Y (1987) Rhythmical jaw movements and lateral ponto-medullary reticular neurons in rats. *Comp Biochem Physiol A Physiol* 86: 7-14.
270. Morrell JJ, Greenberger LM, Pfaff DW (1981) Hypothalamic, other diencephalic, and telencephalic neurons that project to the dorsal midbrain. *J Comp Neurol* 201: 589-620.
271. Nagase Y, Moritani M, Nakagawa S, Yoshida A, Takemura M, Zhang LF, Kida H, Shigenaga Y (1997) Serotonergic axon contacts on identified cat trigeminal motoneurons and their correlation with medullary raphe nucleus stimulation. *J Comp Neurol* 384: 443-455.
272. Nagy JJ, Buss M, Daddona PE (1986) On the innervation of trigeminal mesencephalic primary afferent neurons by adenosine deaminase-containing projections from the hypothalamus in the rat. *Neuroscience* 17: 141-56.
273. Nakamura Y (1980) Brain stem neuronal mechanisms controlling the trigeminal motoneuron activity: in *Progress in Clinical Neurophysiology. Spinal and Supraspinal Mechanisms of Voluntary Motor Control and Locomotion. Vol. 8*, Desmedt, JE, Ed., Karger, Basel.
274. Nakamura Y, Katakura N (1995) Generation of masticatory rhythm in the brainstem. *Neurosci Res* 23: 1-19.

275. Nakamura Y, Katakura N, Nakajima M (1999) Generation of rhythmical food ingestive activities of the trigeminal, facial, and hypoglossal motoneurons in in vitro CNS preparations isolated from rats and mice. *J Med Dent* 46: 63-73.
276. Nakamura Y, Kubo Y, Nozaki S, Takatori M (1976) Cortically induced masticatory rhythm and its modification by tonic peripheral inputs in immobilized cats. *Bull Tokyo Med Dent Univ* 23: 101-107.
277. Nakamura Y, Mori S, Nagashima H (1973a) Origin and central pathways of crossed inhibitory effects of afferents from the masseteric muscle on the masseteric motoneuron of the cat. *Brain Res* 57: 29-42.
278. Nakamura Y, Nagashima H, Mori S (1973b) Bilateral effects of the afferent impulses from the masseteric muscle on the trigeminal motoneuron of the cat. *Brain Res* 57: 15-27.
279. Nakamura Y, Takatori M, Kubo Y, Nozaki S, Enomoto S (1979) Masticatory rhythm formation—facts and a hypothesis. In *Integrative Control Functions of the Brain*. Vol. 2, N. Tsukahara, K. Kubots. and K. Yagi. eds. pp. 321-331. Kodansh Scientific. Tokyo.
280. Nakamura Y, Takatori M, Nozaki S, Kikuchi M (1975) Monosynaptic reciprocal control of trigeminal motoneurons from the medial bulbar reticular formation. *Brain Res* 16: 144-8.
281. Nicholas AP, Pieribone VA, Arvidsson U, Hokfelt T (1991) Evidence for serotonin, substance P and glutamate-like immunoreactivities in medullospinal pathways of rat and primate. *Neuroscience* 43: 545-559.
282. Nishimori T, Sera M, Suemune S, Yoshida A, Tsuru K, Tsuiki Y, Akisaka T, Okamoto T, Dateola Y, Shigenaga Y (1986) The distribution of muscle primary

- afferents from the masseter nerve to the trigeminal sensory nuclei. *Brain Res* 372: 375-381.
283. Nomura S, Konishi A, Itoh K, Sugimoto T, Yasui Y, Mitani A, Mizuno N (1985) Multipolar neurons and axodendritic synapses in the mesencephalic trigeminal nucleus of the cat. *Neurosci Lett* 55: 337-342.
284. Nomura S, Mizuno N (1985) Differential distribution of cell bodies and central axons of mesencephalic trigeminal nucleus neurons supplying the jaw-closing muscles and periodontal tissue: a transganglionic tracer study in the cat *Brain Res.* 359: 311-319.
285. Nozaki S, Iriki A, Nakamura Y (1991) Brainstem commissural systems for bilateral synchronization of rhythmical jaw muscles activity induced by stimulation of the cortical masticatory area in the guinea pig. *Dental Jpn* 28: 39-43.
286. Nozaki S, Iriki A, Nakamura Y (1986a) Localization of central rhythm generator involved in cortically induced rhythmical masticatory jaw-opening movement in the guinea pig. *J Neurophysiol* 55: 806-825.
287. Nozaki S, Iriki A, Nakamura Y (1986b) Role of corticobulbar projection neurons in cortically induced rhythmical masticatory jaw-opening movement in the guinea pig. *J Neurophysiol* 55: 826-845.
288. Nozaki S, Iriki A, Nakamura Y (1993) Trigeminal premotor neurons in the bulbar reticular formation participating in induction of rhythmical activity of trigeminal motoneurons by repetitive stimulation of the cerebral cortex in the guinea pig. *J Neurophysiol* 69: 595-608.

289. Nusbaum MP, El Manira A, Gossard JP, Rossignol S (1997) Presynaptic mechanisms during rhythmic activity in vertebrates and invertebrates. In: *Neurons, networks and motor behavior*. Stein PSG, Grillner S, Selverston AI, Stuart DG (eds). The MIT Press, London pp 237-253.
290. Ochi J, Shimizu K (1978) Occurrence of dopamine-containing neurons in the midbrain raphe nuclei of the rat. *Neurosci Lett* 8: 317-320.
291. O'Donnell P, Grace AA (1993) Dopaminergic modulation of dye coupling between neurons in the core and shell regions of the nucleus accumbens. *J Neurosci* 13: 3456-3471.
292. Oliveras JL, Woda A, Guilbaud G, Besson JM (1974) Inhibition of the jaw opening reflex by electrical stimulation of the periaqueductal gray matter in the awake, unrestrained cat. *Brain Res* 72: 328-331.
293. Olney JW, Rhee V, Ho OL (1974) Kainic acid: a powerful neurotoxic analogue of glutamate. *Brain Res* 77: 507-12.
294. Olsson KA, Landgren S, Westberg KG (1986a) Location of, and peripheral convergence on, the interneurons in the disynaptic path from the coronal gyrus of the cerebral cortex to the trigeminal motoneurons in the cat. *Exp Brain Res* 65: 85-97.
295. Olsson KA, Lund JP, Valiquette C, Veilleux D (1988) Activity during mastication of periodontal mechanosensitive neurons of the trigeminal subnucleus oralis of the rabbit. *J Neurophysiol* 59: 341-357.
296. Olsson KA, Sasamoto K, Lund JP (1986b) Modulation of transmission in rostral trigeminal sensory nuclei during chewing. *J Neurophysiol* 55: 56-75.

297. Olsson KA, Westberg K-G (1989a) Interneurons in the trigeminal motor system. In: Electromyography of jaw reflexes in man. Van Steenberghe D, De Laat A (eds). Leuven University Press. Leuven, pp 19-50.
298. Olsson KA, Westberg K-G (1991) Integration in trigeminal premotor interneurons in the cat 2. Functional characteristics of neurones in the subnucleus- γ of the oral nucleus of the spinal trigeminal tract with a projection to the digastric motoneurone subnucleus. *Exp Brain Res* 84:115-124.
299. Onn SP, Grace AA (1994) Dye coupling between rat striatal neurons recorded in vivo: compartmental organization and modulation by dopamine. *J Neurophysiol* 71: 1917-1934.
300. Parent A, Steriade M (1981) Afferents from the periaqueductal gray, medial hypothalamus and medial thalamus to the midbrain reticular core. *Brain Res Bull* 7: 411-418.
301. Passatore M, Lucchi ML, Filippi GM, Manni E, Bortolami R (1983) Localization of neurons innervating masticatory muscle spindle and periodontal receptors in the mesencephalic trigeminal nucleus and their reflex actions. *Arch Ital Biol* 121: 117-130.
302. Payne JA (1997) Functional characterization of the neuronal-specific K-C1 cotransporter: implications for $[K^+]_o$ regulation. *Am J Physiol* 273: C1516-C1525.
303. Pedroarena CM, Pose IE, Yamuy J, Chase MH, Morales FR (1999) Oscillatory membrane potential activity in the soma of a primary afferent neuron. *J Neurophysiol* 82: 1465-1476.
304. Pelkey KA, Marshall KC (1998) Actions of excitatory amino acids on mesencephalic trigeminal neurons. *Can J Physiol Pharmacol.* 76: 900-908.

305. Pereda AE, Faber DS (1996) Activity-dependent short-term enhancement of intercellular coupling. *J Neurosci* 16: 983–992.
306. Peters A, Palay SL, Webster HDEF (1991) *The fine structure of the nervous system: neurons and their supporting cells*. Fourth edition. Oxford University Press. New York.
307. Petralia RS, Wang YJC, Wenthold RJ (1994) Histological and ultrastructural localization of the kainite receptor subunits, KA2 and GluR6/7, in the rat nervous system using selective antipeptide antibodies. *J Comp Neurol* 349: 85-110.
308. Peyron MA, Maskawi K, Woda A, Tanguay R, Lund JP (1997) Effects of food texture and sample thickness on mandibular movement and hardness assessment during biting in man. *J Dent Res* 76: 789-795.
309. Pierce JP, Mendell LM (1993) Quantitative ultrastructure of Ia boutons in the ventral horns: scaling and positional relationships. *J Neurosci* 13: 4748-4763.
310. Placantonakis DG, Schwarz C, Welsh JP (2000) Serotonin suppresses subthreshold and suprathreshold oscillatory activity of rat inferior olivary neurones in vitro. *J Physiol* 524: 833-851.
311. Pose I, Sampogna S, Chase MH, Morales FR (2003) Mesencephalic trigeminal neurons are innervated by nitric oxide synthase-containing fibers and respond to nitric oxide. *Brain Res* 960: 81-89.
312. Puil E, Miura RM, Spigelman I (1989) Consequences of 4-aminopyridine applications to trigeminal root ganglion neurons. *J Neurophysiol* 62: 810-820.
313. Rack PMH, Westbury DR (1966) The effects of suxamethonium and acetylcholine on the behavior of cat muscle spindles during dynamic stretching and during fusimotor stimulation. *J Physiol (Lond.)* 186: 698-713.

314. Rampon C, Luppi PH, Fort P, Peyron C, Jouvet M (1996) Distribution of glycine-immunoreactive cell bodies and fibers in the rat brain. *Neuroscience* 75: 737-755.
315. Rampon C, Peyron C, Petit JM, Fort P, Gervasoni D, Luppi PH (1996) Origin of the glycinergic innervation of the rat trigeminal motor nucleus. *Neuroreport* 7: 3081-3085.
316. Redgrave P, Mitchell IJ, Dean P (1987) Descending projections from the superior colliculus in rat: A study using orthograde transport of wheatgerm-agglutinin conjugated horseradish peroxidase. *Exp Brain Res* 68: 147-167.
317. Regenold JT, Haas HL, Illes P (1988) Effects of purinoceptor agonists on electrophysiological properties of rat mesencephalic trigeminal neurones in vitro. *Neurosci Lett* 92: 347-350.
318. Rioch JM (1934) The neural mechanism of mastication. *Am J Physiol* 108: 168-176.
319. Rivera C, Voipio J, Payne JA, Ruusuvuori E, Lahtinen H, Lamsa K, Pivola U, Saarma M, Kaila K (1999) The K⁺/Cl⁻ co-transporter KCC2 renders GABA hyperpolarizing during neuronal maturation. *Nature* 397: 251-255.
320. Robinson DA (1981) Control of eye movements. In *Handbook of Physiology. Vol 2. Motor Control. Part 2*. J. M. Brookhart, V. B. Mountcastle, V. B. Brooks, and S. R. Geiger, eds. pp. 1275-1320, American Physiological Society. Bethesda, MD.
321. Rokx JTM, Juch PJW, Van Willigen JD (1986) Arrangement and connections of mesencephalic trigeminal neurons in the rat. *Acta Anat.* 127: 7-15.
322. Rokx JTM, Luiten PGM, Van Willigen JD (1988) Afferent Projections to the Mesencephalic Trigeminal Nucleus in the Rat Anterograde Tracing with Phaseolus vulgaris Leukoagglutinin. *Acta anat* 132: 260-264

323. Rokx JTM, Van Willigen JD, Juch PJW (1986) Bilateral brainstem connections of the rat supratrigeminal region. *Acta Anat* 127: 16-21.
324. Rörig B, Klaus G, Sutor B (1995) Beta-adrenoreceptor activation reduces dye-coupling between immature and rat neocortical neurones. *NeuroReport* 6: 1811-1815.
325. Rörig B, Sutor B (1996) Serotonin regulates gap junction coupling in the developing rat somatosensory cortex. *Eur J Neurosci* 8: 1685-1695.
326. Rosin DL, Robeva A, Woodard RL, Guyenet PG, Linden J (1998) Immunohistochemical localization of adenosine A2A receptors in the rat central nervous system. *J Comp Neurol* 401: 163-186.
327. Rossignol S & Dubuc R (1994) Spinal pattern generation. *Curr Opin Neurobiol* 4: 894-902.
328. Rossignol S, Lund JP, Drew T (1988) The role of sensory inputs in regulating patterns of rhythmical movements in higher vertebrates. A comparison between locomotion, respiration, and mastication. In: *Neural Control of Rhythmic Movements in Vertebrates*, Cohen A, Rossignol S, Grillner S, Eds, John Wiley & Sons, New York, 201.
329. Rossignol S, Lund JP, Drew T, Dubuc R (1985) Genèse et adaptation des mouvements rythmiques. *Union méd Can* 114 : 988-994.
330. Rudomin P, Schmidt RF (1999) Presynaptic inhibition in the vertebrate spinal cord revisited. *Exp Brain Res* 729: 1-37.
331. Ruggiero DA, Ross CA, Kumada M, Reis DJ (1982) Re-evaluation of projections from the mesencephalic trigeminal nucleus to the medulla and spinal cord: new

- projections. A combined retrograde and anterograde horseradish peroxidase study. *J Comp Neurol* 206: 278-292.
332. Saad M, Dubuc R, Westberg KG, Lund JP. (1999) Distribution of cholinergic neurons in cell group K of the rabbit brainstem. *Neuroscience* 88: 927-937.
333. Saha S, Appenteng K, Baten TFC (1991) Quantitative analysis and postsynaptic targets of GABA-immunoreactive boutons within the rat trigeminal motor nucleus. *Brain Res* 567: 128-138.
334. Sakata T (1995) Histamine receptor and its regulation of energy metabolism. *Obes Res* 4 : 541-548.
335. Sandler VM, Puil E, Schwarz DW (1998) Intrinsic response properties of bursting neurons in the nucleus principalis trigemini of the gerbil. *Neuroscience*. 83: 891-904.
336. Sasamoto K (1979) Motor nuclear representation of masticatory muscles in the rat. *Jpn J Physiol.* 29: 739-747.
337. Schoepfer R, Monyer H, Sommer B, Wisdem W, Sprengel R, Kuner T, Lomeli H, Herb A, Kohler M, Burnashev N, Gunther W, Ruppertsberg P, Seeburg P (1994) Molecular biology of glutamate receptors. *Prog Neurobiol* 42: 353-357.
338. Schwartz G, Lund JP (1995) Modification of rhythmical jaw movements by noxious pressure applied to the periosteum of the zygoma in decerebrate rabbits. *Pain* 63: 153-161.
339. Scott G, Westberg KG, Vrentzos N, Kolta A, Lund JP (2003) Effect of lidocaine and NMDA injections into the medial pontobulbar reticular formation on mastication evoked by cortical stimulation in anaesthetized rabbits. *Eur J Neurosci* 17: 2156-62.

340. Sessle BJ (1977) Modulation of alpha and gamma trigeminal motoneurons by various peripheral stimuli. *Exp Neurol* 54: 323-339.
341. Sessle BJ, Greenwood LF (1976) Peripheral influences on alpha and gamma motoneurons. In: *Mastication*, D.J. Anderson and B. Matthews, Eds., Bristol: John Wright and Sons, pp. 174-183.
342. Sessle BJ, Hu JW (1981) Raphe-induced suppression of the jaw-opening reflex and single neurons in trigeminal subnucleus oralis, and influence of naloxone and subnucleus caudalis. *Pain* 10: 19-36.
343. Sessle BJ, Hu JW, Dubner R, Lucier GE (1981) Functional properties of neurons in cat trigeminal subnucleus caudalis (medullary dorsal horn) II: Modulation of responses to noxious and nonnoxious stimuli by periaqueductal gray, nucleus raphe magnus, cerebral cortex and afferent influences, and effect of naloxone. *J Neurophysiol* 45: 193-207.
344. Sessle BJ, Schmitt A (1972) Effects of controlled tooth stimulations of jaw-muscle activity in man. *Arch Oral Biol* 17: 1597-1607.
345. Shammah-Lagnado SJ, Costa MS, Ricardo JA (1992) Afferent connections of the parvocellular reticular formation: a horseradish peroxidase study in the rat. *Neuroscience* 50: 403-425.
346. Shammah-Lagnado SJ, Negrao N, Silva BA, Ricardo JA (1987) Afferent connections of the nuclei reticularis pontis oralis and caudalis: a horseradish peroxidase study in the rat. *Neuroscience* 20: 961-989.
347. Sherrington CS (1917) Reflexes elicitable in the cat from pinna, vibrissae and jaws. *J Physiol* 57: 404-431.

348. Shigemoto R, Mizuno N (2000) Metabotropic glutamate receptors — immunocytochemical and in situ hybridization analyses. In: Qttersen OP, Storm-Mathisen J (Eds.), *Handbook of Chemical Neuroanatomy: Glutamate*. Vol. 18. Elsevier, Amsterdam, pp. 63-98.
349. Shigenaga Y, Chen IC, Suemune S, Nishimori T, Nasution ID, Yoshida A, Sato H, Okamoto T, Sera M, Hosoi M (1986a) Oral and facial representation within the medullary and upper cervical dorsal horns in the cat. *J Comp Neurol* 243: 388-408.
350. Shigenaga Y, Doe K, Suemune S, Mitsuhiro Y, Tsuru K, Otani K, Shirana M, Hosoi M, Yoshida A, Kagawa K (1989) Physiological and morphological characteristics of periodontal mesencephalic trigeminal neurons in the cat: Intra-axonal staining with HRP. *Brain Res* 505: 91-110.
351. Shigenaga Y, Hirose Y, Yoshida A, Fukami H, Honma S, Bae YC (2000) Quantitative ultrastructure of physiologically identified premotoneuron terminals in the trigeminal motor nucleus in the cat. *J Comp Neurol* 426: 13-30.
352. Shigenaga Y, Mitsuhiro Y, Shirana Y, Tsuru K (1990) Two types of jaw-muscle spindle afferents in the cat as demonstrated by intra-axonal staining with HRP. *Brain Res* 514: 219-237.
353. Shigenaga Y, Mitsuhiro Y, Yoshida A, Cao CQ, Tsuru H (1988a) Morphology of single mesencephalic trigeminal neurons innervating masseter muscle of the cat. *Brain Res* 445: 392-399.
354. Shigenaga Y, Nakatani Z, Nishimori T, Suemune S, Kuroda R, Matano S (1983) The cells of origin of cat trigeminothalamic projections: especially in the caudal medulla. *Brain Res* 277: 201-22.

355. Shigenaga Y, Okamoto T, Nishimori T, Suemune S, Nasution ID, Chen IC, Tsuru K, Yoshida A, Tabuchi K, Hosoi M, Tsuru H (1986b) Oral and facial representation in the trigeminal principal and rostral spinal nuclei of the cat. *J Comp Neurol* 244: 1-18.
356. Shigenaga Y, Sera M, Nishimori T, Suemune S, Nishimura M, Yoshida A, Tsuru K (1988d) The central projection of masticatory afferent fibers to the trigeminal sensory nuclear complex and upper cervical spinal cord. *J Comp Neurol* 268: 489-507.
357. Shigenaga Y, Takabatake M, Sugimoto T, Sakai A (1979) Neurons in marginal layer of trigeminal nucleus caudalis projecting to ventrobasal complex (VG) and posterior nuclear group (PO) demonstrated by retrograde labeling with horseradish peroxidase. *Brain Res* 166: 391-6.
358. Shigenaga Y, Yoshida A, Mitsuhiro Y, Doe K, Suemune S (1988b) Morphology of single mesencephalic trigeminal neurons innervating periodontal ligament of the cat. *Brain Res* 448: 331-338.
359. Shigenaga Y, Yoshida A, Tsuru K, Mitsuhiro Y, Otani K, Cao CQ (1988c) Physiological and morphological characteristics of cat masticatory motoneurons— intracellular injection of HRP. *Brain Res* 61: 238-256.
360. Slesinger P, Bell CC (1985) Primary afferent fibers conduct impulses in both directions under physiological stimulus conditions. *J Comp Physiol* 157: 15-22.
361. Somana R, Kotchabhakdi N, Walberg F (1980) Cerebellar afferents from the trigeminal sensory nuclei in the cat. *Exp Brain Res* 38: 57-64.
362. Spigelman I, Puil E (1989) K⁺-channel blockade in trigeminal root ganglion neurons: effects on membrane outward currents. *J. Neurophysiol* 62: 802-809.

363. Steiner JE, Michman J, Litman A (1974). Time sequence of the activity of the temporal and masseter muscles in healthy young human adults during habitual chewing of different test foods. *Arch Oral Biol* 19: 29-34.
364. Sumi T (1969) Some properties of cortically evoked swallowing and chewing in rabbits. *Brain Res* 15: 107-120.
365. Sun D, Murali SG (1999) Na-K-2Cl cotransporter in immature cortical neurons: a role in intracellular Cl regulation. *J Neurophysiol* 81: 1939-1948.
366. Sung K-W, Kirby M, McDonald MP, Lovinger DM, Delpire E (2000) Abnormal GABAA receptor-mediated currents in dorsal root ganglion neurons isolated from Na-K-2Cl cotransporter null mice. *J Neurosci* 20: 7531-7538.
367. Takada M, Hatanaka N, Tokuno H (1999) Anatomical basis for information processing in masticatory behavior In: *Neurobiology of Mastication - from Molecular to Systems Approach*. Nakamura Y and Sessle BJ (editors) Elsevier Science.
368. Takata M, Fujita S (1982) The properties of excitatory postsynaptic potentials evoked in trigeminal motoneurons by trigeminal nerve stimulation. *Brain Res* 241: 171-175.
369. Takata M, Kawamura Y (1970) Neurophysiologic properties of the supratrigeminal nucleus *Jpn J Physiol* 20: 1-11.
370. Tanaka S, Kogo M, Chandler SH, Matsuya T (1999) Localization of oral-motor rhythmogenic circuits in the isolated rat brainstem preparation. *Brain Res* 821: 190-199.

371. Tanaka S, Wu N, Hsiao C-F, Turman J, Chandler SH (2003) Development of inward rectification and control of membrane excitability in mesencephalic V neurons. *J. Neurophysiol* 89: 1288-1298.
372. Tashiro T, Satoda T, Matsushima R, Mizuno N (1989) Enkephalin substance P and serotonin-like immunoreactive axonal varicosities in close apposition to perikarya of mesencephalic trigeminal nucleus neurons in the cat. *Brain Res* 494: 162-167.
-
373. Taylor A, Appenteng K, Morimoto T (1981) Proprioceptive input from the jaw muscles and its influence on lapping, chewing and posture. *Can J Physiol Pharmacol* 59: 636-644.
374. Taylor A, Cody FWJ (1974) Jaw muscle spindle activity in the cat during normal movements of eating and drinking. *Brain Res* 71: 523-530.
375. Taylor A, Durbaba R, Rodgers JF (1992) The classification of afferents from muscle spindles of the jaw-closing muscles of the cat. *J Physiol (Lond.)* 456: 609-628.
376. Ter Horst GJ, Copray JCVM, Van Willigen JD, Liem RSB (1990) Contralateral projections of cells in the motor trigeminal nucleus of the rat. *Neurosci Lett* 113: 260-266.
377. Thexton AJ, Hiemae KM, Crompton AW (1980) Food consistency and bite size as regulators of jaw movement during feeding in the cat. *J Neurophysiol* 44: 456-474.
378. Tolu E, Caria MA, Simula ME, Lacana P (1994) Muscles spindle and periodontal trigeminal afferents modulates the hypoglossal motoneuronal activity. *Arch Ital Biol* 132: 93-104.

379. Torvik A (1956) Afferent connections to the sensory trigeminal nuclei, the nucleus of the solitary tract and adjacent structures; an experimental study in the rat. *J Comp Neurol* 106: 51-141.
380. Travers JB, Norgren R (1983) Afferent projections to the oral motor nuclei in the rat. *J Comp Neurol* 220: 280-298.
381. Trueblood PR, Levine MS, Chandler SH (1996) Dual-component excitatory amino acid-mediated responses in trigeminal motoneurons and their modulation by serotonin in vitro. *J Neurophysiol* 76: 2461-2473.
382. Tsuboi A, Kolta A, Chen CC, Lund JP (2003) Neurons of the trigeminal main sensory nucleus participate in the generation of rhythmic motor patterns. *Eur J Neurosci*. 17: 229-38.
383. Turman JE, Ajdari J, Chandler SH (1999) NMDA receptor NR1 and NR2A/B subunit expression in trigeminal neurons during early postnatal development *J Comp Neurol* 409: 237-249.
384. Turman JE, Chandler SH (1994a) Immunohistochemical evidence for GABA and glycine-containing trigeminal premotoneurons in the guinea pig. *Synapse* 18: 7-20.
385. Turman JE, Chandler SH (1994b) Immunohistochemical localizations of glutamate and glutaminase in guinea pig trigeminal premotoneurons. *Brain Res* 634: 49-61.
386. Turman JE Jr, MacDonald AS, Pawl KE, Bringas P, Chandler SH (2000) AMPA receptor subunit expression in trigeminal neurons during postnatal development. *J Comp Neurol* 427: 109-23.

387. Vercelli A, Repici M, Garbossa D, Grimaldi A (2000) Recent techniques for tracing pathways in the central nervous system of developing and adult mammals. *Brain Res Bull* 51: 11-28.
388. Vornov JJ, Sutin J (1983) Brainstem projections to the normal and noradrenergically hyperinnervated trigeminal motor nuclei. *J Comp Neurol* 214: 198-208.
389. Vornov JJ, Sutin J (1986) Noradrenergic hyperinnervation of the motor trigeminal nucleus: alterations in membrane properties and responses to synaptic input. *J Neurosci* 6: 30-37.
390. Wenthold RJ, Petralia RS, Blahos ffl, Niedzielski AS (1996) Evidence for multiple AMPA receptor complexes in hippocampal CA1/CA2 neurons. *J Neurosci* 16: 1982-1989.
391. Westberg K-G, Clavelou P, Sandstrom G, Lund JP (1998) Evidence that trigeminal brainstem interneurons form subpopulations to produce different forms of mastication in the rabbit. *J Neurosci* 18: 6466-6479.
392. Westberg KG, Kolta A, Clavelou P, Sandstrom G, Lund JP (2000) Evidence for functional compartmentalization of trigeminal muscle spindle afferents during fictive mastication in the rabbit. *Eur J Neurosci* 12: 1145-1154.
393. Westberg K-G, Olsson KA, Lund JP, Clavelou P (1995) Premotoneurons in the oral nucleus of the spinal trigeminal tract — functional characteristics. In: Morimoto T, Matsuya T, Takada K (eds) *Brain and Oral Functions*. Amsterdam: Elsevier, 87—97.

394. Westberg KG, Scott G, Olsson KA, Lund JP (2001) Discharge patterns of neurons in the medial pontobulbar reticular formation during fictive mastication in the rabbit. *Eur J Neurosci* 14: 1709-18.
395. Westneat MW, Hall WG (1992) Ontogeny of feeding motor patterns in infant rats: an electromyographic analysis of suckling and chewing. *Behav Neurosci* 106: 539-54.
396. Willis WD (1999) Dorsal root potentials and dorsal root reflexes: a double-edged sword. *Exp Brain Res* 724: 395-421.
397. Woodburne RT (1936) A phylogenetic consideration of the primary and secondary centers and connections of the trigeminal complex in a series of vertebrates. *J Comp Neurol* 65: 403-501.
398. Wu N, Hsiao CF, Chandler SH (2001) Membrane resonance and subthreshold membrane oscillations in mesencephalic V neurons: participants in burst generation. *J Neurosci* 21: 3729-3739 (2001).
399. Wyman R J (1977) Neural generation of the breathing rhythm. *Annu Rev Physiol* 39: 417-448.
400. Yamamoto M, Kondo H (1989) Calcitonin gene-related peptide (CGRP)-immunoreactive nerve varicosities in synaptic contact with sensory neurons in the trigeminal ganglion of rats. *Neurosci Lett* 104: 253-257.
401. Yamamoto T, Matsuo R, Kiyomitsu Y, Kitamura R (1989) Sensory and motor responses of trigeminal and reticular neurons during ingestive behavior in rats. *Exp Brain Res* 76:386-400.
402. Yamamoto T, Shiosaka S, Daddona PE, Nagy JI (1988) Further observations on the relationship between adenosine deaminase-containing axons and trigeminal

- mesencephalic neurons: an electron microscopic, immunohistochemical and anterograde tracing study. *Neuroscience* 26: 669-80.
403. Yang HW, Min MY, Appenteng K, Batten TFC (1997b) Glycine-immunoreactive terminals in the rat trigeminal motor nucleus: light- and electron-microscopic analysis of their relationships with motoneurons and with GABA-immunoreactive terminals. *Brain Res* 794: 301-319.
404. Yang QZ, Hatton GI (1999) Nitric oxide via cGMP-dependent mechanisms increase dye coupling and excitability of rat supraoptic nucleus neurons. *J Neurosci* 19: 4270-4279.
405. Yang XD, Korn H, Faber DS (1990) Long-term potentiation of electrotonic coupling at mixed synapses. *Nature* 348: 542-545.
406. Yasui Y, Itoh K, Mitani A, Takada M, Mizuno N (1985) Cerebral cortical projections to the reticular regions around the trigeminal motor nucleus in the cat. *J Comp Neurol* 241: 348-356.
407. Yoshida A, Hiraga T, Moritani M, Chen K, Takatsuki Y, Hirose Y, Bae YC, Shigenaga Y (1998) Morphological characteristics of physiologically defined neurons in the cat trigeminal nucleus principalis. *J Comp Neurol* 401: 308-328.
408. Yoshida A, Yasuda K, Dostrovsky JO, Bae YC, Takemura M, Shigenaga Y, Sessle BJ (1994) Two major types of premotoneurons in the feline trigeminal nucleus oralis as demonstrated by intracellular staining with horseradish peroxidase. *J Comp Neurol* 347: 495-514.
409. Yoshida S, Oka H (1998) Membrane properties of dissociated trigeminal mesencephalic neurons of the adult rat. *Neurosci Re.* 30: 227-234.

410. Zarrindast MR, Moini-Zanjani T, Manaheji H, Fathi F (1992) Influences of dopamine receptors on chewing behaviour in rats. *Gen Pharmacol* 23: 915-9.
411. Zhang J, Luo P (2003) Ultrastructural features of synapse from dorsal parvocellular reticular formation neurons to hypoglossal motoneurons of the rat. *Brain Res* 963: 262-273.
412. Zhang J, Luo P, Pendlebury WW (2001) Light and electron microscopic observations of a direct projection from mesencephalic trigeminal nucleus neurons to hypoglossal motoneurons in the rat. *Brain Research* 917: 67-80.
413. Zhang J-D, Wang L, Wang B-R, Li J-S (1992) Mesencephalic trigeminal nucleus neurons with collaterals to both the masseter and the inferior alveolar nerves. A fluorescent double-labeling study in the rat. *Neurosci Lett* 139: 224-226.
414. Zhang J-D, Yoshida A, Shigenaga Y (1997) Ultrastructural analysis of inputs around the soma of an intra-cellularly labeled masseter muscle spindle afferent in cat mesencephalic trigeminal nucleus. *J Brain Res* 38: 495-502.