

Université de Montréal

**Connectivité fonctionnelle entre le noyau sensoriel
principal du trijumeau et le noyau moteur du trijumeau**

par MOHAMMED SLAOUI HASNAOUI

Département de neurosciences, Université de Montréal
Faculté de Médecine

Mémoire présenté
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise
en Neurosciences

avril 2019

© Mohammed Slaoui Hasnaoui, 2019

Université de Montréal
Faculté de Médecine

Ce mémoire intitulé :

**Connectivité fonctionnelle entre le noyau sensoriel
principal du trijumeau et le noyau moteur du trijumeau**

Présenté par :

MOHAMMED SLAOUI HASNAOUI

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Réjean Dubuc : Président-rapporteur

Arlette Kolta : Directeur de recherche

Marina Martinez : Membre du jury

Résumé

Les mouvements masticatoires sont générés par un réseau neuronal localisé dans le tronc cérébral connu sous le nom de générateur de patron central (GPC). De plus en plus d'évidences dans la littérature associent le noyau sensoriel principal du trijumeau (NVsnpr) au cœur rythmogène du GPC masticatoire, bien qu'il soit traditionnellement considéré comme un relais sensoriel au thalamus. La présente étude amène une nouvelle preuve de connectivité fonctionnelle entre le NVsnpr et le noyau moteur du trijumeau (NVmt) contenant les motoneurones (MNs) innervant les différents muscles masticatoires. Nos résultats indiquent que les neurones projetant vers NVmt sont situés dans le $\frac{3}{4}$ dorsal du NVsnpr. La stimulation électrique dans le NVsnpr dorsal évoque des réponses synaptiques excitatrices multiphasiques dans les MNs trigéminaux tandis que l'application locale de BAPTA, connue pour induire une activité rythmique dans les neurones du NVsnpr, évoqua aussi une activité rythmique dans les MNs, supportant davantage la relation fonctionnelle entre ces deux noyaux en termes de transmission de rythme. En imagerie calcique, la stimulation électrique de NVsnpr évoquait des réponses calciques dans les MNs situées principalement dans la région dorsolatérale contenant les MNs des muscles de fermeture et révéla un patron spécifique de connectivité entre les deux noyaux. L'organisation des projections semblait dépendre de manière critique de la localisation dorso-ventrale du site de stimulation au sein du NVsnpr. La principale tendance observée concernait la région DL de NVmt recevant des inputs du NVsnpr dorsal (R1 et R2), alors que la région ventromédiane de NVmt recevait plutôt des inputs de R2 et R3, qui représentent la majeure partie de la région intermédiaire du NVsnpr. Cette étude confirme et développe les expériences antérieures en explorant la nature physiologique et la topographie fonctionnelle de la connectivité entre NVsnpr et NVmt.

Mots-clés : Mastication, trigéminal, NVsnpr, NVmt, motoneurones, muscles masticatoires, décharge rythmique, connectivité

Abstract

Masticatory movements are generated by a brainstem neuronal network known as the central pattern generator (CPG). Increasing evidence associate the trigeminal main sensory nucleus (NVsnpr) to the rhythmogenic heart of the masticatory CPG, despite the fact that it is conventionally seen as a sensory relay to the thalamus. The present study provides new evidence of a functional connectivity between NVsnpr and the trigeminal motor nucleus (NVmt), known to contain all the motoneurons (MNs) innervating jaw muscles. Our results indicate that neurons projecting to NVmt are located in the dorsal $\frac{3}{4}$ region of NVsnpr. Electrical stimulation of the dorsal NVsnpr induced multiphasic excitatory synaptic responses in trigeminal MNs while BAPTA application, which causes NVsnpr neurons to fire rhythmically, also induced rhythmic firing in some MNs, further emphasizing the functional relationship between these two nuclei in terms of rhythm transmission. In our calcium imaging experiments, electrical stimulation of NVsnpr evoked calcium responses in MNs located mainly in the jaw-closing region of NVmt and revealed a specific pattern of connectivity between the two nuclei. The organization of the projections seemed to depend critically on the dorsoventral location of the stimulation site within NVsnpr. The dorsolateral region of NVmt received mainly inputs from the dorsal NVsnpr (R1 and R2), whereas the ventromedial region of NVmt was found to receive inputs from R2 and R3 which account for the major part of the intermediate division of the NVsnpr. This study confirms and develops earlier experiments by exploring the physiological nature and functional topography of the connectivity between NVsnpr and NVmt that was demonstrated in the past with neuroanatomical techniques.

Keywords : Mastication, trigeminal, NVsnpr, NVmt, motoneurons, jaw muscles, burst firing, connectivity

Table des matières

Résumé.....	1
Abstract.....	3
Table des matières.....	4
Liste des tableaux.....	7
Liste des figures.....	8
Liste des abréviations.....	10
Remerciements.....	13
CHAPITRE 1.....	14
1. Introduction.....	14
1.1 Mise en contexte.....	14
1.2 Mastication.....	15
1.2.1 Mouvement masticatoire.....	15
1.2.2 Séquence masticatoire.....	19
1.2.3 Ontogénèse du mouvement masticatoire.....	21
1.3 Structures du circuit neuronal qui sous-tend la mastication.....	22
1.3.1 Contrôle central de la mastication.....	24
1.3.2 GPC masticatoire.....	28
1.3.2.1 Localisation.....	28
1.3.2.2 Mécanismes de la rythmogénèse.....	39
1.3.2.3 NVsnpr : cœur du GPC masticatoire.....	41
1.3.2.4 Rythmogénèse dans le NVsnpr.....	44
1.3.3 Contrôle périphérique de la mastication : innervation orofaciale.....	47
1.3.4 Contrôle moteur des muscles masticatoires : le NVmt.....	51
1.3.4.1 Composition du NVmt.....	51
1.3.4.2 Inputs au NVmt.....	53
1.3.4.3 Organisation myotopique.....	57
1.3.4.4 Compartimentalisation des muscles masticatoires.....	59
1.4 Objectifs de l'étude.....	61
CHAPITRE 2.....	62

2. Résultats.....	62
2.1 ABSTRACT.....	63
2.2 INTRODUCTION	64
2.3 RESULTS	66
2.3.1 Anatomical evidence of connectivity between NVsnpr and NVmt.....	66
2.3.2 Electrophysiological evidence of connectivity between NVsnpr and NVmt	68
2.3.2.1 Whole-cell recordings of trigeminal MNs	68
2.3.3 Functional evidence of connectivity between NVsnpr and NVmt revealed by calcium imaging	71
2.3.4 Induction of rhythmic firing in NVsnpr neurons and transmission to MNs	74
2.3.4.1 BAPTA-induced bursting in NVsnpr neurons.....	74
2.3.4.2 Calcium imaging of NVsnpr neurons	77
2.3.4.3 Trigeminal MNs responds to BAPTA-induced bursting in NVsnpr	79
Whole-cell recordings of MNs.....	79
Calcium imaging of MNs.....	82
2.4 DISCUSSION.....	84
2.4.1 Connectivity.....	85
2.4.1.1 Anatomical evidence.....	85
2.4.1.2 Electrophysiological evidence	86
2.4.2 MNs respond to high frequency stimulation in NVsnpr	86
2.4.3 Topography	87
2.4.4 BAPTA induced rhythmic activity in NVsnpr.....	88
2.4.5 MNs respond to BAPTA-induced bursting in NVsnpr.....	89
2.4.6 Conclusion	90
2.5 METHODS	91
2.5.1 Brainstem slice preparations	91
2.5.2 Electroporation and biocytin labelling.....	92
2.5.3 Electrophysiology	92
2.5.4 Calcium imaging.....	93
2.5.5 Drug application.....	94
2.5.6 Imaging analysis	94

2.5.7 Mapping analysis	95
2.5.8 Statistics	96
2.6 REFERENCES	97
CHAPITRE 3	85
3. Discussion.....	85
3.1 Le NVsnpr innerve directement les MNs trigéminaux	85
3.2 Réponses des MNs à la stimulation à haute fréquence du NVsnpr	88
3.3 Topographie	89
3.4 Induction d'activité rythmique dans le NVsnpr avec BAPTA	91
3.5 Réponses des MNs à l'application de BAPTA dans le NVsnpr	92
3.6 Perspectives futures	93
3.7 Conclusion	94
Bibliographie.....	95

Liste des tableaux

Table 1. Electrophysiological characteristics of trigeminal motoneurons and NVsnpr neurons

Liste des figures

Figure 1-1. Représentation frontale du cycle masticatoire.	16
Figure 1-2. Séquence masticatoire type chez le lapin éveillé lors de la mastication de pain. .	19
Figure 1-3. L'interaction des quatre structures neuronales permettant la genèse de mouvements rythmiques.....	23
Figure 1-4. Organisation kinésiotopique de l'aire corticale masticatoire (ACM) chez le lapin	25
Figure 1-5. Ancien model du GPC masticatoire chez le cochon d'Inde.....	30
Figure 1-6. Modèle récent du GPC masticatoire.....	32
Figure 1-7. Organisation schématique des connexions entre les neurones de la PériV (JuxtV, SupV et IntV) et de la PCRT.....	36
Figure 1-8. Modèle de la séquence d'évènements menant à la rythmogenèse dans le GPC masticatoire.	46
Figure 1-9. Innervation faciale (dermatomes) des trois branches du nerf du trijumeau (V1, V2 et V3).. ..	48
Figure 1-10. Hypothèse du circuit médullaire à la base des mouvements masticatoires lors des sensations de faim.	55
Figure 1-11. Organisation myotopique du noyau moteur du trijumeau (NVmt) représentée sur trois coupes coronales de rostral à caudal.....	58
Figure 2-1. Anatomical evidence of direct projections between NVsnpr and NVmt using biocytin-labelling.....	67
Figure 2-2. Electrical stimulation of NVsnpr induces monosynaptic responses in trigeminal MNs.. ..	71
Figure 2-3. High frequency electrical stimulation of NVsnpr induces transient and persistent calcium responses in trigeminal MNs.....	74
Figure 2-4. Local BAPTA application induces rhythmic bursting in mice NVsnpr neurons..	76
Figure 2-5. Local BAPTA application induces patterns of calcium responses in NVsnpr neurons reflecting those obtained in whole-cell configuration.	78

Figure 2-6. BAPTA-induced rhythmic activity in NVsnpr neurons can be relayed to NVmt...
..... 81

Figure 2-7. Local BAPTA application in NVsnpr induces single and rhythmic calcium
responses in trigeminal MNs. 83

Liste des abréviations

5-HT : sérotonine

ACM : aire corticale masticatoire

aCSF : fluide cérébro-spinal artificiel

AHP : après-hyperpolarisation

AMPA : acide alpha-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique

APV : acide 2-amino-5-phosphonovalérique

BK-Ca : grand courant potassique dépendant du calcium

CCK : cholécystokinine

CNST : complexe nucléaire du système trigéminal

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

ELL : lobe de ligne latérale électrosensoriel

FRL : formation réticulée latérale

FRM : formation réticulée médiane

GABA : acide gamma-aminobutyrique

GC : noyau gigantocellulaire

GCo : la région orale du noyau gigantocellulaire

GPC : générateur de patron central

GT : ganglion trigéminal

HRP : peroxydase de Raifort

I_h : courant activé par l'hyperpolarisation

I_{NaP} : courant sodique persistant

IntV : aire intertrigéminal

IRt : formation réticulaire intermédiaire

JuxtV : aire juxtatrégiminaire

M1 : cortex moteur primaire

mGluR : récepteurs métabotropiques du glutamate

MNs : motoneurones

NMDA : N-méthyl-D,-aspartate
nPontC : noyau pontis caudalis
NVII : noyau facial
NVmes : noyau mésencéphalique du trijumeau
NVmot : noyau moteur du trijumeau
NVsnpr : noyau sensoriel principal du trijumeau
NVsp : noyau spinal du trijumeau
NVspc : sous-noyau caudalis du noyau spinal trigéminal
NVspi : sous-noyau interpolaris du noyau spinal trigéminal
NVspo : sous-noyau oralis du noyau spinal trigéminal
NXII : noyau hypoglosse
PCRt : formation réticulée parvocellulaire
PCRt- α : la formation réticulée parvocellulaire ponto-médullaire
PeriV : aire péritrigéminal
PGC : noyau paragigantocellulaire
PPSE : potentiel postsynaptique excitateur
PPSI : potentiel postsynaptique inhibiteur
PT : tractus pyramidal
RMP: potentiel membranaire de repos
S1 : cortex somatosensoriel primaire
SK-Ca: petit courant potassique dépendant du calcium
SupV : aire supratrigéminal
TEA : tétraéthylamonium
TTX: tétrodotoxine
VPM : noyau ventral postéromédial du thalamus

À ma famille.

*“ celui qui suit un chemin par lequel il recherche d’acquérir une science, Allâh lui facilite
grâce à ce chemin un chemin pour le Paradis ”*

De SaHîH Mouslim

Remerciements

Je tiens d'abord à exprimer mes plus sincères remerciements à ma directrice de recherche, Dre Arlette Kolta, pour m'avoir donné l'opportunité de faire ma maîtrise dans son laboratoire de recherche. Votre encadrement et support tout au long de mon parcours au 2^e cycle ont contribué au développement de mes connaissances théoriques et techniques dans le domaine de la recherche scientifique. Vos feedback rigoureux et détaillés ainsi que vos sages conseils m'ont permis de me dépasser et d'aller au-delà des attentes. Je tiens aussi spécialement à exprimer ma gratitude à Dorly Verdier pour son constant soutien tout au long de ma maîtrise. Tu m'as soutenue du début jusqu'à la fin que ce soit au niveau technique ou même professionnel et je t'en suis énormément reconnaissant!

Un gros merci aux membres de mon comité de parrainage, Dr. Réjean Dubuc et Dre Marina Martinez pour leurs conseils et commentaires. Merci d'avoir accepté de faire partie de ce beau et long projet de recherche. Je remercie fortement les présents et anciens membres du laboratoire pour leurs précieux commentaires et supports. Merci pour tous ces beaux moments que nous avons partagés ensemble, certains resteront gravés dans ma mémoire à jamais! Je tiens aussi à remercier tous mes collègues du département de neuroscience pour avoir contribué de loin ou de près à l'avancement de ce projet de maîtrise.

Finalement, je tiens à remercier ma précieuse famille ainsi que mes proches pour leurs encouragements ainsi que leur soutien inconditionnel durant ce merveilleux périple académique.

CHAPITRE 1

1. Introduction

1.1 Mise en contexte

Les neurones montrent une capacité à produire un patron de décharge précis pour des fonctions spécifiques dans le cerveau. Certains neurones ont la capacité d'alterner entre deux modes de décharge soit le mode tonique (décharge occasionnelle ou répétitive de potentiels d'action singuliers) et le mode rythmique (« bouffées récurrentes de potentiels d'action se produisant à des intervalles de courtes durées surmontant un plateau de dépolarisation et séparées par de courtes périodes de repolarisation », (Kadala, Verdier et al. 2015)) selon l'information nerveuse qu'ils doivent encoder. Par exemple, chez le poisson électrique les neurones du lobe électrosensoriel de la ligne latérale (ELL) déchargent des bouffées rythmiques en réponse à des signaux de communication et des potentiels d'actions en réponse à des signaux de proies (Doiron, Chacron et al. 2003). L'activité en bouffées rythmiques est retrouvée de manière ubiquitaire dans le cerveau et semble aussi jouer un rôle important dans un grand nombre de fonctions notamment dans l'encodage au niveau de l'attention (Crick 1984), de l'intégration cognitive (Luu, Tucker et al. 2004), de la mémoire (Sederberg, Schulze-Bonhage et al. 2007), de l'état d'éveil et de sommeil (Destexhe, Contreras et al. 1999), de la coordination motrice (Kuhn, Williams et al. 2004) ainsi que dans plusieurs pathologies comme la maladie du Parkinson et l'épilepsie (McCormick and Contreras 2001, Goldberg, Rokni et al. 2004). Toutefois, les fonctions associées le plus souvent avec la décharge rythmique sont celles impliquant des mouvements rythmiques comme la locomotion, la respiration et la mastication.

1.2 Mastication

La mastication est une fonction vitale chez tous les mammifères, car elle permet le broyage des aliments ingérés afin de les préparer pour la déglutition et la digestion. Celle-ci est caractérisée par une contraction rythmique appropriée des muscles de la mâchoire.

1.2.1 Mouvement masticatoire

Ce mouvement complexe nécessite la coordination de la langue, des muscles de la mâchoire et du visage. Ceci permet le positionnement, la réduction et le broyage en petites fractions du bol alimentaire avant sa déglutition. De manière générale, la mastication est caractérisée par des mouvements alternés d'ouverture et de fermeture de la mâchoire. L'ouverture est effectuée par les muscles digastriques antérieurs, mylohyoïdes et ptérygoïdes latéraux alors que la fermeture est engendrée par les muscles masséters (superficiel et antérieur profond), temporaux et ptérygoïdes médians. Les ptérygoïdes permettent aussi d'autres types de mouvements lors la mastication notamment sur l'axe antéro-postérieur (protrusion) et latéro-médian (diduction). Les cycles du mouvement de la mandibule sont souvent illustrés en deux dimensions (en vue frontale) et ont une forme comparable à celle d'une larme légèrement penchée d'un côté (Bates, Stafford et al. 1975) (voir figure 1-1A). Ceci rejoint ce qui est généralement observé dans la mastication chez les mammifères où le mouvement d'ouverture se fait rarement par un mouvement vertical symétrique. En fait, ce dernier comporte généralement une légère déviation vers le côté où se trouve l'aliment à mastiquer (Bates, Stafford et al. 1975, Okayasu, Yamada et al. 2003). Les muscles infra-hyoïdiens facilitent ce mouvement en stabilisant l'os hyoïde et les sites d'insertions des muscles digastriques et génio-hyoïdiens (Crompton, Cook et al. 1975).

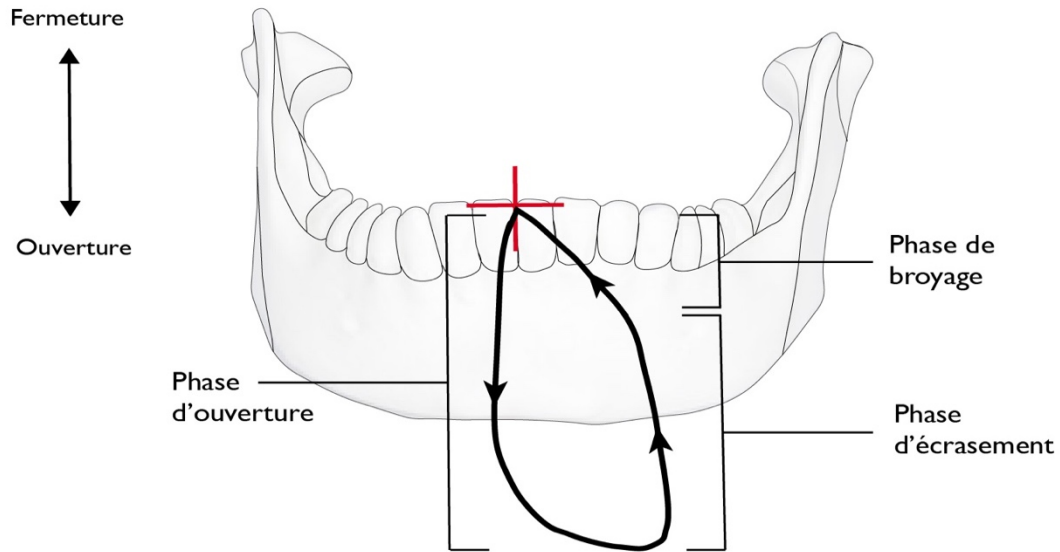
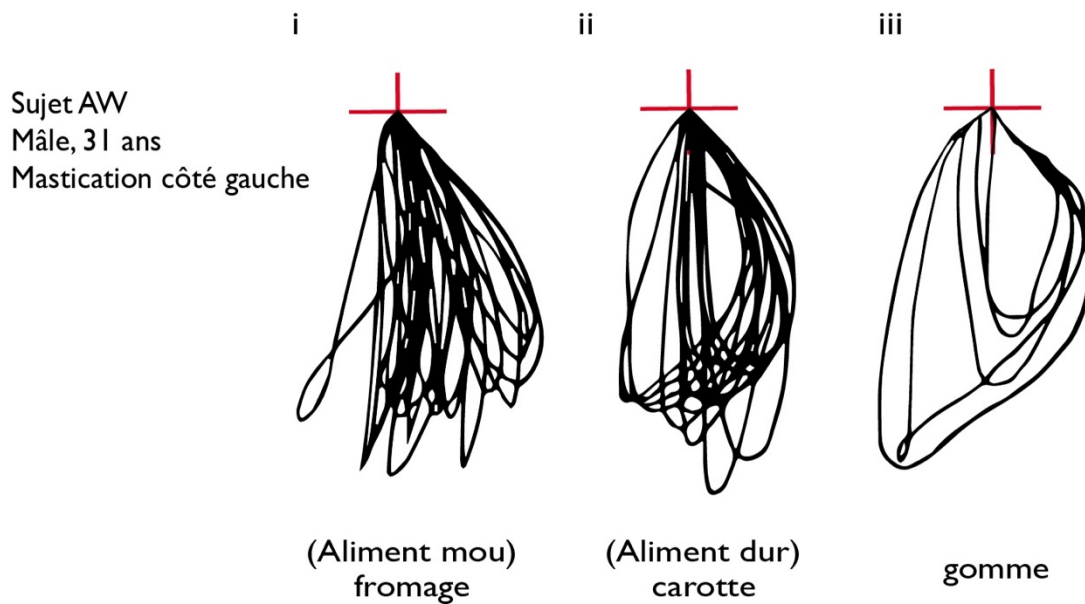
A**B**

Figure 1-1. Représentation frontale du mouvement de la mandibule dans un cycle masticatoire. (A) et sa variabilité selon la consistance des aliments (B). La mastication d'un aliment dur (ii, carotte) génère des cycles de plus grande amplitude que celle d'un aliment mou (i, fromage). À noter que la mastication de gomme (iii) produit des mouvements mandibulaires encore plus vastes et larges. (Adapté de (Lundeen, Lundeen et al. 1982)).

Ce mouvement fut largement étudié dans différents mammifères (chat (Gorniak and Gans 1980, Thexton, Hiiemae et al. 1980), lapin (Morimoto, Inoue et al. 1985, Schwartz, Enomoto et al. 1989), cochon d'Inde (Gorniak 1977), singe (Luschei and Goodwin 1974), humain (Hiiemae, Heath et al. 1996), rat (Weijs 1975, Byrd 1997) et souris (Kobayashi, Masuda et al. 2002, Okayasu, Yamada et al. 2003)). Ces études ont permis de mettre en évidence la présence d'une variabilité au niveau des patrons moteurs entre les espèces. La différence de la forme des os et des dents entre les espèces en serait la cause et permettrait une meilleure adaptation du patron moteur selon les types d'aliments qu'ils consomment (Luschei and Goodwin 1974, Thexton, Hiiemae et al. 1980, Hiiemae, Heath et al. 1996, Kobayashi, Masuda et al. 2002). Le mouvement masticatoire pour gruger des os et déchirer de la viande (carnivores) n'est vraisemblablement pas le même que celui utilisé pour le broyage d'aliments fibreux (herbivores). Chez les carnivores, le patron moteur est constitué principalement d'un déplacement vertical de la mandibule avec une plus grande force de fermeture. Pour les herbivores, il s'agit d'un mouvement de moins grande force, mais avec beaucoup de mouvements latéraux de la mandibule (Weijs 1994). La dureté des aliments agit aussi sur les cycles masticatoires soit plus précisément sur la phase de fermeture. En fait, plus l'aliment est dur, plus le mouvement de fermeture est latéral (voir figure 1-1B).

Bien qu'il y ait cette variabilité interspèce, Hiiemae mit de l'avant la présence d'une uniformité au niveau du patron d'activité des muscles de la mâchoire (Hiiemae 1978). Weijs décrit cette similarité en faisant la classification des patrons moteurs par rapport aux fonctions des muscles (selon la direction de traction des muscles) (Weijs 1994). Chez l'Homme, cette variabilité interindividuelle (Ahlgren 1966) fut observée entre la femme et l'homme (Agerberg 1974) ainsi qu'entre les jeunes et les personnes âgées (Gibbs, Wickwire et al. 1982). Il est important aussi de prendre en considération la variabilité entre les cycles d'une même série de mouvements (Proschel 1987, Proschel and Hofmann 1988). Une des raisons expliquant cette variabilité serait la transformation du bol alimentaire dans le temps impliquant des mouvements de moins en moins grands en amplitude et en force. Ceci confirme l'implication essentielle d'un feedback sensoriel dans l'adaptation du mouvement masticatoire en fonction de la consistance des aliments après chaque cycle qui sera décrit plus en détail dans la section [1.3.3](#).

La plupart des mammifères ont recours à une mastication asymétrique bilatérale alternée avec un côté « travaillant » (côté où le broyage des aliments a lieu) et un autre « balancier » pour permettre une meilleure efficacité du mouvement. Ceci permet l'utilisation en alternance des deux côtés de la mâchoire lors du broyage des aliments. Les rongeurs, pour leur part, utilisent un mouvement symétrique bilatéral avec presque pas de mouvement transverse et latéral de la mandibule. Les rats, par exemple, priorisent plutôt le mouvement répété de la mandibule de l'arrière vers l'avant (Weijs 1975). De plus, ils possèdent deux paires d'incisives en croissance constante leur permettant de broyer, percer et couper une vaste gamme d'aliments (Weijs 1994). Ceci met en évidence que malgré leur forte spécialisation en ce qui a trait à leur système masticatoire, les rongeurs possèdent tout de même un répertoire alimentaire très variée (Landry 1970).

1.2.2 Séquence masticatoire

La séquence masticatoire représente un ensemble de cycles qui varient en forme selon la consistance des aliments et s'étend de l'ingestion jusqu'à la déglutition. Chez le lapin, cette dernière est séparée en trois périodes : préparation, réduction et pré-déglutition (Lund 1991, Yamada and Yamamura 1996) (voir figure 1-2A).

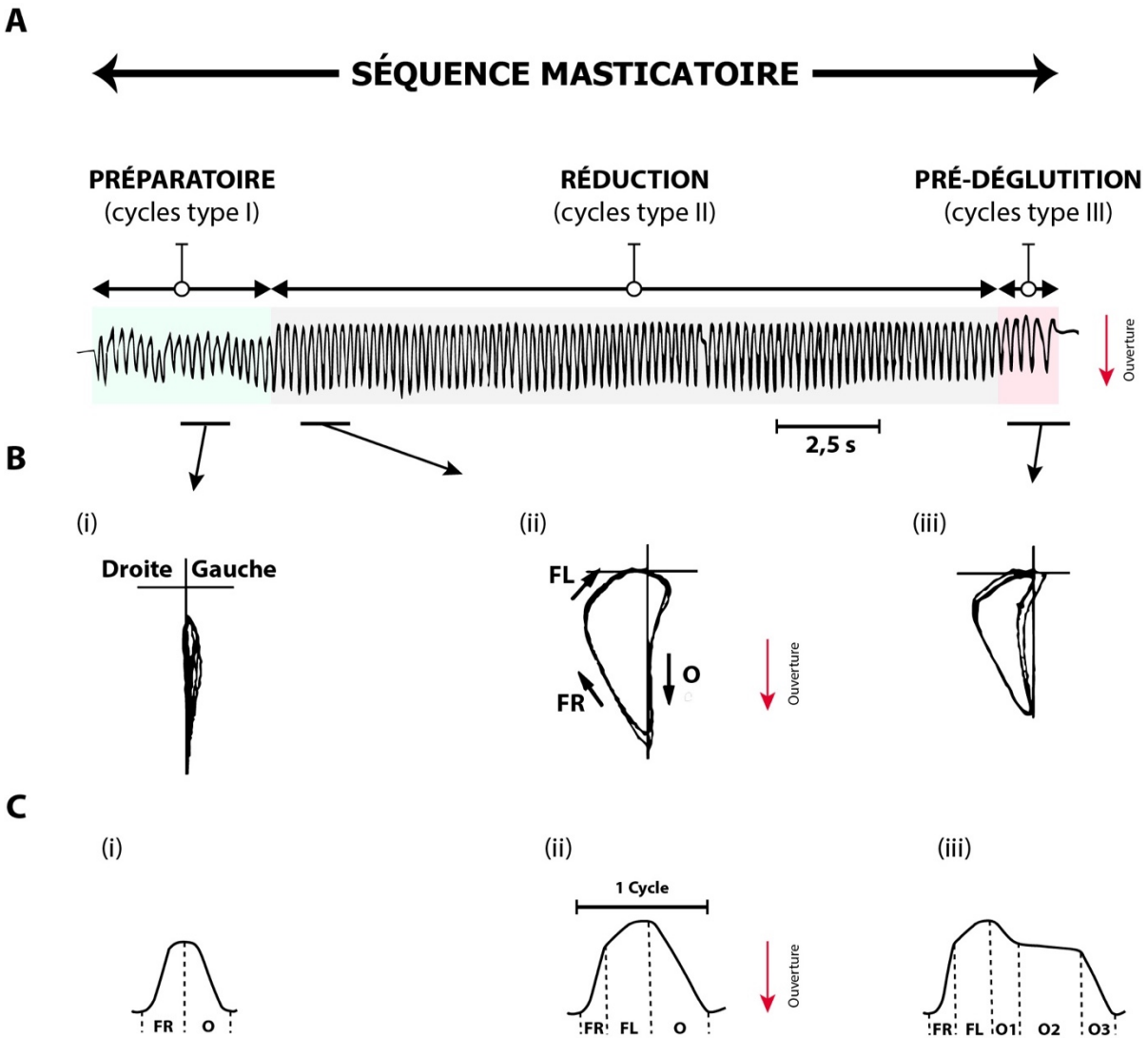


Figure 1-2. Séquence masticatoire type chez le lapin éveillé lors de la mastication de pain. Les mouvements verticaux de la mâchoire pour la période de préparation (i), de réduction (ii) et de pré-déglutition (iii) sont illustrés selon une séquence temporelle (A). Dans la section inférieure, les différentes phases des cycles masticatoires (types I, II et III) sont représentées soit par des trajectoires mandibulaires en vue frontale (B) ou par des mouvements d'ouverture et de fermeture de la mâchoire (C) en fonction du temps. FR : fermeture rapide; FL : fermeture lente; O : ouverture; O1, O2 et O3 : sous-composantes de la phase d'ouverture lors de la période de pré-déglutition. Modifié de (Yamada and Yamamura 1996).

Dans la période de préparation se déroule le découpage grossier des aliments en fractions qui sont ensuite transportées par la langue vers les dents postérieures. Les cycles de type I de cette période comportent deux phases soit l'ouverture et la fermeture rapide (FR) (voir figure 1-2Bi et Ci). L'implication des muscles digastriques est plus importante (peu de mouvement latéral) alors que les muscles de fermeture sont beaucoup moins sollicités dans le mouvement (voir figure 1-2Bi).

Une fois les aliments bien positionnés, la majeure partie du broyage se déroule dans la période de réduction. Celle-ci est la plus longue de la séquence masticatoire et est formée des cycles de type II ayant, en plus des phases d'ouverture et de FR, une phase de fermeture lente (FL) (voir figure 1-2Bii et Cii). Similaire chez l'Homme (Hannam, De Cou et al. 1977) et le macaque (Luschei and Goodwin 1974), l'ouverture est rapide et régulière avec une légère déviation latérale vers le côté travaillant. La phase de FL débute lorsque le contact entre les aliments et les dents se fait et constitue un mouvement médian de la mandibule permettant le broyage continu de la nourriture entre les molaires supérieures et inférieures. Bien évidemment, la taille du bolus alimentaire diminue après chaque cycle causant, en conséquence, la baisse graduelle de l'amplitude du mouvement vertical de la mandibule qui se poursuit aussi durant la pré-déglutition (voir figure 1-2A et B). Le rythme masticatoire d'aliments durs lors de la réduction est de 5,6 Hz chez la souris (Kobayashi, Masuda et al. 2002), entre 5 et 5.5 Hz chez le rat (Thomas and Peyton 1983), entre 3.3 et 4 Hz chez le lapin (Morimoto, Inoue et al. 1985), entre 2.5 et 3.3 Hz chez le singe (Luschei and Goodwin 1974) et allant de 1.2 à 1.7 Hz chez l'Homme (Lassauzay, Peyron et al. 2000). La fréquence des cycles de mastication dans cette période varie selon plusieurs paramètres comme la masse corporelle et la largeur de la mâchoire. Une étude effectuée dans 26 espèces de mammifères a mis en évidence que le rythme masticatoire varie proportionnellement au poids corporel à la puissance $-0,128$ (Druzinsky 1993). Ainsi, les petits mammifères mastiquent plus rapidement que les mammifères de plus grande taille.

Finalement, la dernière période consiste au bon positionnement du bolus alimentaire dans l'arrière de la cavité orale pour la déglutition. Cette dernière comporte cinq phases soit les deux phases de fermeture (FR et FL) avec deux phases d'ouverture (O1 et O3) séparées par une pause (O2) (voir figure 1-2Ciii).

1.2.3 Ontogenèse du mouvement masticatoire

Chez les mammifères, les premiers mouvements de la mâchoire apparaissent durant la période fœtale (Humphrey 1968, Narayanan, Fox et al. 1971). D'abord, il y a apparition de l'ouverture active de la mandibule suivie d'une fermeture passive (Herring 1985). Ensuite, il y a la fermeture active de la mandibule suivie des mouvements de la langue et des lèvres (Herring and Lakars 1982). Des mouvements de succion sont aussi observables chez certains mammifères (Windle and Griffin 1931, Humphrey 1968) et chez le cochon d'Inde, qui possède des molaires complètement formées à la naissance, des mouvements de mastication commencent même à apparaître à la fin de la gestation (Teaford and Walker 1983). Ces mouvements oraux survenant avant la naissance sont indispensables, car ils permettent le bon développement de la mâchoire (Herring and Lakars 1982). Après la naissance, les mammifères utilisent principalement la succion pour s'alimenter de lait. Ce dernier est acheminé dans la cavité orale grâce à la pression négative produite par l'ouverture de la mâchoire (Colley and Creamer 1958) combinée avec la fermeture de la mâchoire et la rétraction de la langue (Ardran, Kemp et al. 1958). Finalement, la succion cède sa place à la mastication permettant le broyage efficace des aliments durs grâce à une plus forte activation des muscles de fermeture. Chez la plupart des mammifères, l'éruption des molaires précède généralement l'émergence de la mastication qui correspondrait chez le rat à la fin de la deuxième semaine postnatale (P12) (Westneat and Hall 1992).

Dans la littérature, le mécanisme de transition entre la succion et la mastication est sujet à controverse. Ceci serait dû à la difficulté de déterminer quand et comment les réseaux associés à ces deux mouvements diffèrent l'un de l'autre (Morquette, Lavoie et al. 2012). Une hypothèse plausible serait que le réseau impliqué dans la succion évoluerait pour soutenir ultérieurement celui de la mastication. Chez le rat, il a été démontré que la succion et subséquemment la mastication étaient induites par deux réseaux corticaux différents (Iriki, Nozaki et al. 1988) et que des similitudes entre les patrons moteurs de ces deux types mouvements étaient observables (Westneat and Hall 1992).

1.3 Structures du circuit neuronal qui sous-tend la mastication

Comme décrit par Feldman et Grillner (Feldman and Grillner 1983), le circuit nerveux générant des mouvements rythmiques comme la mastication est composé essentiellement de quatre structures (voir figure 1-3). Tout d'abord, un centre supérieur permettrait l'initiation, le maintien et l'ajustement prédictif des patrons rythmiques masticatoires selon les signaux environnementaux par l'activation d'un réseau neuronal distinct. Une fois activé, ce dernier produit des patrons d'activité rythmique qu'il relaye à différents groupes de motoneurones (MNs) dans les différents noyaux moteurs impliqués dans le mouvement. Ces MNs génèrent la commande motrice du mouvement en contrôlant directement la contraction des muscles de la mâchoire. Lors du mouvement, les récepteurs sensoriels de la région orofaciale sont activés et un feedback sensoriel est généré en conséquence pour permettre l'adaptation continue tout au long du mouvement.

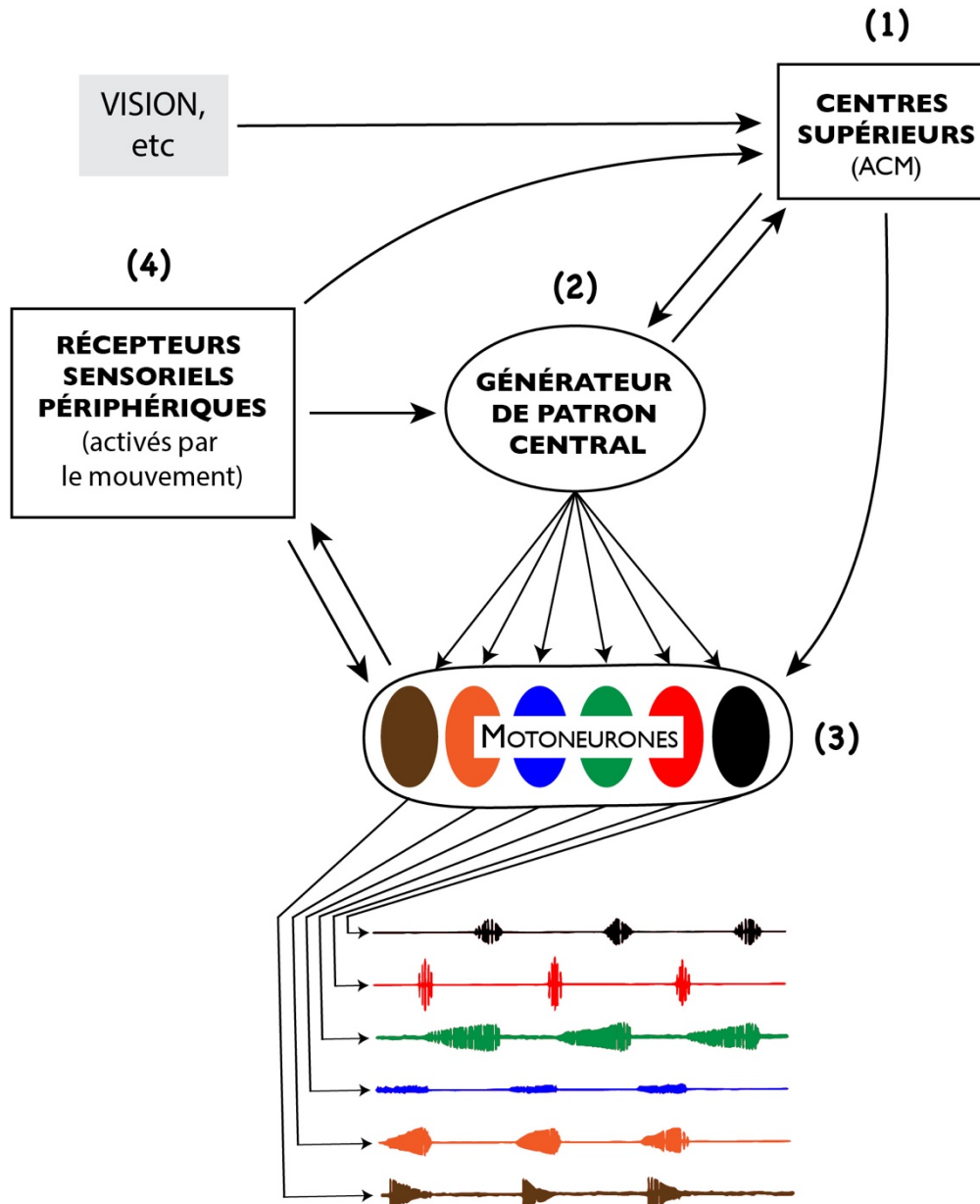


Figure 1-3. L'interaction des quatre structures neuronales permettant la genèse de mouvements rythmiques. 1) Un centre supérieur est responsable de l'initiation et le maintien d'un patron d'activité approprié en fonction des signaux environnementaux. 2) Un réseau neuronal, communément intitulé le générateur de patron central (GPC), permet lorsqu'activé de produire et coordonner des patrons d'inputs rythmiques. 3) Une région output composée des motoneurones contrôlant les muscles d'intérêt. 4) Des récepteurs activés durant le mouvement fournissant un feedback sensoriel nécessaire à l'adaptation des mouvements en cours d'exécution. Pour le cas de la mastication, les structures impliquées sont respectivement l'aire corticale masticatoire (ACM), un réseau neuronal pontique situé à proximité des motoneurones trigéminaux, les afférences trigéminales primaires innervant la région orofaciale et le noyau moteur du trijumeau (NVmt). Adapté de (Feldman and Grillner 1983).

1.3.1 Contrôle central de la mastication

Le cortex sensorimoteur joue un rôle important dans le contrôle et l'exécution de mouvements complexes du corps grâce entre autres à son organisation. Le cortex somatosensoriel primaire (S1) reçoit des inputs sensoriels en provenance de la région orofaciale par l'intermédiaire du tronc cérébral et du thalamus. De plus, une somatotopie de ces projections ascendantes est présente et celle-ci est conservée tout au long du circuit. Le cortex moteur primaire (M1) reçoit des inputs du S1 et possède aussi une somatotopie de la représentation des muscles de la mâchoire, du visage, de la langue, du palais, du pharynx et du larynx (Avivi-Arber and Sessle 2018).

L'induction des mouvements masticatoires par stimulation du cortex fut pour la première fois démontrée chez le lapin par David Ferrier en 1886. Cette étude fut répliquée dans plusieurs autres mammifères, mais le chat, le lapin et le cochon d'Inde restent les modèles animaux les plus utilisés, car ils génèrent les mouvements masticatoires les plus proches des mouvements naturels suite aux stimulations corticales (Lund 1991). La région du cortex où la stimulation électrique induit la mastication est surnommée l'aire corticale masticatoire (ACM). Sa position varie selon l'espèce, mais se retrouve adjacente et latérale aux M1 et S1 (Avivi-Arber and Sessle 2018). Chez l'humain et le singe, l'ACM se situe dans la partie inférieure du gyrus précentral chevauchant partiellement M1 (Beevor, Horsley et al. 1888, Lund and Lamarre 1974). Toutefois, chez les mammifères moins développés, comme le lapin et le cochon d'Inde, l'ACM chevauche complètement les représentations du visage, de la mâchoire et de la langue de M1 et S1 (Bremer 1923, Goldberg and Tal 1978, Lund, Sasamoto et al. 1984, Nozaki, Iriki et al. 1986a, Liu, Masuda et al. 1993). Chez le lapin, Bremer identifia trois régions dans l'ACM générant différentes formes de mouvements masticatoires (ronger, mastication verticale et ruminer) une fois stimulées électriquement (Bremer 1923). En 1984, Lund *et al.* confirmèrent la présence d'une telle représentation kinésiotopique de la mastication dans le cortex. La stimulation de l'ACM antérieure induisait des cycles de type I de la période de préparation alors que la stimulation de l'ACM postéro-latérale générait des cycles de type II de la période de réduction (Lund, Sasamoto et al. 1984) (voir figure 1-4).

KANIN-49

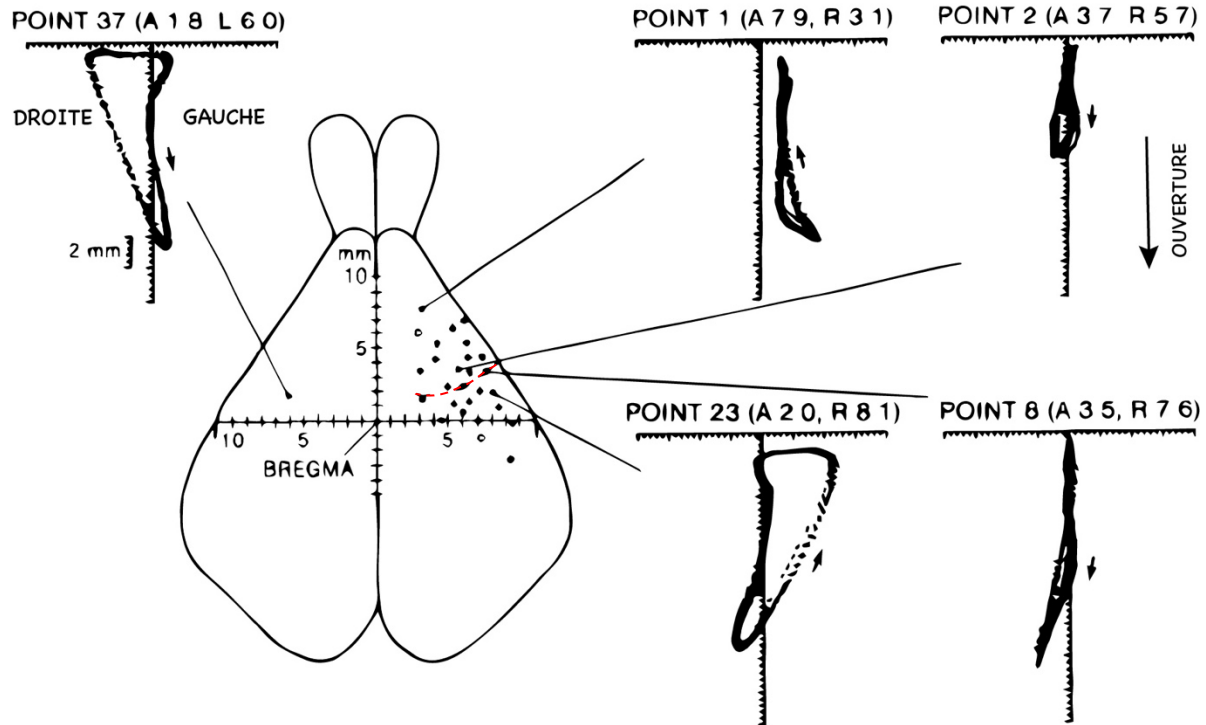


Figure 1-4. Organisation kinésiotopique de l'aire corticale masticatoire (ACM) chez le lapin. Les différents sites dans le cortex droit où la mastication a pu être évoquée par une stimulation électrique répétitive de 52mA sont identifiés par des cercles noirs (plein). La ligne rouge pointillée courbée illustrée représente la limite postérieure de la région corticale pouvant produire une mastication purement verticale. Les cycles masticatoires évoqués postérieurement à cette ligne comportent une forte déviation latérale gauche durant la phase de fermeture. À noter que les stimulations d'un site comparable au niveau du cortex gauche produisent des mouvements miroirs. Adapté de (Lund, Sasamoto et al. 1984).

Différents types de mouvements rythmiques de la mâchoire furent évoqués par deux régions distinctes du cortex chez le chat (Iwata, Itoga et al. 1985) et le rat (Sasamoto, Zhang et al. 1990, Uchino, Higashiyama et al. 2015) et par quatre chez le singe (Hatanaka, Tokuno et al. 2005). Cette différence au niveau des patrons moteurs serait expliquée par la présence des voies descendantes distinctes dans l'ACM et impliquerait donc une combinaison de recrutement neuronal à différents niveaux (Kato, Seki et al. 2015).

Ces voies descendantes projettent directement (faisceau cortico-bulbaire) ou indirectement (via des relais sous-corticaux) aux pré-MNs trigéminaux. La voie directe est rapide (1.1-1.4ms) et produit l'inhibition controlatérale des MNs de fermeture suivie de l'excitation bilatérale des

MNs d'ouverture (Luschei and Goldberg 1981, Widmalm, Lillie et al. 1988, Cruccu, Berardelli et al. 1989). Certains ont démontré la présence d'une connectivité monosynaptique des neurones corticobulbaires avec les MNs trigéminaux (Cruccu, Berardelli et al. 1989) alors que d'autres postulent plutôt que les fibres atteignent d'abord les pré-MNs trigéminaux (Hatanaka, Tokuno et al. 2005). En effet, l'activité des interneurons trigéminaux de dernier ordre situés dans l'aire péritrigéminale (PériV) entourant le côté médian, dorsal et latéral du NVmt dans le pons (soit respectivement l'aire juxtatrige minale (JuxtV), supratrigéminale (SupV) et intertrigéminale (IntV)), le noyau sensoriel principal du trijumeau (NVsnpr), la sous-division orale du noyau spinal du trijumeau (NVspo) et la formation réticulée parvocellulaire (PCRt) est synchronisée avec les phases d'ouverture et de fermeture de la mâchoire lors de la mastication induite par la stimulation de l'ACM (Inoue, Chandler et al. 1994, Westberg, Clavelou et al. 1998, Tsuboi, Kolta et al. 2003). Chez le singe, une ablation de l'ACM cause l'incapacité à maintenir une force constante de morsure ce qui apporte une autre preuve de l'implication du cortex dans les mouvements volontaires de la mâchoire (Luschei and Goodwin 1975). La voie indirecte projette au système trigéminale en passant par différentes sous-structures (thalamus, ganglions de la base, amygdale, mésencéphale, PCRt ponto-médullaire (PCRt- α) et le système trigéminale) qui peuvent, lorsque stimulées, induire des mouvements rythmiques de la mâchoire (Dellow and Lund 1971, Sumi 1971, Lund and Dellow 1973, Nozaki, Iriki et al. 1986a, Hashimoto, Katayama et al. 1989).

La fréquence de stimulation minimale de l'ACM requise pour permettre ces mouvements rythmiques de la mandibule est de 10Hz pour une durée supérieure à 100 ms avec un effet optimum entre 40 et 60 Hz (Dellow and Lund 1971, Huang, Hiraba et al. 1989). La variation de la fréquence de stimulation n'affecte pas le rythme masticatoire et ce même à haute fréquence. Chez le lapin, Lund et Dellow utilisèrent une gamme de fréquences de stimulation électrique allant de 20 à 200Hz et observèrent des mouvements de la mâchoire à des latences allant de 200ms à 10s sans variation significative au niveau du rythme masticatoire. L'indépendance du rythme masticatoire par rapport aux variations de la fréquence de stimulation dans l'ACM combiné aux longues latences des mouvements observés suggère l'implication d'une sous-structure qui serait activée par l'ACM et qui générerait le rythme.

Bien que l'input cortical soit important pour le mouvement volontaire de la mâchoire, il n'est toutefois pas requis dans l'induction de la mastication. L'ablation de l'ACM empêche l'initiation volontaire du mouvement ainsi que la capacité à avaler le bolus alimentaire sans toutefois empêcher la mastication en tant que telle (Larson, Byrd et al. 1980, Enomoto, Schwartz et al. 1987). En effet, la mastication a pu être induite chez des animaux décérébrés suite à une stimulation périphérique adéquate suggérant que les inputs corticaux serviraient d'initiateur et non de générateur de rythme (Bazett and Penfield 1922, Bremer 1923).

1.3.2 GPC masticatoire

Les générateurs de patron centraux (GPC) sont des circuits neuronaux qui permettent une fois activés, de générer des mouvements rythmiques comme la locomotion, la respiration et la mastication et ce en absence de feedback sensoriel et d'inputs corticaux. Le GPC masticatoire est défini comme étant celui qui génère une activité rythmique en alternance dans les MNs innervant les muscles d'ouverture et de fermeture de la mâchoire (Luschei and Goldberg 1981).

1.3.2.1 Localisation

Lund et Dellow ont été les premiers à avoir démontré que le GPC masticatoire était localisé dans le tronc cérébral (Dellow and Lund 1971). Ils ont montré qu'une activité rythmique dans les nerfs de la mâchoire et de la langue pouvait être produite par des stimulations électriques dans les voies descendantes cortico-bulbaires chez le lapin paralysé et décérébré. Chez le chat, une expérience similaire démontra qu'une paralysie diminuerait la fréquence et l'amplitude de l'activité rythmique sans la bloquer totalement (Nakamura, Kubo et al. 1976). Il est important de mentionner que les patrons moteurs rythmiques de la mâchoire qui persistent en absence de mouvement chez les animaux décérébrés sont décrits comme étant une « mastication fictive » générée par les neurones qui composent le GPC masticatoire (Lund 1991). Les modèles de GPC masticatoire ont beaucoup changé au cours de l'histoire, mais un aspect fut préservé et c'est celui d'une double composante (générateur de rythme et de bouffées) dans la production des patrons rythmiques (Feldman, Smith et al. 1988). Le texte qui suit présente une description chronologique des différentes études qui ont mené à l'élaboration du modèle du GPC masticatoire.

Dans les années 80, la formation réticulée médiane (FRM) bulbaire était considérée comme la principale cible des projections de l'ACM et fut donc la première à être associée à la genèse du rythme. Le groupe de Nakamura a montré qu'une stimulation répétée du tractus pyramidal chez le cochon d'Inde anesthésié et décérébré cause une mastication fictive (Nozaki, Iriki et al. 1986a, Nozaki, Iriki et al. 1986b, Nozaki, Iriki et al. 1993). Ils ont par la suite examiné l'effet de sections sagittales et coronales à différents niveaux sur le rythme masticatoire afin d'identifier la position

du GPC. Suite aux stimulations électriques dans le tractus pyramidal, la décharge rythmique des neurones réticulaires fut observée dans une région s'étalant entre le noyau facial (NVII) et hypoglosse (NXII) (Nozaki, Iriki et al. 1986a). Ceci mena à l'identification de deux noyaux de la FRM bulbaire, la région dorsale du noyau paragigantocellulaire (PGC) et la région orale du noyau gigantocellulaire (GCo), responsables de la production du rythme. Selon le modèle de Nozaki *et al.*, l'ACM déclenche une décharge tonique exclusivement dans le PGC qui vient activer avec une courte latence le GCo qui lui génère et relaye des bouffées rythmiques au noyau moteur du trijumeau (NVmt). En effet, des enregistrements intracellulaires des neurones du PGC dorsal montrent des réponses monosynaptiques aux stimulations de l'ACM et des réponses antidromiques suite à la stimulation du GCo. De plus, la stimulation de l'ACM engendre du rythme dans le GCo similaire à celui enregistré dans les MNs trigéminaux. Chandler *et al.* confirment cette hypothèse par des expériences qui montrent que les phases du mouvement rythmique de la mâchoire induites par la stimulation de l'ACM peuvent être affectées par des microstimulations du PGC et GCo (Chandler and Goldberg 1988). En 1990, ils démontrent que ce rythme est aussi affecté par l'injection d'un anesthésiant local, la lidocaïne, dans ces deux noyaux (Chandler, Turman Jr et al. 1990).

Néanmoins, étant donné l'absence de connexions directes entre le GCo et les MNs trigéminaux (Travers and Norgren 1983, Landgren, Olsson et al. 1986) les auteurs ont dû réviser leur modèle et rajouter une projection supplémentaire vers des pré-MNs trigéminaux situés dans la région caudale de PCRt (adjacente au NXII) pour assurer le transfert de l'activité rythmique aux MNs (voir figure 1-5). Ceci rejoint la théorie selon laquelle les GPCs de tout mouvement rythmique seraient composés de deux systèmes distincts (Feldman, Smith et al. 1988). D'abord, un générateur de rythme déterminant la fréquence et la durée des cycles situé dans la FRM et ensuite un générateur de bouffées rythmiques qui dicte le patron d'activité spatio-temporelle des MNs situé dans la formation réticulée latérale (FRL). Ces pré-MNs auraient donc pour rôle de générer des bouffées rythmiques dans les MNs trigéminaux.

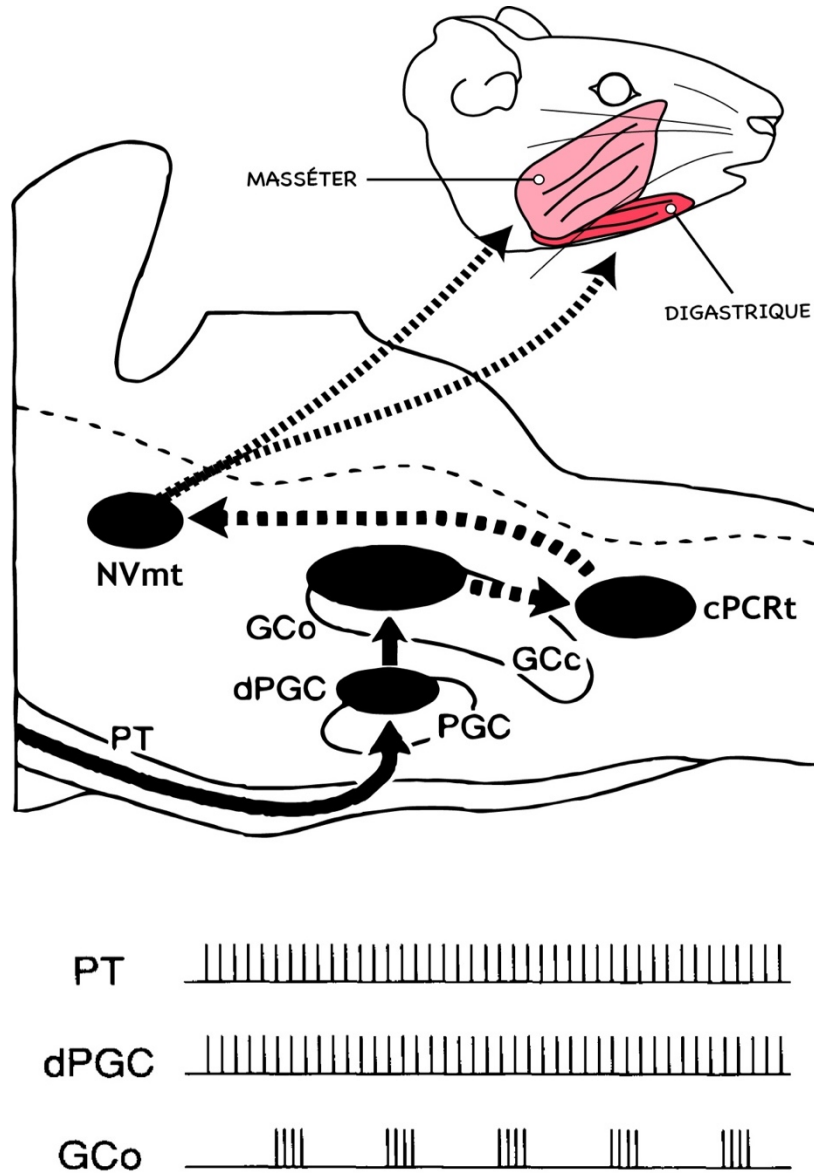


Figure 1-5. Ancien model du GPC masticatoire chez le cochon d'Inde. Illustration schématique de la chaîne neuronale partant du tractus pyramidal jusqu'au noyau moteur du trijumeau sur une vue sagittale du tronc cérébral. Les traits pointillés et continus des flèches représentent respectivement les activités rythmiques et non rythmiques. Le patron de décharge des neurones des différentes régions de la chaîne illustrées plus haut suggère que le rythme est généré dans le GCo et qu'il serait relayé aux motoneurones trigéminaux par le cPCRt. PT : tractus pyramidal; PGC : noyau paragigantocellulaire; dPGC : partie dorsale du noyau paragigantocellulaire; GCo et GCc : portion orale et caudale du noyau gigantocellulaire, respectivement; cPCRt : portion caudale de la formation réticulée parvocellulaire; NVmt : noyau moteur du trijumeau. Modifié de (Nakamura and Katakura 1995).

Étant donné qu'une section de la région caudale de PCRt (Chandler and Tal 1986) n'abolit pas la mastication fictive et que c'est dans la PCRt rostrale que se situe la majorité des neurones qui

communiquent directement avec les MNs trigéminaux (Kolta, Westberg et al. 2000), le groupe de Lund proposa en 1998 (Lund, Kolta et al. 1998) une alternative aux modèles proposés par le groupe de Nakamura (Nozaki, Iriki et al. 1993, Nakamura and Katakura 1995). Ces derniers positionnent le générateur de rythme encore plus rostral et y ajoutent une projection supplémentaire du générateur de bouffées vers le NVmt controlatéral (Lund 1991). L'ajout d'une telle projection dans son modèle était basé sur les données obtenues dans des études s'intéressant au mécanisme dans le GPC permettant la synchronisation des mouvements masticatoires (Chandler and Tal 1986, Nozaki, Iriki et al. 1991). Ces études ont montré qu'une section à la ligne médiane dans le pons abolit le rythme généré par la stimulation unilatérale de l'ACM seulement du côté ipsilatéral. Toutefois, une stimulation bilatérale dans les mêmes conditions génère du rythme des deux côtés, mais cette fois non synchronisé. Ces données suggèrent donc l'existence de deux GPCs indépendants contrôlés principalement par l'ACM controlatérale dont la coordination est assurée par des neurones commissuraux. Dans ce nouveau modèle (Lund, Kolta et al. 1998), les patrons masticatoires seraient produits par le GPC en deux étapes distinctes et par deux groupes neuronaux différents dans la région de la formation réticulée ponto-bulbaire, un groupe médian incluant le noyau pontis caudalis (nPontc) pour le rythme et un groupe latéral incluant la PCRt- α et le NVspo- γ pour le patron des bouffées. Ces deux derniers présentent en effet de l'activité rythmique en phase avec la mastication fictive, reçoivent des inputs corticaux et sensoriels et projettent bilatéralement au NVmt (Donga, Lund et al. 1990, Donga and Lund 1991). Le nPontc pour sa part se situe dans la portion caudale de la FRM pontique et possède dans sa partie dorsale des neurones actifs en phase avec les périodes d'ouverture et/ou de fermeture de la mâchoire durant la mastication fictive et d'autres dans sa partie ventrale présentent plutôt une décharge tonique (Westberg, Scott et al. 2001). G. Scott *et al.* (2003) se sont intéressés au rôle de ce noyau dans la production des bouffées rythmiques. Ils ont donc étudié l'effet d'injections d'un anesthésiant local (lidocaïne) ou de l'agoniste glutamatergique N-méthyl-D-aspartate (NMDA) dans le nPontc sur les patrons rythmiques masticatoires induits par la stimulation du cortex sensorimoteur dans le lapin anesthésié (Scott, Westberg et al. 2003). L'inhibition du nPontc ventral causa l'augmentation de la durée et de l'amplitude des bouffées dans les MNs digastriques alors que son activation bloque littéralement la mastication. L'inhibition du nPontc dorsal causa des effets variés avec une baisse plus fréquente de la durée et de l'amplitude des bouffées alors qu'aucun effet n'a été observé lors de

l'activation. Ces données suggèrent un effet varié du nPontc dorsal et un effet tonique inhibiteur du nPontc ventral sur des régions de la FRL du pons comportant la majeure partie des pré-MNs trigéminaux (Chandler, Turman Jr et al. 1990). Ces évidences ne permettent pas de confirmer le niveau d'implication du nPontc dans la genèse du rythme. Toutefois, bien qu'il ne projette pas directement au NVmt (Fay and Norgren 1997, Kolta, Westberg et al. 2000), ce dernier reçoit des inputs sensoriels polysynaptiques (Westberg, Clavelou et al. 1998, Westberg, Scott et al. 2001), des inputs corticaux à courtes latences et affecte l'output du GPC masticatoire en agissant directement sur les régions essentielles du générateur de patrons dans FRL (Scott, Westberg et al. 2003). Ceci mena le groupe de Lund à proposer un nouveau modèle du GPC masticatoire localisé rostralement au VII illustrant l'implication des différentes régions identifiées par Tanaka et al. 1999 dans la production des patrons rythmiques masticatoires (voir figure 1-7).

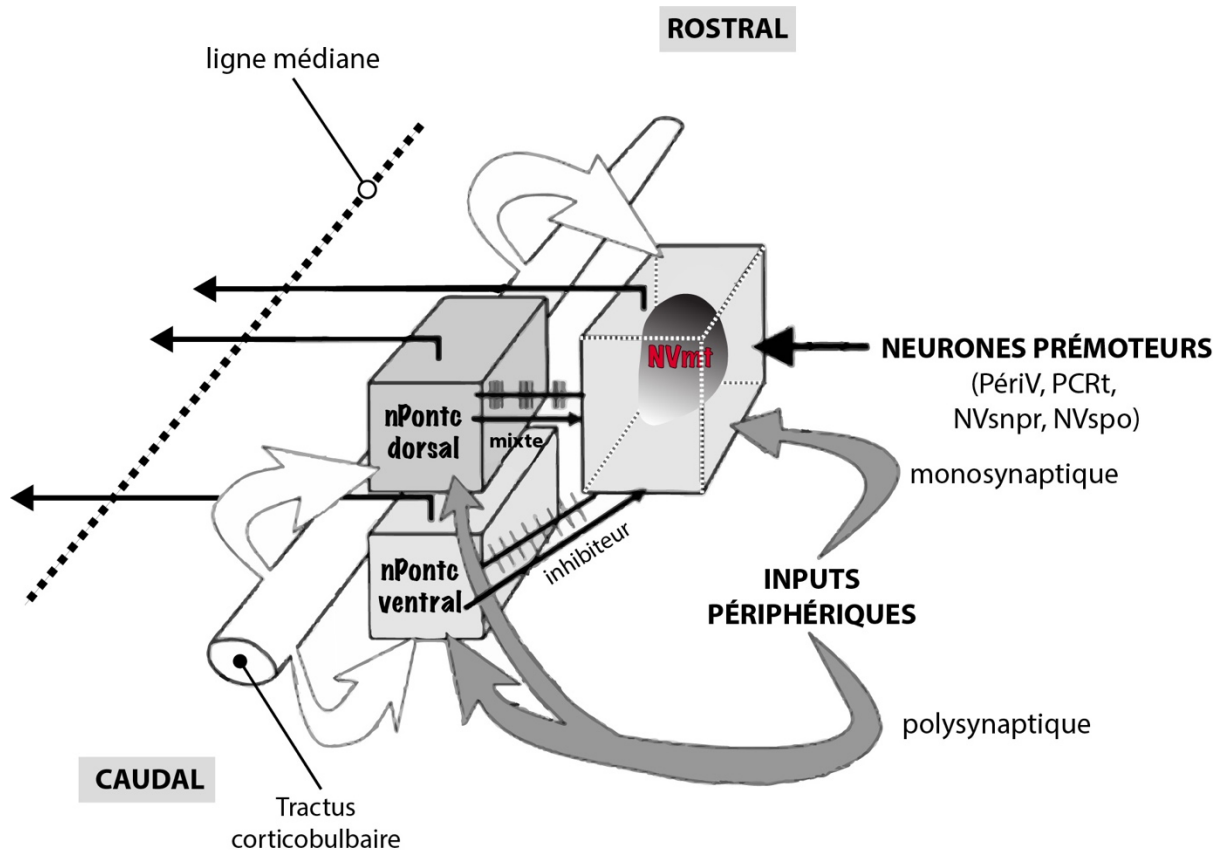


Figure 1-6. Modèle récent du GPC masticatoire. Ce modèle illustre les différents noyaux impliqués dans le GPC qui se retrouvent beaucoup plus rostral dans le tronc cérébral par rapport aux anciens modèles. On y retrouve le nPontc, la formation réticulaire pontique latérale entourant le NVmt (PériV et PCRt) et les noyaux

sensoriels trigéminaux (NVsnpr et NVspo). Ces derniers reçoivent tous en parallèle des inputs corticaux et périphériques avec le nPontc recevant les latences les plus longues. Le nPontc projette aux neurones prémoteurs projetant au NVmt. Le nPontc ventral effectue une inhibition tonique sur les neurones prémoteurs alors que sa région dorsale décharge de manière rythmique et a des effets variés. Les flèches noires projetant vers la gauche représentent les connexions commissurales. nPontc : noyau pontis caudalis; NVmt : noyau moteur du trijumeau; PériV : région péritrigéminale; PCRt : formation réticulaire parvocellulaire; NVsnpr : noyau sensoriel principal du trijumeau; NVspo : sous-division orale du noyau spinal du trijumeau. Modifié de (Scott, Westberg et al. 2003).

Une localisation du GPC masticatoire à proximité du NVmt est supportée par le fait que la mastication est compromise dans les souris knock-out *Krox-20^{-/-}* et *Hoxa-2^{-/-}* où le 3^e rhombomère, responsable du développement normal des circuits neuronaux de la formation réticulaire pontique caudale est atteint (Jacquin, Borday et al. 1996, Turman, Chopiuk et al. 2001, Chatonnet, Wrobel et al. 2007) et par des études ultérieures de tronc cérébral isolé « *in vitro* » où l'activité rythmique est enregistrée dans les nerfs trigéminaux même après une section rostrale au NVII (Kogo, Funk et al. 1996, Nakamura, Katakura et al. 1999, Tanaka, Kogo et al. 1999). Ces évidences ont permis à Tanaka et ses collaborateurs de délimiter la zone rythmogénique du GPC masticatoire entre le pôle rostral du NVmt et celui du NVII. En plus du NVmt, cette zone inclurait la région PériV, le NVspo- γ , la PCRt- α , la partie latérale du nPontc et le NVsnpr. Tous ces noyaux à l'exception du nPontc incluent des neurones déchargeant en phase avec la mastication fictive et projetant bilatéralement au NVmt (Donga, Lund et al. 1990, Donga and Lund 1991, Inoue, Masuda et al. 1992, Inoue, Chandler et al. 1994, Westberg, Clavelou et al. 1998, Westberg, Scott et al. 2001, Tsuboi, Kolta et al. 2003). Bien que l'implication de toutes ces régions dans la mastication soit évidente, il reste à savoir maintenant si elles jouent le rôle de générateur de rythme ou de patrons. Le rôle le plus probable des régions entourant le NVmt serait celui de générateur de bouffées étant donné que la majorité y projette directement alors que celles plus éloignées pourraient être impliquées dans la production du rythme. Mais encore, ce réseau d'interneurones est aussi une région d'intérêt en ce qui concerne la genèse du rythme, car le mécanisme de la genèse du rythme n'est toujours pas connu.

Pour discriminer entre les deux possibilités, des chercheurs ont étudié le patron de décharge des neurones de différentes régions lors de différents patrons masticatoires fictifs évoqués par la stimulation de différentes parties de l'ACM (Westberg, Clavelou et al. 1998, Westberg, Scott et

al. 2001, Tsuboi, Kolta et al. 2003) en raisonnant que la décharge des neurones responsables du rythme serait rythmique dans tous les patrons fictifs alors que celle des neurones responsables des bouffées ne le serait que dans un ou deux patrons. En effet, certaines sous populations de la FRL sont actives seulement lors d'un patron moteur alors que d'autres pouvaient décharger des bouffées en phase avec l'ouverture ou la fermeture de la mâchoire dans plus d'un patron impliquant ainsi une capacité du réseau à réorganiser les populations de pré-MNs actives durant la mastication. Westberg et ses collègues ont démontré que certains neurones déchargeant de manière rythmique dans la PCRt- α et le NVspo- γ pouvaient être actifs dans plus d'un patron moteur alors que d'autres étaient silencieux à l'exception d'un seul patron impliquant ainsi une constante réorganisation du réseau des pré-MNs recrutés (Westberg, Clavelou et al. 1998). Cependant, ceux affichant une activité rythmique pour le plus grand nombre de patrons étaient surtout dans le NVsnpr (Tsuboi, Kolta et al. 2003).

Des travaux antérieurs effectués par Goldberg et ses collaborateurs ont permis la description du comportement des MNs trigéminaux lors de la mastication fictive chez le cochon d'Inde (Goldberg and Tal 1978, Goldberg, Chandler et al. 1982). Ces derniers ont enregistré l'activité des MNs de fermeture et d'ouverture en parallèle avec celle du muscle digastrique et ont observé une fluctuation du potentiel membranaire en phase avec les phases de mastication. En fait, les MNs de fermeture et d'ouverture sont dépolarisés en alternance lors des mouvements masticatoires et seulement les MNs de fermeture subissent une hyperpolarisation coïncidant avec les bouffées enregistrées dans le muscle digastrique qui correspond aux périodes d'ouverture de la mâchoire. Le générateur de patron de bouffées produisant l'output final du GPC masticatoire doit donc posséder ces types de pré-MNs excitateurs et inhibiteurs pour mener à bien son rôle. Dans une étude *in vitro* effectuée chez le rat, des réponses variées ont été enregistrées dans les MNs de fermeture suite aux stimulations électriques dans la FRL entourant le NVmt (PCRt- α et PériV) (Kolta 1997). Ces inputs ont ensuite été identifiés comme étant de nature glutamatergiques et glycinergiques/GABAergiques permettant respectivement l'excitation et l'inhibition des MNs de fermeture nécessaire lors de la genèse des bouffées. Ces noyaux reçoivent des inputs en provenance entre autres du cortex frontal et sensorimoteur, des afférences sensorielles des régions intra- et péri-orales (Olsson, Landgren et al. 1986, Donga

and Lund 1991, Inoue, Masuda et al. 1992), de l'hypothalamus (Notsu, Tsumori et al. 2008, Travers, Herman et al. 2010), de la substantia nigra pars reticulata (Yasui et al., 1997) et de la FRM pontique (Shammah-Lagnado, Costa et al. 1992, Kolta, Westberg et al. 2000). Ils seraient donc dans une position idéale pour contribuer, si ce n'est pas, de générer les patrons rythmiques notamment lors des différents états émotionnels comme la peur et la faim (Notsu, Tsumori et al. 2008, Travers, Herman et al. 2010).

Ensemble, la région PériV et PCRt- α contiennent la plus grande population de pré-MNs trigéminaux et forment un réseau complexe de neurones excitateurs et inhibiteurs interconnectés (voir figure 1-6) (Kolta 1997, Bourque and Kolta 2001).

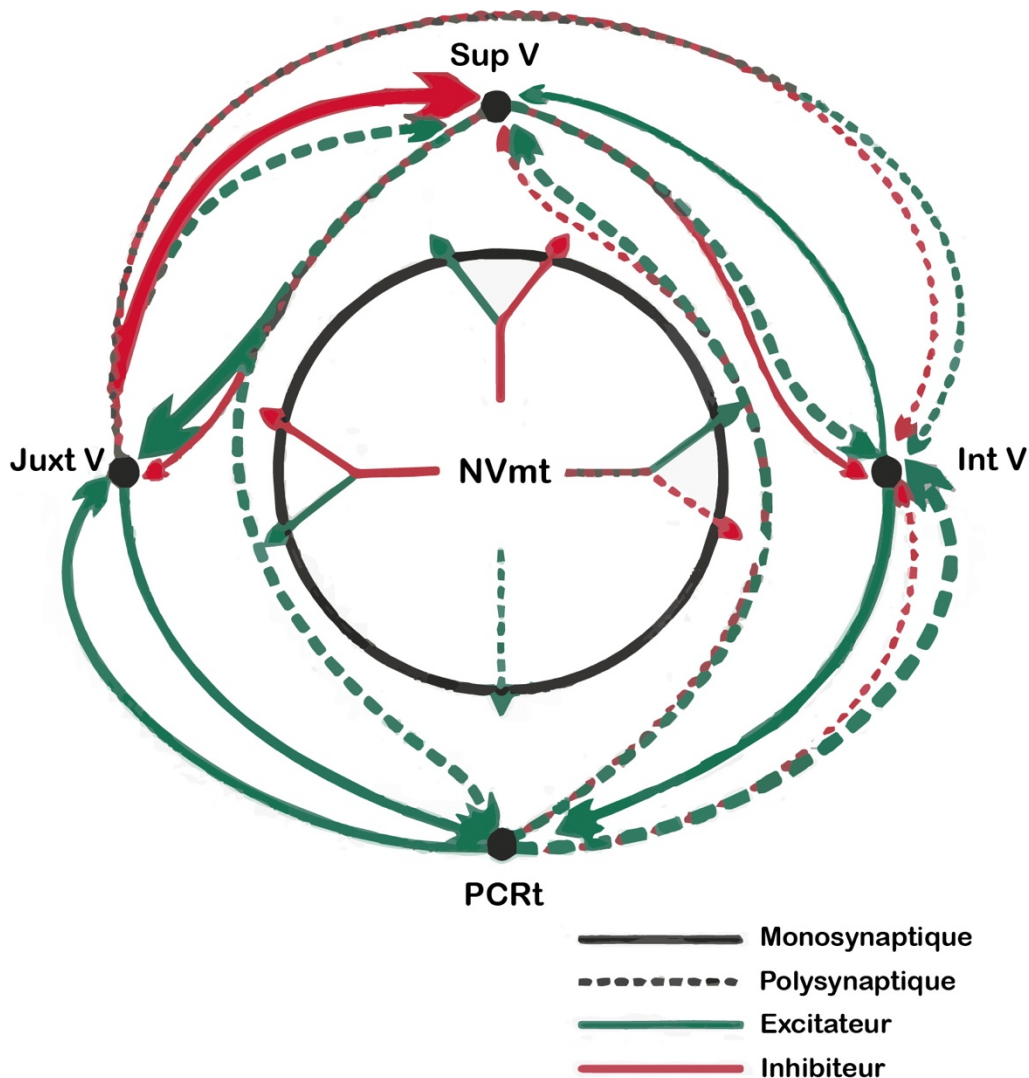


Figure 1-7. Organisation schématique des connexions entre les neurones de la PériV (JuxtV, SupV et IntV) et de la PCRt. Les flèches pleines représentent les connexions où il y a eu au moins une réponse à latence monosynaptique évoquée sur l'ensemble des réponses observées alors que les flèches pointillées représentent les connexions di- et oligosynaptiques. Les connexions excitatrices sont illustrées en vert alors que celles inhibitrices le sont en rouge. PériV : région péri-trigéminal; JuxtV : aire juxtatrégimale; SupV : aire supratrigéminal; IntV : aire intertrigéminal; PCRt : formation réticulaire parvocellulaire; NVmt : noyau moteur du trijumeau. Adapté de (Bourque and Kolta 2001).

Nombre d'entre eux ont des projections bilatérales et sont associés à la coordination gauche-droite des muscles de la mâchoire. Les neurones de ces régions reçoivent des inputs sensoriels de la région orofaciale (Li, Kaneko et al. 1998, Dong, Li et al. 2011) et des fuseaux neuromusculaires des muscles de fermeture (Luo, Moritani et al. 2001). Ils répondent aux sensations de pression sur les dents et à l'ouverture passive de la mâchoire (Minkels, Juch et al. 1991, Inoue, Nozawa-Inoue et al. 2002, Takamatsu, Inoue et al. 2005) et causent l'inhibition des MNs du NVmt et du VII. Ces évidences suggèrent que les neurones inhibiteurs de ces noyaux sont impliqués dans le contrôle moteur dans les réflexes de douleurs. Par contre, dans la région SupV, seule une sous-population répond aux inputs sensoriels orofaciaux ce qui indique un rôle plus complexe du noyau impliquant notamment les autres sous populations de neurones (Murakami, Miyata et al. 1989). Une récente étude démontra la présence d'un groupe de neurones actifs de manière tonique dans le SupV qui sert à baisser et maintenir le tonus musculaire basal dans le masséter bilatéralement (Stanek, Rodriguez et al. 2016). Les aires JuxtV et IntV excitent les MNs de fermeture par des inputs glutamatergiques et sont aussi interconnectées avec la SupV et la PCRt- α (Kolta 1997, Bourque and Kolta 2001). La transmission synaptique dans ce réseau est très robuste et peut suivre à haute fréquence, et ce même par les voies polysynaptiques. Ceci permettrait une distribution rapide et efficace des inputs rythmiques arrivant à chaque pré-MN vers l'ensemble du réseau. L'output du GPC masticatoire est produit par le générateur de bouffées et en conséquence, ce dernier se doit aussi de le relayer, et ce, bilatéralement aux noyaux moteurs innervant la région orofaciale soit le NVmt, le VII et le XII. Ces projections bilatérales sont présentes dans les régions neuronales identifiées dans le modèle de Tanaka *et al.* (1999) et permettraient une coordination bilatérale entre les muscles masticatoires, faciaux et linguaux (Li, Takada et al. 1993a). L'absence d'une telle organisation de connectivité entre les noyaux moteurs et le générateur de bouffées empêcherait, par exemple, la manipulation ainsi que le positionnement adéquat des aliments avec la langue lors de la mastication. En fait, le manque de coordination entre les mouvements de la mandibule et ceux de la langue impliquerait un risque élevé de morsure involontaire de la langue. En somme, les régions entourant le NVmt (PériV et PCRt- α) semblent être impliqués dans la production des bouffées, car elles déchargent en phase avec la mastication et projettent directement aux MNs trigéminaux.

Bien que l'identification du générateur de rythme soit encore incertaine, Bourque et Kolta ont démontré que la plupart des régions de la FRL entourant le NVmt ne possèdent pas de propriétés intrinsèques rythmogéniques à l'exception de la région latérale SupV adjacente au NVsnpr (Bourque and Kolta 2001). En fait, des études qui ont suivi ont permis de démontrer que le NVsnpr dorsal posséderait des neurones avec de telles propriétés dont l'apparition coïnciderait notamment avec l'émergence de la mastication (Sandler, Puil et al. 1998, Bourque and Kolta 2001, Brocard, Verdier et al. 2006). Mais encore, une autre étude a montré que certains neurones étaient actifs dans plus qu'un patron moteur masticatoire ce qui suggère l'implication de ce noyau dans le GPC masticatoire que ce soit en tant que générateur de rythme et/ou de bouffées (Tsuboi, Kolta et al. 2003).

Une étude récente s'est intéressée à l'identification des sous-populations neuronales du tronc cérébral impliquées dans la genèse des mouvements masticatoires en absence de feedback sensoriel (Athaniassiadis, Olsson et al. 2005). Pour ce faire, ils ont utilisé l'expression de la protéine c-fos comme marqueur fonctionnel d'activité neuronale pour l'identification des régions impliquées dans la circuiterie du GPC masticatoire. Cette méthode a permis aux auteurs de confirmer l'implication de quelques régions et de définir, avec un plus grand degré de précision, la localisation des populations de neurones à l'intérieur même des noyaux pouvant être impliqués dans la mastication. Après l'induction de plusieurs périodes de mastication fictive, ils ont observé une augmentation de marquage dans l'ensemble des régions identifiées dans le modèle de G. Scott (2003), mais plus intense dans le NVsnpr dorso-médian, dans la bordure dorso-latérale de la région PériV et dans le nPontc- α .

1.3.2.2 Mécanismes de la rythmogénèse

Les mécanismes qui sous-tendent la transition du mode de décharge tonique vers celui en bouffées rythmiques ainsi que les régions impliquées dans le processus ne sont pas encore clairement définis et seules des hypothèses ont été proposées à ce jour. En ce qui concerne le mécanisme de la rythmogénèse dans les GPCs, deux modèles proposés dans la littérature prédominant et semblent amener vers une controverse. Le premier modèle (demi-centre) fut proposé par Graham Brown pour le GPC de la locomotion. Ce modèle est constitué essentiellement de deux groupes de neurones spinaux organisés réciproquement, s'inhibant mutuellement et capables de produire le rythme et le patron pour chacun des pas effectué (Brown 1914). Dans ce modèle, l'output moteur rythmique dépendrait strictement de l'interaction des neurones à l'intérieur du réseau neuronal. Depuis, le concept de ce modèle fut largement étudié et une variété d'hypothèses concernant son organisation furent proposées comme par exemple celle impliquant les cellules de Renshaw (Miller and Scott 1977), le modèle de « l'anneau » expliquant les patrons plus complexes observés durant la locomotion (Szekely, Czeh et al. 1969), le modèle du générateur de bouffées par unité (Grillner 1981) et le modèle de demi-centre sur deux niveaux (Perret and Cabelguen 1980, McCrea and Rybak 2008).

Le deuxième modèle intitulé « *neurone pacemaker* » est le plus répandu et suggère que le rythme serait généré par des neurones ayant des propriétés intrinsèques leur permettant de décharger de manière rythmique en absence d'inputs sensoriels et corticaux (Harris-Warrick 2010). Ces oscillations générées de manière intrinsèque sont observées dans différentes aires du cerveau et dépendraient de l'activation de courants ioniques intrinsèques. Dans le cas de la mastication, la région dorsale du NVsnpr possède des neurones pouvant décharger en bouffées en absence de toute transmission synaptique. La décharge rythmique dans ces neurones dépendrait donc des caractéristiques des conductances membranaires intrinsèques (Brocard, Verdier et al. 2006).

Un troisième modèle combinant les deux premiers fut proposé par Del Negro et ses collègues soit celui de « *groupe pacemaker* » postulant que l'organisation des connexions synaptiques excitatrices (Glutamatergiques) réciproques dans le réseau neuronal du GPC respiratoire

combiné aux propriétés des neurones qui le compose permettrait la décharge rythmique (Rekling and Feldman 1998, Rekling, Shao et al. 2000, Del Negro, Morgado-Valle et al. 2002, Del Negro, Pace et al. 2008, Rubin, Hayes et al. 2009). La transmission synaptique rapide du glutamate sur les récepteurs NMDA cause la dépolarisation des neurones et l'augmentation du calcium intracellulaire. Ce dernier agirait aussi sur les récepteurs AMPA et mGluR pour activer des courants intrinsèques lents permettant l'initiation et le maintien du bloc de dépolarisation des bouffées rythmiques. Finalement, les bouffées s'arrêteraient suite à la désactivation de ces courants lorsque le calcium intracellulaire cesse d'augmenter ce qui survient soit par l'arrêt de la décharge de potentiels d'actions dans le bloc de dépolarisation, soit par l'activation de courants hyperpolarisants ou soit par la déplétion des stocks intracellulaires (Rubin, Hayes et al. 2009). Ce modèle prédomine dans le GPC respiratoire où un blocage du courant rythmogénique (I_{NaP}) dans les neurones respiratoires pacemaker (pré-Bötzinger) n'abolit pas la production du rythme (Del Negro, Morgado-Valle et al. 2002). Dans ces deux modèles, la production du rythme dépend des courants ioniques intrinsèques rythmogènes et la différence entre les deux se situerait au niveau du mode d'activation qui se fait soit par des courants intrinsèques de bouffées ou par des inputs synaptiques (Harris-Warrick 2010).

1.3.2.3 NVsnpr : cœur du GPC masticatoire

Situé latéralement par rapport au IntV, le NVsnpr s'étend rostralement jusqu'à la frontière entre les rhombomère 2 et 1 et caudalement jusqu'à la jonction des rhombomères 3 et 4 (Watson 2012). Ce dernier se situe dans la région contenant le GPC masticatoire délimitée dans le modèle élaboré par G. Scott et ses collaborateurs (Scott, Westberg et al. 2003). Anatomiquement, deux divisions sont distinguables soit la dorsomédiale (NVsnpr-DM) avec des cellules de petite à moyenne taille et la ventrolatérale (NVsnpr-VL) avec des cellules de moyenne à grande taille (Franklin and Paxinos 2008).

Les afférences primaires des trois branches du nerf du trijumeau innervant la région orofaciale projettent au NVsnpr selon une organisation topographique qui mène à une représentation inversée du visage dans ce noyau. La branche mandibulaire est représentée dorsalement, la branche ophtalmique ventralement et la branche maxillaire entre les deux divisions du NVsnpr (Eisenman, Landgren et al. 1963, Gregg and Dixon 1973, Marfurt 1981, Jacquin, Rhoades et al. 1983, Jacquin, Semba et al. 1983, Erzurumlu, Murakami et al. 2010). L'étude de l'organisation anatomique et fonctionnelle précise des projections centrales des afférences primaires vers le NVsnpr a été effectuée entre autres par Shigenaga et ses collaborateurs grâce à l'injection de peroxydase de Raifort (HRP) dans les nerfs périphériques innervant la région orofaciale (Shigenaga, Chen et al. 1986, Shigenaga, Okamoto et al. 1986, Shigenaga, Sera et al. 1988). Ils ont montré que le NVsnpr dorsal recevait des inputs en provenance exclusivement des afférences primaires trigéminales innervant la région intra-orale alors que le NVsnpr ventral recevait un mélange de celles innervant la région intra-oral et faciale. Ils ont aussi trouvé des projections vers le NVsnpr dorsal en provenance des afférences innervant les muscles masséters et ptérygoïdes. Pour ce qui est de l'axe médiolatéral du NVsnpr, il a été démontré que ce dernier encoderait la représentation rostrocaudale du visage (Erzurumlu, Murakami et al. 2010).

Ces inputs sensoriels sont transmis au cortex somatosensoriel via un relais central, le noyau ventral postéromédial (VPM) du thalamus, avec une conservation de la somatotopie tout au long de la voie ascendante. En plus d'être un relais sensoriel vers le thalamus, le NVsnpr serait aussi impliqué dans la production des patrons masticatoires, car il possède des neurones qui

déchargent en phase avec la mastication fictive induite par la stimulation de l'ACM chez le lapin anesthésié (Tsuboi, Kolta et al. 2003) et que le taux de perfusion sanguine qu'il reçoit est proportionnel à l'intensité de l'activité masticatoire (Viggiano, Manara et al. 2015). De plus, il a été démontré dans la gerbille (Sandler, Puil et al. 1998) et dans le rat (Brocard, Verdier et al. 2006) que ce noyau possédait des neurones aux propriétés intrinsèques rythmogéniques qui émergent en parallèle avec les premiers mouvements masticatoires. Notre laboratoire a démontré que ces neurones pouvaient décharger de manière rythmique même dans des conditions empêchant toute transmission synaptique soit en absence de calcium dans le milieu extracellulaire (Brocard, Verdier et al. 2006). Dans cette condition, les neurones passaient d'une décharge tonique à une décharge en bouffées. De plus, l'application intracellulaire d'un chélateur calcique (BAPTA) n'abolissait pas la décharge rythmique, mais plutôt augmentait la durée des bouffées. Il a donc été suggéré que la décharge rythmique de ces neurones dépendrait de leurs propriétés membranaires intrinsèques dépendantes de la baisse de la concentration du calcium extracellulaire. Parmi le blocage des différents courants ioniques, seul celui des courants sodiques par l'application de TTX causa l'abolition de la décharge en bouffées dans les neurones du NVsnpr dorsal suggérant l'implication de canaux Na^+ et plus précisément les canaux sodiques persistants (I_{NaP}) puisque le blocage des bouffées pouvait être obtenu à de très faibles concentrations de TTX, n'affectant pas les canaux Na^+ transitoires impliqués dans les potentiels d'action. Ceci fût confirmé par l'utilisation d'un bloqueur spécifique d' I_{NaP} , le riluzole, qui aboli la décharge rythmique sans toutefois bloquer la décharge de potentiels d'action (Brocard, Verdier et al. 2006, Tsuruyama, Hsiao et al. 2013) et s'est aussi avéré être le cas pour la genèse du rythme dans la respiration (Koizumi and Smith 2008) et la locomotion (Tazerart, Viemari et al. 2007). L'activation de ce courant dépendrait de la concentration du calcium extracellulaire ainsi que du potentiel membranaire (entre $\sim -60\text{mV}$ et -50mV) (Brocard, Verdier et al. 2006, Kolta, Morquette et al. 2010). En plus des propriétés intrinsèques rythmogéniques observées, d'autres caractéristiques du NVsnpr viennent appuyer son implication cruciale dans le GPC masticatoire.

Tout d'abord, le NVsnpr est interconnecté avec les aires de la PériV et la PCRt- α (Shammah-Lagnado, Costa et al. 1992, Yoshida, Hiraga et al. 1998, Kolta, Westberg et al. 2000) et projette aussi directement au NVmt, VII et XII (Mizuno, Yasui et al. 1983, Landgren, Olsson et al. 1986, Li, Takada et al. 1993b, Li, Takada et al. 1993a, Li, Takada et al. 1995, Yoshida, Hiraga et al. 1998, Kolta, Westberg et al. 2000). Ensuite, il reçoit des inputs corticaux (Yasui, Itoh et al. 1985, Yoshida, Taki et al. 2009) et possède des neurones qui déchargent de manière rythmique durant les phases d'ouverture et de fermeture, et ce dans plus d'un patron masticatoire (Tsuboi, Kolta et al. 2003). De plus, la fréquence et la durée des bouffées rythmiques générées changeaient dans ces neurones en fonction du patron moteur. On retrouve aussi une ségrégation sur l'axe rostrocaudal des neurones actifs en phase durant la mastication avec ceux de fermeture et d'ouverture étant retrouvé respectivement dans la partie rostrale et caudale du NVsnpr-dorsal. Ainsi, les neurones du NVsnpr dorsal seraient dans une position idéale pour agir comme générateur de rythme et de bouffées rythmiques et pourraient bien représenter le cœur du GPC masticatoire. En effet, les inputs corticaux qu'il reçoit permettront l'initiation de la genèse du rythme dans les neurones possédant des propriétés intrinsèques rythmogéniques. Puis, la décharge en bouffées produite serait adaptée grâce au feedback sensoriel et relayée directement aux MNs du NVmt, VII et XII et indirectement via les pré-MNs de la FRL.

1.3.2.4 Rythmogénèse dans le NVsnpr

Il est clair que I_{NaP} est important pour générer les plateaux dépolarisants nécessaires dans les bouffées rythmiques, mais d'autres courants ioniques sont nécessaires pour causer notamment l'initiation des bouffées qui vont suivre et leur terminaison. Le calcium peut agir en augmentant les conductances d'un grand nombre de canaux ioniques notamment les potassiques qui ont pour rôle la terminaison des bouffées via une hyperpolarisation. En effet, la chélation du calcium intracellulaire cause une augmentation de la durée des bouffées similaire à celle observée suite à l'application de tétraéthylammonium (TEA), un bloqueur non sélectif des canaux potassiques. Il existe deux types de courants potassiques calcium-dépendant soit le petit (SK-Ca) et le grand (BK-Ca) et leur blocage spécifique (Apamine et Charybdotoxine) prolonge les blocs de dépolarisation des bouffées. Une autre hyperpolarisation survient durant la décharge rythmique des bouffées et serait causée par les pompes Na^+/K^+ qui s'activent suite à l'accumulation du Na^+ intracellulaire durant les bouffées (Rubin, Hayes et al. 2009). Ces courants de terminaison génèrent une période d'hyperpolarisation après la bouffée impliquant la nécessité d'un autre courant pour permettre l'initiation de la prochaine bouffée. Il a été démontré que le courant activé par l'hyperpolarisation (I_h) jouerait ce rôle notamment dans la locomotion chez la salamandre (Chevallier, Nagy et al. 2006) et dans le GPC pylorique du ganglion stomatogastrique du homard (Peck, Gaier et al. 2006) en affectant la fréquence de la décharge rythmique. Ce courant est exprimé dans les neurones du NVsnpr et permettrait de les dépolariser jusqu'à la gamme de potentiel d'activation de I_{NaP} afin de permettre la production de la prochaine bouffée (Brocard, Verdier et al. 2006).

Des travaux récents du laboratoire ont permis d'associer les astrocytes avec la régulation de la concentration extracellulaire de calcium menant à la production du rythme dans les neurones du NVsnpr (Morquette, Verdier et al. 2015). Le rythme dans ces neurones a pu être induit soit en diminuant de manière artificielle le calcium extracellulaire ou soit avec l'application locale de NMDA (Kolta, Morquette et al. 2010). De plus, la stimulation électrique des fibres sensorielles projetant au NVsnpr dorsal cause une baisse du calcium extracellulaire suivi par le passage de la décharge tonique vers une décharge rythmique. Ce mécanisme pourrait dépendre de l'activation des astrocytes étant donné qu'ils possèdent des récepteurs NMDA et qu'ils sont

connus pour leur rôle de régulateur d'ions extracellulaire (Lian and Stringer 2004, Wang, Smith et al. 2012, Morquette, Verdier et al. 2015). En effet, les astrocytes sont activés par les stimuli induisant le rythme dans le NVsnpr (NMDA et stimulation électrique du tractus trigéminal) et peuvent libérer un chélateur calcique (S100 β). L'application locale de S100 β reproduit les effets de la stimulation électrique du tractus trigéminal qui sont bloqués par l'ajout d'anticorps contre S100 β . Finalement, l'inactivation des astrocytes par l'application intracellulaire d'un chélateur calcique (BAPTA) empêche l'induction des bouffées rythmiques causée par le NMDA, mais pas lorsque la concentration calcique extracellulaire est diminuée. L'ensemble des évidences de notre laboratoire ont mené à l'élaboration d'un modèle selon lequel les inputs corticaux et sensoriels causent une activation des neurones ainsi que des astrocytes du NVsnpr dorsal via l'action du glutamate sur les récepteurs NMDA. Ceci cause la libération du S100 β par les astrocytes qui fait baisser la concentration extracellulaire du calcium menant à l'activation de I_{NaP} et à la production des bouffées rythmiques (voir figure 1-8) (Morquette, Verdier et al. 2015).

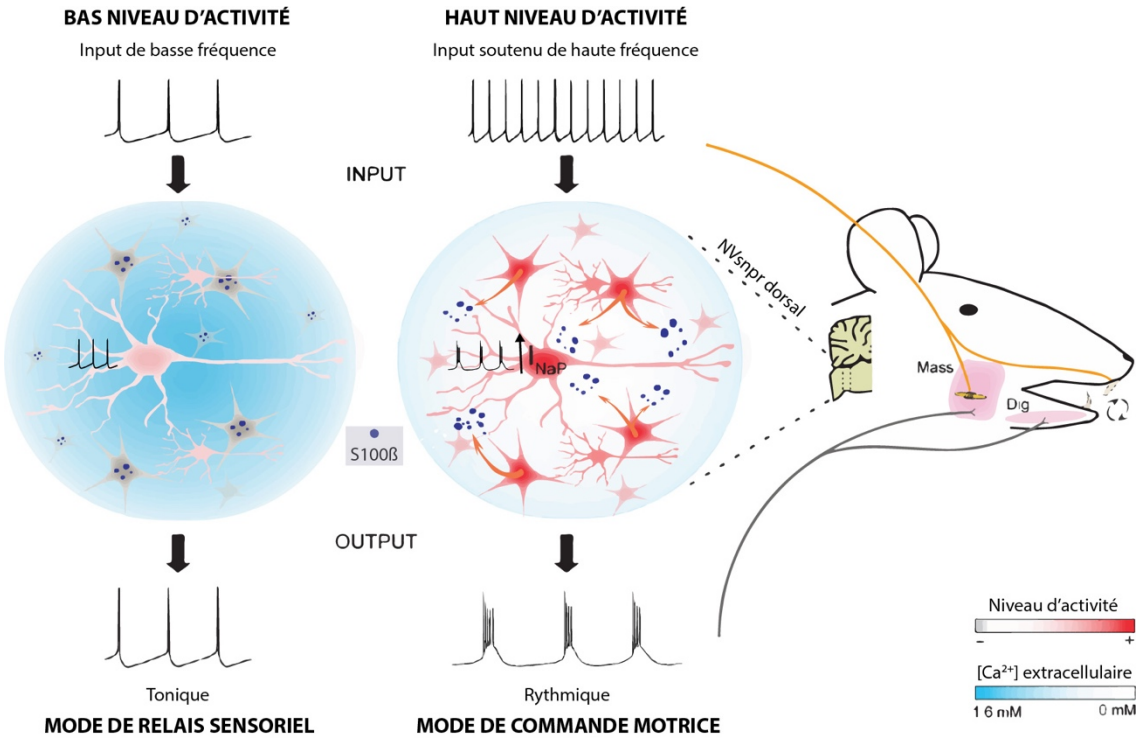


Figure 1-8. Modèle de la séquence d'évènements menant à la rythmogenèse dans le GPC masticatoire. L'induction de rythme serait dépendante du niveau d'activité sensorielle provenant de la région orofaciale. Un faible niveau d'activité sensorielle serait insuffisant pour activer les astrocytes et baisser la concentration calcique extracellulaire prévenant ainsi l'activation de I_{NaP} et la décharge rythmique des neurones du NVsnpr. Dans cette condition, ces neurones entrent dans un mode de relais sensoriel et transmettent fidèlement l'input tonique qu'ils reçoivent. Lors de l'alimentation, un feedback sensoriel plus élevé est produit par la stimulation des afférences intraorales, parodontales et fusoriales signalant au GPC la nécessité de mouvements masticatoires rythmiques. Ce haut niveau d'activité sensorielle active les astrocytes et mène à la libération d'une protéine de liaison du calcium (S100 β) causant une baisse de la concentration extracellulaire du calcium. Ceci entraîne l'activation subséquente de I_{NaP} et la décharge rythmique des neurones du NVsnpr reflétant les inputs sensoriels. La fréquence et les patrons des bouffées rythmiques générées seront ensuite transmis aux motoneurones d'ouverture et de fermeture de la mâchoire. GPC : générateur de patron central; I_{NaP} : courant sodique persistant; NVsnpr : noyau sensoriel principal du trijumeau; Dig : digastrique; Mass : masséter. Adapté de (Morquette, Verdier et al. 2015).

1.3.3 Contrôle périphérique de la mastication : innervation orofaciale

Il a été démontré par Bremer *et al.* que la stimulation de la région orofaciale pouvait initier des mouvements masticatoires chez des animaux décérébrés (Bremer 1923). Toutefois, le feedback sensoriel de cette région n'est pas primordial, car le blocage des inputs sensoriels en provenance de la cavité buccale interne et des muscles de la mâchoire n'empêche pas la mastication. Il en résulte plutôt des mouvements irréguliers et inefficaces, des problèmes de manipulation du bolus alimentaire et une baisse de l'activité des muscles de fermeture (Schaerer, Legault et al. 1966, Goodwin and Luschei 1974, Inoue, Kato et al. 1989, Morimoto, Inoue et al. 1989). En fait, les différentes afférences trigéminales primaires relayeraient un feedback sensoriel en continu au GPC masticatoire qui génère en conséquence différents patrons masticatoires adaptés selon par exemple la position et la dureté des aliments (Lund 1991).

La région orofaciale est innervée principalement par le nerf trigéminal. Ce dernier possède trois branches soit l'ophtalmique (V1), la maxillaire (V2) et la mandibulaire (V3) qui émergent du ganglion trigéminal contenant la majorité des corps cellulaires des afférences sensorielles primaires innervant la région orofaciale. La figure 1-9A illustre les dermatomes de ces trois branches du nerf V. Les corps cellulaires de l'ensemble des afférences trigéminales sont dans les ganglions trigéminaux (GT) à l'exception de ceux des afférences innervant les muscles de fermeture de la mâchoire et une sous-population d'afférences parodontales dont les corps cellulaires sont dans le noyau mésencéphalique du trijumeau (NVmes). Toutes les afférences trigéminales primaires projettent ensuite, en passant par le tractus trigéminal, au complexe nucléaire du système trigéminal (CNST) composé du NVsnpr et des sous-noyaux oralis (NVspo), interpolis (NVspi) et caudalis (NVspc) du noyau spinal du trijumeau (NVsp) (voir figure 1-9B) (Shigenaga, Okamoto et al. 1986). Le NVsnpr reçoit des inputs des afférences de grand calibre innervant l'articulation temporomandibulaire, les muscles de la mâchoire, la peau, les dents, la muqueuse buccale et les poils de la région orofaciale (Capra and Dessem 1992). Pour sa part, le NVsp reçoit un mélange d'afférences de moyen (myélinisées) et de petit (non myélinisées) calibre transmettant les sensations tactiles, de douleur et de température (Eisenman, Landgren et al. 1963, Dubner, Sessle et al. 1978, Hayashi, Sumino et al. 1984, Shigenaga, Chen et al. 1986, Shigenaga, Okamoto et al. 1986, Capra and Dessem 1992, Luo,

Wong et al. 1995). Les différents types de récepteurs des afférences trigéminales encodent pour une multitude de sensations permettant la production d'un feedback sensoriel de la région orofaciale nécessaire à l'adaptation des différents patrons masticatoires générés dans le GPC masticatoire (Lund 1991).

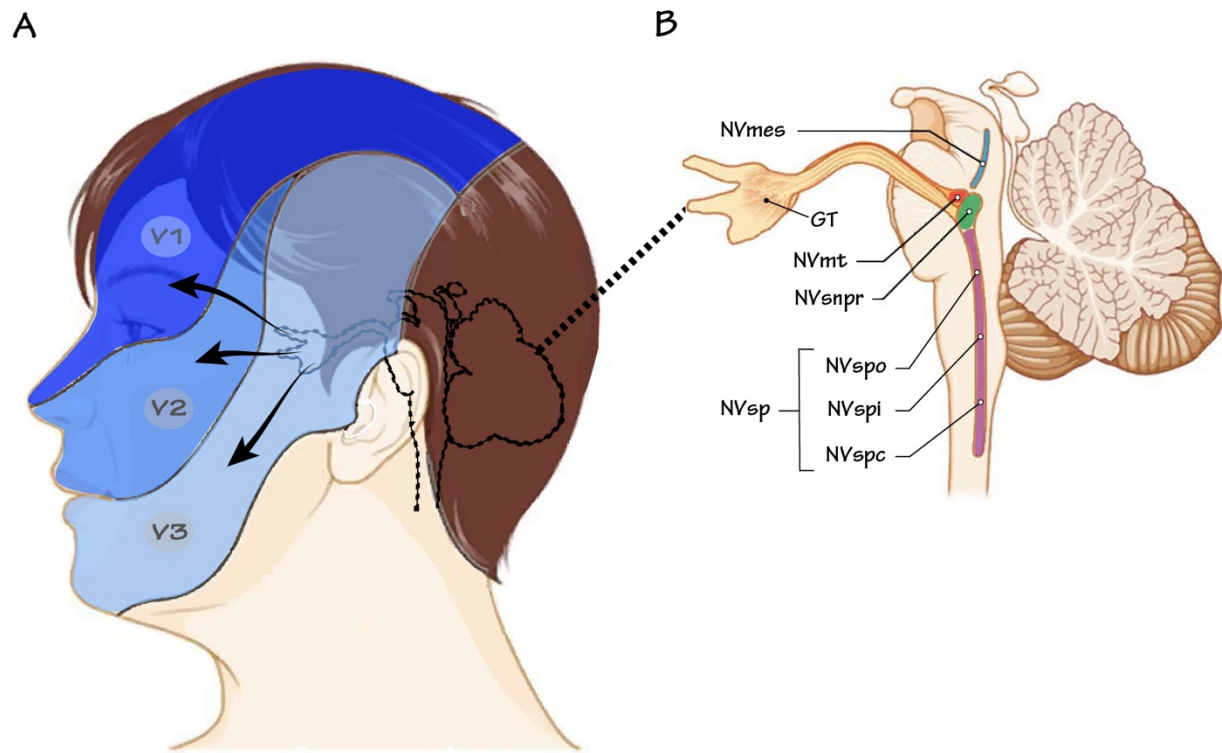


Figure 1-9. A. Innervation faciale (dermatomes) des trois branches du nerf du trijumeau (V1, V2 et V3). **B.** Représentation schématique du complexe trigéminal en vue sagittale du tronc cérébral. La composante sensorielle est composée du NVmes, du NVsnpr et des trois divisions du NVsp (NVspo, NVspi et NVspc) alors que le NVmt constitue la composante motrice contenant les motoneurones innervant les muscles masticatoires. V1 : branche ophtalmique; V2 : branche maxillaire; V3 : branche mandibulaire; GT : ganglion trigéminal; NVmes : noyau mésencéphalique du trijumeau; NVsnpr : noyau sensoriel principal du trijumeau; NVsp : noyau spinal du trijumeau; NVspo, NVspi et NVspc : sous-noyaux oralis, interpolaris et caudalis du NVsp, respectivement; NVmt : noyau moteur du trijumeau. Modifié de (Joo, Yoshioka et al. 2014).

Les afférences parodontales innervent les racines des dents et sont sensibles aux forces qui y sont appliquées (Appenteng, Lund et al. 1982). Celles dont le corps cellulaire est dans le ganglion trigéminal sont à adaptation rapide, car leurs réponses sont rapides et transitoires, et elles ne déchargent qu'au début de la phase de FL. Ces dernières n'encoderaient que pour l'amplitude initiale de force détectée au contact des dents avec les aliments. Les autres afférences ayant leur corps cellulaire dans le NVmes sont à adaptation lente. Elles déchargent durant toute la phase de FL et suivent proportionnellement les variations de forces appliquées sur les dents (Larson, Smith et al. 1981a, Larson, Smith et al. 1981b, Appenteng, Lund et al. 1982). Ces afférences peuvent générer deux réflexes masticatoires selon l'intensité de force détectée soit celui de fermeture et d'ouverture de la mâchoire. Lors du contact initial des aliments avec les dents, un rétrocontrôle positif est envoyé aux MNs de fermeture pour permettre le maintien des aliments entre les dents, et ce de manière proportionnelle à la résistance causée par les aliments (Morimoto, Inoue et al. 1989, Lund 1991, Ottenhoff, van der Bilt et al. 1992, Abbink, van der Bilt et al. 1999). Cependant, lorsque la force appliquée est trop élevée, un réflexe d'ouverture est sollicité afin d'empêcher des dommages de la mâchoire. Ce réflexe est polysynaptique et implique les afférences parodontales du NVmes et du ganglion trigéminal. Après avoir reçu ses inputs, le NVmes active directement les neurones inhibiteurs de la SupV qui à leurs tours inhibent les MNs de fermeture (Kidokoro, Kubota et al. 1968, Minkels, Juch et al. 1995). Pour ce qui est des afférences du ganglion trigéminal, elles font synapse d'abord avec les neurones du NVsp qui par la suite activent directement les MNs d'ouverture.

Les afférences des organes tendineux de Golgi sont sensibles à la tension musculaire et sont retrouvés dans les muscles de fermeture de la mâchoire (Lund, Richmond et al. 1978). Elles font synapses avec des interneurons inhibiteurs qui à leur tour inhibent les MNs de fermeture. Ce feedback permet de diminuer l'activation des muscles lors des contractions excessives prévenant ainsi tous dommages potentiels (Chen and Engelen 2012). Cette sensation de tension peut être aussi utilisée pour l'estimation de la force de morsure qui vient compléter le feedback provenant des afférences parodontales pour permettre l'exécution efficace des mouvements masticatoires (Roland and Ladegaard-Pedersen 1977).

Les afférences fusoriales ont leurs corps cellulaires dans le NVmes et innervent seulement les muscles de fermeture. Elles sont sensibles à l'étirement des muscles et déchargent surtout lors de l'ouverture de la mâchoire (Lund 1991). Ces dernières peuvent être divisées en deux groupes selon leur taux de décharge maximal durant la mastication (Cody, Harrison et al. 1975). Celles déchargeant à haute fréquence étaient considérées de type primaire (dynamique) et montraient une sensibilité à la vitesse d'étirement des fibres musculaires. Celles déchargeant à basse fréquence étaient sensibles plutôt à la longueur d'étirement et furent considérées comme étant de type secondaire (statique). En cas d'étirement brusque de la mâchoire, les afférences fusoriales primaires et secondaires produisent un réflexe monosynaptique de fermeture de la mâchoire. Ce dernier permet entre autres la prévention et la régulation de la position de repos de la mâchoire (Lund and Olsson 1983).

Les afférences de l'articulation temporomandibulaire sont responsables de la perception de la position de la mandibule et de la taille des aliments mastiqués (Storey 1968). Selon Luschei et Goodwin (1974), la perception du changement de position de la mandibule par rapport au point d'occlusion placerait ce type d'afférence dans la meilleure position pour signaler la terminaison des cycles masticatoires (Luschei and Goodwin 1974). De plus, elles peuvent aussi initier des réflexes non appris empêchant l'endommagement de l'articulation et de ses ligaments (Shwaluk 1971, Storey 1973).

Les mécanorécepteurs des afférences épithéliales innervant la région péri- et intra-orale s'activent lors des déformations appliquées sur leur surface. Ces derniers apportent des informations proprioceptives cruciales au bon fonctionnement de la mastication notamment sur la position du bolus alimentaire et son étendue dans la cavité buccale (Thexton and McGarrick 1987). Ainsi, le feedback sensoriel fourni par ces afférences épithéliales permettrait la coordination en parallèle des muscles du visage, de la mâchoire et de la langue nécessaire lors de la manipulation des aliments (Johansson, Trulsson et al. 1988). En somme, le feedback sensoriel de la région orofaciale peut non seulement induire des mouvements masticatoires via l'activation du GPC masticatoire, mais aussi les adapter selon la consistance, la taille et la position des aliments ingérés tout en permettant la manipulation précise et adéquate du bolus alimentaire.

1.3.4 Contrôle moteur des muscles masticatoires : le NVmt

1.3.4.1 Composition du NVmt

Le NVmt est positionné dans le milieu du pons médialement au NVsnpr et comporte les neurones contrôlant les différents muscles permettant les mouvements de la mandibule lors de la mastication (Watson 2012). Similaires à ceux des autres noyaux moteurs crâniens, les MNs trigéminaux sont cholinergiques, à l'exception d'une sous-population qui exprime en plus des neuropeptides comme l'urocortine (Bittencourt, Vaughan et al. 1999), le peptide relié au gène calcitonine (PRGC) (Skofitsch and Jacobowitz 1985), l'urotensine-II (Dun, Brailoiu et al. 2001) et la cholécystokinine (CCK) (Sutin and Jacobowitz 1990). Anatomiquement et fonctionnellement, les MNs trigéminaux peuvent être divisés en deux types soit les MNs- α et les MNs- γ .

Les MNs- α sont des neurones multipolaires et de grand diamètre (28-42 μm) qui innervent directement les fibres extrafusales responsables de la contraction des muscles masticatoires (Limwongse and DeSantis 1977). Ils possèdent une très vaste arborisation dendritique qui s'étale autour de leur corps cellulaire de manière symétrique et peut même s'étendre dorsalement et latéralement à l'extérieur du NVmt dans le NVmes, la SupV, le NVsnpr et la IntV (Mong, Chen et al. 1988, Lingenhohl and Friauf 1991). Pour leur part, les MNs- γ sont fusiformes et possèdent un corps cellulaire beaucoup plus petit (8-14 μm) (Limwongse and DeSantis 1977). Ces derniers innervent les fuseaux neuromusculaires (fibres intrafusales) qui permettent l'ajustement de la sensibilité des fibres à l'étirement (Karlsen 1965). Leur arborisation dendritique est moins répandue et reste confinée à l'intérieur du NVmt. Contrairement aux MNs- γ , les MNs- α reçoivent beaucoup plus de synapses axo-somatiques recouvrant à peu près 80% de la surface de leur corps cellulaire (Card, Riley et al. 1986).

D'autres petits neurones fusiformes retrouvés dans la bordure du NVmt reçoivent aussi des terminaisons synaptiques sans toutefois innervent les muscles de la mâchoire (Card, Riley et al. 1986). Ces neurones possèdent un arbre dendritique moins grand s'étalant vers le centre ainsi qu'en bordure du NVmt (Card, Riley et al. 1986). En fait, des preuves anatomiques ont permis

l'identification à l'intérieur du NVmt, à l'aide de marqueurs rétrogrades, d'interneurones ayant des projections centrales notamment au cervelet (Roste 1989) et au noyau moteur XII (Manaker, Tischler et al. 1992). D'autres études viennent confirmer leur présence en identifiant d'autres interneurones dans la région dorsolatérale du NVmt qui projettent cette fois aux MNs de fermeture controlatéraux (Ter Horst, Copray et al. 1990, Juch, Minkels et al. 1993, Kolta, Westberg et al. 2000, Bourque and Kolta 2001). Ces derniers sont inhibiteurs et permettraient la coordination de la fermeture bilatérale de la mâchoire. Mais encore, ils pourraient aussi être impliqués lors des mouvements latéraux de la mandibule par leur effet inhibiteur sur les MNs innervant certains compartiments des muscles de fermeture antagonistes retrouvés du côté controlatéral (Kolta 1997). Les travaux effectués par Bourque et Kolta (2001) apportent une preuve électrophysiologique de la présence d'interneurones (11-19 μ m) inhibiteurs et excitateurs dans le NVmt (Bourque and Kolta 2001). Ces derniers ont observé des PPSEs et PPSIs dans la PériV et le PCRT- α suite aux stimulations électriques dans le NVmt (Bourque and Kolta 2001). Ces interneurones sont majoritairement de nature glutamatergiques, mais on en retrouve aussi des GABAergiques et glycinergiques. Parmi eux, certains projettent à d'autres régions clés du GPC masticatoire notamment au NVsnpr et au NVmes ipsilatéral ainsi qu'à la FRL entourant le NVmt ipsi- et controlatéral (McDavid, Lund et al. 2006). Des travaux de notre laboratoire ont démontré que ces interneurones non seulement se distinguent anatomiquement des MNs trigéminaux, mais aussi grâce à leurs propriétés électrophysiologiques (McDavid, Lund et al. 2006, McDavid, Verdier et al. 2008).

1.3.4.2 Inputs au NVmt

Le NVmt est sous le contrôle direct et indirect de plusieurs régions centrales à différents niveaux. Le contrôle direct est effectué par les pré-MNs trigéminaux qui sont principalement retrouvés à proximité du NVmt soit dans la région PériV, le PCRt- α et le NVsnpr (Yoshida, Taki et al. 2009). Ces derniers sont composés de neurones excitateurs (glutamatergiques) et inhibiteurs (GABAergiques et glycinergiques) permettant la coordination dans le recrutement des MNs lors de la mastication. Ces inputs locaux sont distribués dans le NVmt de manière organisée. La SupV et la IntV projettent principalement au NVmt dorsal, la JuxtV fait contact surtout avec les MNs de la région ventromédiale du NVmt alors que la PCRt- α projette aux deux régions (McDavid, Lund et al. 2006, Yoshida, Taki et al. 2009). Les régions dorsales et intermédiaires du NVsnpr projettent respectivement à la division dorsolatérale et ventromédiale du NVmt (Li, Takada et al. 1995, Yoshida, Taki et al. 2009). Le NVsnpr dorsal est impliqué notamment dans le réflexe d'ouverture par son action directe sur la SupV qui possède des neurones qui inhibent les MNs innervant les muscles de fermeture (Kidokoro, Kubota et al. 1968, Mizuno 1970). Mais encore, ce dernier possède aussi des neurones GABAergiques et pourrait inhiber directement les MNs de fermeture (Saha, Appenteng et al. 1991). La transmission synaptique dans ce réseau est très robuste et peut suivre à haute fréquence, et ce même par les voies polysynaptiques. Ceci permettrait une distribution rapide et efficace des inputs rythmiques arrivant à chaque pré-MN vers l'ensemble du réseau.

Le contrôle indirect est pour sa part effectué par des régions plus distales qui effectuent un recrutement des pré-MNs trigéminaux retrouvés à proximité du NVmt pour induire ou affecter le rythme masticatoire. Par exemple, le cortex moteur agranulaire, l'amygdale et l'hypothalamus latéral agissent sur les MNs trigéminaux par des voies polysynaptiques en passant par les régions de la FRL entourant le NVmt. Ces régions sont interconnectées et forment un réseau neuronal complexe dont la transmission synaptique y est très rapide et robuste. L'innervation directe du NVmt par ce réseau combinée à la vaste arborisation dendritique des MNs trigéminaux s'étalant jusqu'à la PériV et PCRt- α permettraient l'intégration des inputs provenant des régions plus distales. Les neurones du noyau central de l'amygdale réguleraient l'output des MNs trigéminaux par l'intermédiaire entre autre du NVmes et seraient responsables du contrôle des

mouvements masticatoires reliés aux comportements émotionnels comme la peur (Lazarov 2000, Lazarov 2007, Lazarov, Usunoff et al. 2011). La stimulation électrique de l'hypothalamus génère des comportements moteurs observés lors de différents états émotionnels impliquant l'ouverture et la fermeture de la mâchoire comme la peur (attaque/défense) et la faim (Brody, DeFeudis et al. 1969, Brown, Hunsperger et al. 1969, Chi and Flynn 1971, Notsu, Tsumori et al. 2008, Travers, Herman et al. 2010). En fait, ce dernier possède des neurones qui projettent à des noyaux à proximité du NVmt comme le NVmes et la PCRt- α permettant ainsi une modulation des réflexes de la mâchoire (Chi and Flynn 1971, Landgren and Olsson 1980). Un exemple de mécanisme pertinent par lequel la PCRt- α agirait dans le GPC masticatoire lors des sensations de faim est décrit dans une récente publication de (Nakamura and Nakamura 2018). Des enregistrements *in vivo* combinés à des stimulations optogénétiques chez la souris ont menés à l'élaboration d'une théorie concernant l'implication de la PCRt- α dans le GPC masticatoire (voir figure 1-10). Un signal de la faim est envoyé à l'hypothalamus qui induit une activation phasique alternée des neurones prémoteurs inhibiteurs et excitateurs dans la PCRt- α et la formation réticulaire intermédiaire (IRT) générant ainsi de l'activité rythmique dans les MNs trigéminaux. Les auteurs proposent que cette commande rythmique envoyée par la PCRt- α vers le NVmt permettrait au système moteur d'être en mode « *prêt à manger* » et que la commande motrice des MNs vers les muscles de fermeture serait bloquée par des signaux corticomédullaires qui exercent une inhibition tonique en absence de nourriture. En fait, la sensation d'aliments dans la cavité buccale lèverait l'inhibition grâce au feedback sensoriel positif de la cavité intra-orale et permettrait donc l'initiation de la mastication.

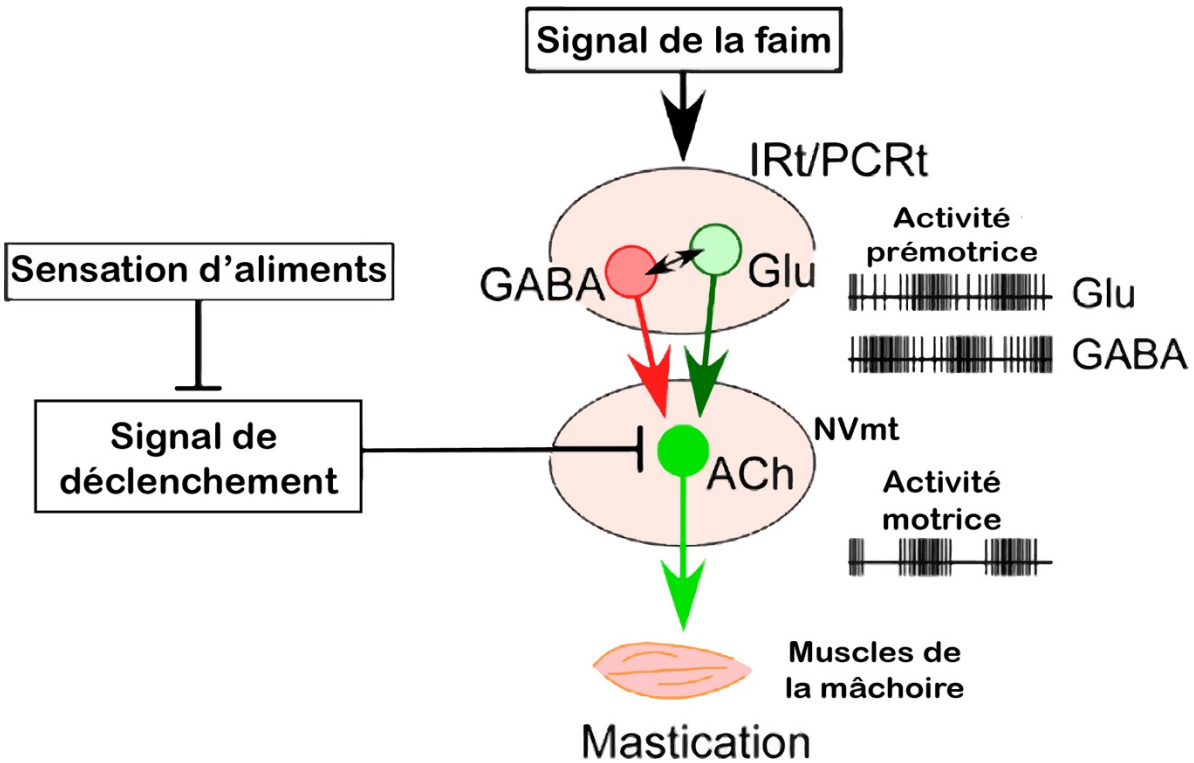


Figure 1-10. Hypothèse du circuit médullaire à la base des mouvements masticatoires lors des sensations de faim. Les signaux de faim en provenance de l'hypothalamus stimuleraient le circuit du générateur de patron central (GPC) dans le IRt/PCRt causant des décharges phasiques en alternance des neurones pré moteurs GABAergiques et glutamatergiques qui les composent. Les inputs excitateurs et inhibiteurs que ces neurones pré moteurs envoient au NVmt pourraient générer l'activité rythmique motoneuronale entraînant les mouvements masticatoires des muscles de la mâchoire. En absence d'aliments, l'output moteur final du NVmt subirait une inhibition tonique. Cette dernière serait levée par la sensation d'aliments dans la cavité buccale ce qui permettrait l'initiation de la mastication une fois les aliments disponibles. IRt : formation réticulaire intermédiaire; PCRt : formation réticulaire parvocellulaire; GABA : neurone GABAergique; Glu : neurone glutamatergique; NVmt : noyau moteur du trijumeau; ACh : neurone cholinergique. Adapté de (Nakamura and Nakamura 2018).

Le NVmt reçoit aussi des inputs de type modulateurs (cholinergiques, nitrinergiques, enképhalinergiques, noradrénergiques, sérotoninergique, etc.) de différentes régions distales permettant une régulation du rythme masticatoire (Fort, Luppi et al. 1990, Abudara, Alvarez et al. 2002, Travers, Yoo et al. 2005). Par exemple, les inputs noradrénergiques du NVmt proviennent principalement du groupe A7 et du noyau subcoeruleus (Grzanna, Chee et al. 1987) et l'activation de cette voie peut mener à l'amplification du réflex massétéрин induit par le

NVmes (Morilak and Jacobs 1985, Vornov and Sutin 1986), et ce par une potentialisation de l'effet excitateur de la neurotransmission glutamatergique endogène (Schwarz, Mir et al. 2014). Dans une étude s'intéressant aux mécanismes pharmacologiques responsables de la décharge des MNs trigéminaux lors de la mastication fictive, il a été démontré que la noradrénaline, lorsqu'appliquée par ionophorèse sur les MNs innervant le digastrique, cause une potentialisation de la décharge rythmique générée (Katakura and Chandler 1990). Les inputs sérotoninergiques en provenance du noyau de raphé et du PGC (Fritschy, Lyons et al. 1988, Fort, Luppi et al. 1990, Kolta, Dubuc et al. 1993, Li, Takada et al. 1993c) permettent aussi la modulation de la décharge des MNs trigéminaux, mais cette fois par une facilitation des courants intrinsèques sodiques et calciques persistants (Hsiao, Trueblood et al. 1997, Hsiao, Del Negro et al. 1998, Del Negro, Hsiao et al. 1999). Bien que les synapses sérotoninergiques soient minoritaires dans le NVmt, plusieurs études lui ont associé le rôle de régulateur du rythme masticatoire. En fait, la sérotonine peut induire des décharges rythmiques lorsqu'appliquée localement dans le NVmt et a pour effet de potentialiser les réponses excitatrices ayant été induite par d'autres régions dans les MNs trigéminaux (Katakura and Chandler 1990, Kurasawa, Toda et al. 1990, Trueblood, Levine et al. 1996). Chandler *et al.* ont étudié l'implication des conductances membranaires des MNs trigéminaux sur l'activité rythmique masticatoire (Chandler, Hsiao et al. 1994). Ces derniers ont démontré la présence d'un courant I_h activé durant la phase d'hyperpolarisation dans les MNs de fermeture permettant la facilitation de la phase dépolarisante subséquente. De plus, ces MNs possèderaient aussi un courant I_{NaP} qui s'active durant les phases de dépolarisation. Ce courant causerait l'augmentation de l'amplitude et de la durée des PPSEs générés et serait en cause de la potentialisation de l'excitabilité dans les MNs trigéminaux observée en présence de sérotonine (Chandler, Hsiao et al. 1994).

1.3.4.3 Organisation myotopique

De manière conventionnelle, le NVmt est divisé fonctionnellement en deux : une large division dorsolatérale (DL) s'étalant sur toute sa longueur rostro-caudale et une plus petite division ventromédiale (VM) s'étalent sur son deux tiers caudal (Mizuno, Konishi et al. 1975, Limwongse and DeSantis 1977, Sasamoto 1979, Jacquin, Rhoades et al. 1983, Lynch 1985, Rokx and van Willigen 1985). Ces deux régions comportent respectivement les MNs innervant les muscles de fermeture (masséters (superficiel et antérieur profond), temporal et ptérygoïde médian) et d'ouverture (digastrique antérieur, mylohyoïde et ptérygoïde latéral) de la mâchoire.

La trajectoire des axones de ces MNs trigéminaux diffère entre ces deux régions (Szekely and Matesz 1982, Jacquin, Rhoades et al. 1983). Les axones de la région DL quittent le cerveau directement formant plusieurs larges racines qui passent ventralement au NVsnpr. Pour celles de la région VM, elles passent d'abord dorsalement pour former un genou rostral par rapport à celui du nerf VII. Elles forment ensuite une racine distincte qui se dirige ventrolatéralement vers celles de la région DL. Ensemble, ces fibres constituent la racine motrice qui rejoint la branche V3 du nerf V et vient former le nerf mandibulaire qui innerve les muscles de la mâchoire (Huff and Daly 2018). Étonnamment, le NVmt ne possède pas la totalité des MNs innervant les muscles masticatoires. Chez le lapin, des MNs innervant le masséter et le digastrique antérieur ont été identifiés à l'intérieur d'un groupe de petits neurones (groupe k) localisé ventrolatéralement au NVmt (Messen and Olszewski 1949, Donga, Dubuc et al. 1992, Saad, Dubuc et al. 1997, Saad, Dubuc et al. 1999). Les types de MNs trigéminaux ne sont pas retrouvés équitablement dans l'ensemble du NVmt. En fait, la région DL est composée de MN- α et MN- γ alors que la région VM ne possède que des MN- α ce qui concorderait avec l'absence de fuseaux neuromusculaires dans les muscles d'ouverture (Limwongse and DeSantis 1977).

Les MNs innervant chaque muscle sont regroupés dans des sous-noyaux distincts dans le NVmt (voir figure 1-11). Dans la division DL, ces derniers sont distribués selon une organisation laminaire (Rokx and van Willigen 1985). Ceux innervant le masséter antérieur profond sont interposés entre ceux innervant le masséter superficiel (latéralement) et ceux innervant le temporal (médialement). Finalement, les ptérygoïdes médian et latéral sont contrôlés par les MNs regroupés dans l'extrémité ventrale de la région DL. Dans la région VM, les MNs du mylohyoïde sont positionnés dorsolatéralement par rapport à ceux du digastrique antérieur.

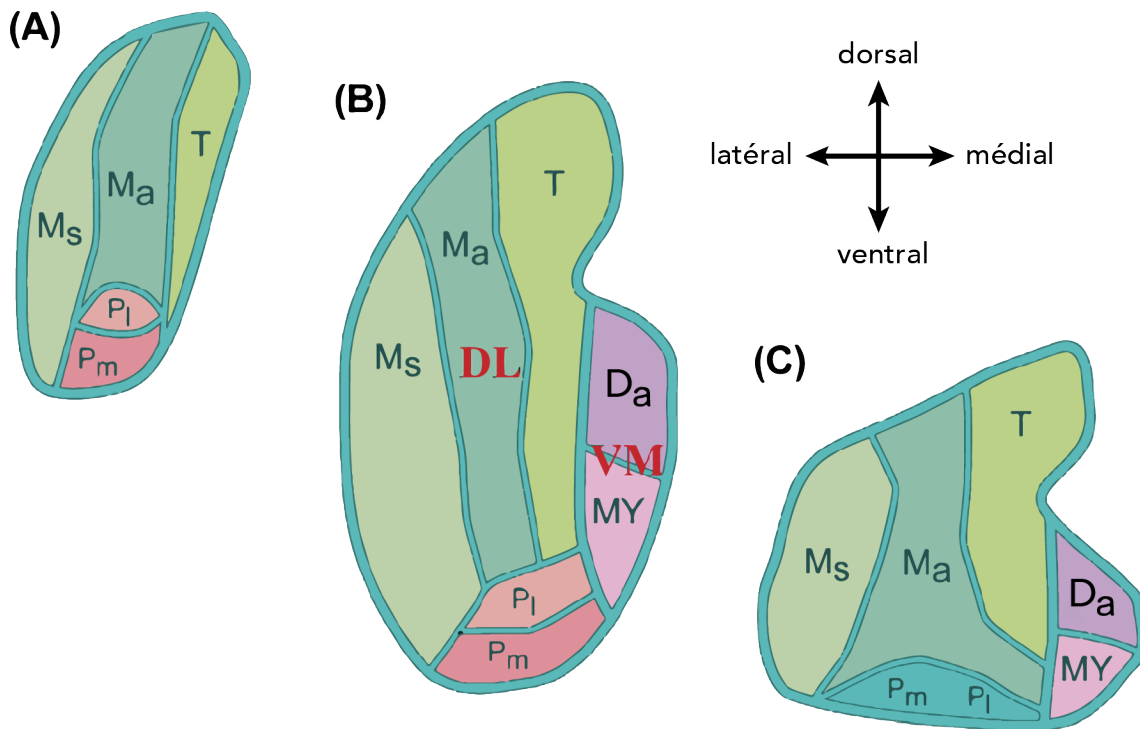


Figure 1-11. Organisation myotopique du noyau moteur du trijumeau (NVmt) représentée sur trois coupes coronales de rostral (A) à caudal (C). La sous-division dorso-latérale (DL) est plus large et s'étend sur toute la longueur du NVmt sur l'axe rostro-caudal alors que la sous-division ventro-médiale (VM) est pour sa part plus petite et ne s'étend que sur les deux tiers du noyau (B et C). Les groupes de motoneurones innervant les différents muscles de fermeture sont largement séparés dans le NVmt : masséter superficiel (Ms), masséter antérieur profond (Ma), temporal (T), ptérygoïdes médian (Pm) et latéral (Pl). Dans la région VM, on retrouve ceux innervant les muscles d'ouverture soit le digastrique antérieur (Da) et le mylohyoïde (MY). Adapté de (Travers 2015).

1.3.4.4 Compartimentalisation des muscles masticatoires

Les compartiments neuromusculaires représentent les plus petites divisions anatomiques des muscles complexes permettant chacun un mouvement unique (Widmer and Morris-Wiman 2010). Ces compartiments se distinguent les uns des autres par l'orientation et le type des fibres musculaires qui les composent. Ces derniers sont innervés indépendamment et peuvent être recrutés individuellement ou en groupe par le GPC. Ceci permet de générer et d'adapter de manière précise des mouvements rythmiques complexes. Cette particularité est observable dans plusieurs muscles du corps notamment dans le gastrocnémien latéral (English and Letbetter 1982), la langue (Mu and Sanders 1999, Slaughter, Li et al. 2005) et le biceps brachial (Segal 1992). Les muscles masticatoires comme le masséter et le temporal possèdent aussi ce type de division anatomique et fonctionnelle et sont de bons exemples de muscles complexes (Herring, Grimm et al. 1979, Eriksson, Stalberg et al. 1984).

Le masséter est divisé en trois couches anatomiques par des septa tendineux incluant la superficielle, l'intermédiaire et la profonde (Schumacher 1961, Weijs and Dantuma 1981, Widmer, Klugman et al. 1997). Bien qu'il ait comme rôle principal d'élever la mandibule, les caractéristiques de ses fibres musculaires varient sur les axes superficiel-profond et antéro-postérieur et permettrait ainsi d'autres types de mouvements. En effet, les fibres de la portion superficielle sont orientées obliquement et s'attachent au ramus et à l'angle de la mandibule pour permettre un mouvement de protrusion (Schumacher 1980). La portion profonde, connue aussi sous le nom du muscle masséter profond antérieur (Weijs and Dantuma 1981), possède pour sa part des fibres à orientation verticale et aiderait à la rétrusion mandibulaire (Schumacher 1980). Les types de myosine varient aussi à l'intérieur du masséter avec un plus grand nombre de fibres musculaires lentes (I) dans la couche superficielle par rapport à la profonde qui possède principalement des fibres de type rapide (IIa) (Bredman, Weijs et al. 1990, Weijs, Juch et al. 1993, Kwa, Korfage et al. 1995). Cette augmentation en fibres de type lente est aussi observable sur l'axe postéro-antérieur de chacune des couches du masséter (Bredman, Weijs et al. 1990). Ceci suggère que dépendamment des compartiments neuromusculaires recrutés par le GPC masticatoire, le masséter peut jouer un rôle tant dans la posture que dans la production de mouvements variés de la mâchoire (Saad, Dubuc et al. 1997). Des études effectuées sur le lapin

(Widmer, Carrasco et al. 2003) et l'humain (Widmer, Bui et al. 1996) ont montré par la suite que ces divisions anatomiques du masséter pouvaient être divisées davantage en plusieurs autres compartiments neuromusculaires pouvant être activés de manière différentielle durant la mastication (Weijs and Dantuma 1981, English and Widmer 2001). Par exemple, chez le lapin le masséter serait composé de 23 compartiments différents innervés chacun par les axones d'une unité motrice unique (English, Carrasco et al. 1999, Widmer, Carrasco et al. 2003).

Une étude concernant l'innervation intramusculaire du muscle temporal a permis l'identification de cinq compartiments distincts innervés de manière indépendante (Chang, Cantelmi et al. 2013). Ce muscle est séparé sur son axe antéro-postérieur en trois grandes régions supérieures et en deux plus petites régions inférieures. Les compartiments antérieurs, moyens et postérieurs de la région supérieure du temporal sont respectivement innervés par le nerf temporal profond antérieur, moyen et postérieur (Chang, Cantelmi et al. 2013). Dû à sa forme d'éventail, le muscle temporal supérieur possède des fibres orientées verticalement dans sa portion antérieure, obliquement dans sa portion intermédiaire et quasi horizontales dans sa portion postérieure. Cet arrangement anatomique permet la production de mouvements selon différents vecteurs. La région antérieure permet l'élévation de la mandibule alors que les régions postérieures et intermédiaires permettent la rétraction et protraction en plus d'assister à la force de fermeture de la mâchoire (Macdougall and Andrew 1953, Greenfield 1956, Vitti and Basmajian 1977, Blanksma, van Eijden et al. 1997). Ensuite, la portion antérieure et postérieure de la région inférieure du temporal sont innervées respectivement par le nerf buccal et massétéral (Chang, Cantelmi et al. 2013). Des travaux de Geers *et al.* (2005) ont permis de confirmer l'implication fonctionnelle du compartiment neuromusculaire situé dans la région antéro-inférieure du muscle temporal qui contribuerait aux mouvements de la mâchoire vers le côté controlatéral (Geers, Nyssen-Behets et al. 2005).

1.4 Objectifs de l'étude

Cette compartimentalisation neuro-musculaire des muscles de fermeture de la mâchoire complexifie l'étude de l'organisation myotopique des MNs trigéminaux qui les innervent et des mouvements masticatoires. Il est bien établi que chaque compartiment possède des propriétés biomécaniques uniques et peut être activé indépendamment selon les commandes motrices envoyées par le GPC masticatoire. Le recrutement différentiel de ces compartiments par les pré-MNs trigéminaux permettrait la production de mouvements précis et variés selon le rétrocontrôle sensoriel provenant de la région orofaciale. Bien que plusieurs régions projettent directement au NVmt, de plus en plus d'évidences associent le NVsnpr dorsal comme étant celui qui génère et relaye le rythme aux différents groupes de MNs trigéminaux (voir section [1.3.2.3](#)). En effet, ce dernier projette aux MNs trigéminaux, reçoit la majorité des inputs sensoriels nécessaires au rétrocontrôle des mouvements masticatoires selon les propriétés des aliments ingérés et possède des neurones ayant la capacité de générer une activité rythmique de façon intrinsèque. Cette propriété émerge avec le début de la mastication et l'activité rythmique produite est en phase avec l'ouverture et la fermeture de la mâchoire. Dans le cadre de cette étude, nous avons émis comme hypothèse que le NVsnpr possède la capacité d'entraîner de l'activité rythmique dans des groupes précis de MNs trigéminaux grâce à l'organisation topographique de ses projections vers le NVmt. Le but principal de cette étude consistait ainsi à confirmer le rôle fonctionnel du NVsnpr dans la genèse et le contrôle de la mastication. Pour ce faire, nous avons utilisé des techniques de marquage rétrograde et d'imagerie calcique pour confirmer et décrire l'organisation des projections entre le NVsnpr et le NVmt. De plus, des enregistrements de MNs trigéminaux ont été réalisés pour étudier la transmission du rythme entre le NVsnpr et le NVmt tout en apportant une preuve électrophysiologique de leur connectivité qui n'est pas encore décrite chez la souris.

CHAPITRE 2

2. Résultats

Ce chapitre porte sur l'article (non publié) suivant :

Mohammed Slaoui Hasnaoui, Dorly Verdier, Sami Obeid, Arlette Kolta. *Functional connectivity between the trigeminal main sensory nucleus and the trigeminal motor nucleus*. Frontiers in Neuroscience, 2019.

2.1 ABSTRACT

The present study shows a new evidence of a functional connectivity between the NVmt and the NVsnpr. Our results indicate that neurons projecting to NVmt are located in the dorsal $\frac{3}{4}$ region of NVsnpr. Electrical stimulation of the dorsal NVsnpr induced multiphasic excitatory synaptic responses in trigeminal MNs while BAPTA application induced a rhythmic activity, further emphasizing the functional relationship between these two nuclei in terms of rhythm transmission. In calcium imaging, electrical stimulation of NVsnpr evoked calcium responses in MNs located mainly in the jaw-closing region of NVmt and revealed a specific pattern of connectivity between the two nuclei. The organization of the projections seemed to critically depend on the dorso-ventral location of the stimulation site within NVsnpr. The main tendency observed was in regard to the DL region of NVmt receiving inputs from the dorsal NVsnpr (R1 and R2), whereas the VM region of NVmt was found to receive inputs from R2 and R3, which accounts for the major part to the intermediate division of the NVsnpr. This study confirms and develops earlier experiments by exploring the physiological nature and functional topography of the connectivity between NVsnpr and NVmt that was demonstrated in the past with neuroanatomical techniques.

2.2 INTRODUCTION

Mastication is a vital mammalian motor behavior that allows the preparation of food for swallowing during feeding. This rhythmic movement can be initiated by repetitive stimulation of either the cortical masticatory area (CMA) or the trigeminal sensory afferents while its pattern of activity is shaped by a neuronal network in the brainstem known as the central pattern generator (CPG) (Bremer 1923, Dellow and Lund 1971). Combined evidences from several *in vitro* studies suggest that the CPG is located in the pons near the trigeminal motor nucleus (NVmt) (Kogo, Funk et al. 1996, Nakamura, Katakura et al. 1999, Tanaka, Kogo et al. 1999).

In rodents, motoneurons (MNs) innervating masticatory muscles are clustered in two distinct divisions in the NVmt, a large dorsolateral (DL) and a much smaller ventromedial (VM) containing respectively the jaw-closing and jaw-opening MNs (Mizuno, Konishi et al. 1975, Limwongse and DeSantis 1977, Sasamoto 1979, Jacquin, Rhoades et al. 1983, Lynch 1985, Rokx and van Willigen 1985). The DL division extends throughout its entire rostrocaudal length while the VM division is present only within the caudal two thirds of the nucleus. In fact, masticatory muscles are divided into many neuromuscular compartments allowing the production of complex movements. Each one of them represents the smallest anatomical division of a muscle whose activation generates a unique movement (Widmer and Morris-Wiman 2010). They can also be innervated independently and recruited either individually or in group by the CPG. For instance, the rabbit masseter muscle was shown to be composed of at least 23 different neuromuscular compartments each innervated by axons of a single motor unit (English, Carrasco et al. 1999, Widmer, Carrasco et al. 2003). Thus, the differential recruitment of these compartments by the trigeminal pre-MNs would allow the production of precise and diverse jaw movements in accordance to the sensory feedback coming from the orofacial region. These evidences would imply a much more complex myotopic organization of the NVmt as well as the presence of a functional topographical organization of the projections coming from the masticatory CPG.

The trigeminal main sensory nucleus (NVsnpr) is one of the regions near the NVmt that shows rhythmic activity during fictive mastication and many evidence suggest that it plays a crucial role in either pattern and/or rhythm generation placing it at the very heart of the chewing CPG. Indeed, the dorsal part of the NVsnpr shows an increase of its neural activity during fictive mastication (Athaniassiadis, Olsson et al. 2005, Viggiano, Manara et al. 2015) and many of its neurons discharge in phase with the closing or opening of the jaw (Tsuboi, Kolta et al. 2003). Furthermore, NVsnpr receives inputs from the CMA and the trigeminal sensory afferents which allows respectively the initiation and adaptation of masticatory movements (Yasui, Itoh et al. 1985, Shigenaga, Chen et al. 1986, Shigenaga, Okamoto et al. 1986, Shigenaga, Sera et al. 1988, Yoshida, Taki et al. 2009). Our previous works, showed that neurons in its dorsal part have intrinsic bursting properties that rely on a sodium persistent current (I_{NaP}) which appearance coincides with emergence of the first masticatory movements (Brocard, Verdier et al. 2006). Moreover, anatomical evidence suggest that direct projections from this nucleus to trigeminal MNs (Mizuno, Yasui et al. 1983, Landgren, Olsson et al. 1986, Li, Takada et al. 1993b, Kolta, Westberg et al. 2000) are topographically organized with the dorsal and intermediate regions projecting respectively to the DL and VM regions of NVmt (Li, Takada et al. 1995). However, the size of tracer injections and the presence of fibers of passage through the NVmt limit interpretation of the results of these anatomical studies. Besides these anatomical studies of connectivity, little is known about the functional relationship between NVsnpr and trigeminal MNs. Therefore, the purpose of this study was to understand better the potential role of NVsnpr in patterning jaw movements by examining its functional connectivity with NVmt. To do so, we used whole-cell, calcium imaging and retrograde labelling to confirm and describe the topographical organization of NVsnpr projections to NVmt. Finally, recordings from MNs were also performed to investigate rhythm transmission between NVsnpr and NVmt.

2.3 RESULTS

2.3.1 Anatomical evidence of connectivity between NVsnpr and NVmt

To document direct projections from NVsnpr to NVmt, injections of biocytin were made into the dorsal and ventral divisions of NVmt for retrograde labelling of NVsnpr neurons or into the dorsal and ventral divisions of NVsnpr for anterograde labelling to NVmt (in 10 mice). Distribution of retrogradely labelled neurons within the 4 different regions of the NVsnpr (R1, R2, R3 and R4) following injections of biocytin into the dorsal (75 cells in R1, 109 cells in R2, 21 cells in R3 and 2 cells in R4; N=5 mice) and ventral (78 cells for R1, 96 cells for R2, 21 cells for R3 and 1 cells for R4; N=3 mice) NVmt are illustrated in **Fig. 1A, 1B and 1C**. Both the number (dorsal : 207 cells, ventral: 196 cells) and the distribution pattern of retrogradely labeled neurons in NVsnpr were roughly the same for both injection sites in NVmt. Retrogradely labeled neurons were distributed preferentially in the dorsal NVsnpr (R1 and R2) although labelled neurons in R3 were also observed but to a lesser extent. In both injections, R2 was the region with the highest number of projecting neurons. Combined data obtained for dorsal and ventral injections, makes it clear that NVsnpr projections to NVmt originates mostly from the dorsal $\frac{3}{4}$ of the nucleus (153 cells for R1, 205 cells for R2 and 42 cells for R3; in 8 mice) with the most ventral region (R4: 3 cells) having almost no projecting neurons.

To further support these results, we injected biocytin into the dorsal (6 slices in 6 mice) and ventral (4 slices in 3 mice) NVsnpr to assess the presence of axonal projections going towards the NVmt. Injection of biocytin within the dorsal NVsnpr resulted in the labelling of thin fibers originating from the injected site in NVsnpr (in 3 slices) and projecting inside the NVmt (**Fig. 1D**). Biocytin injections performed within the ventral NVsnpr resulted also in labelling of thin projecting fibers originating from the ventral NVsnpr but this time terminating mostly in a region ventral to NVmt (**Fig. 1E**) also known as the parvocellular reticular formation (PCRt).

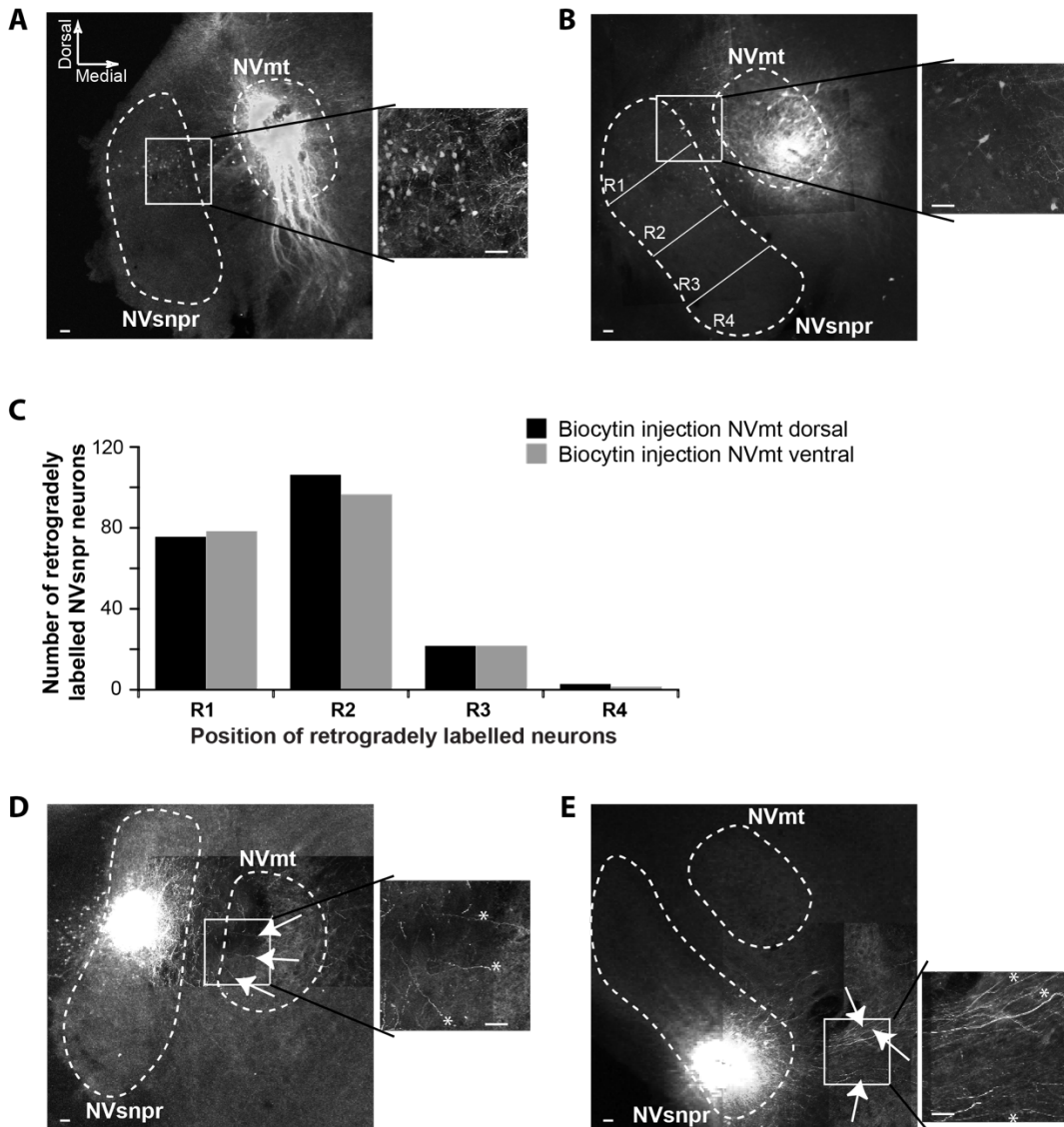


Figure 1. Anatomical evidence of direct projections between NVsnpr and NVmt using biocytin-labelling. **A.** *Left:* Photomicrograph showing retrogradely labelled cell bodies in the NVsnpr following extracellular injection of biocytin in the dorsal part of the NVmt. *Right:* Enlargement of the white square in left. Calibration bars 100 μ m. **B.** *Left:* Photomicrograph showing retrogradely labelled cell bodies in the NVsnpr following extracellular injection of biocytine in the ventral part of the NVmt. *Right:* Enlargement of the white square in left. Calibration bars 100 μ m. **C.** Vertical bars chart reporting the distribution of retrogradely labelled cells bodies within the four subdivisions of the NVsnpr. **D.** *Left:* Photomicrograph showing the presence of several fibers in the NVmt following extracellular injection of biocytine in the dorsal part of the NVsnpr. *Right:* Enlargement of the white square in left. Calibration bars 100 μ m. **E.** *Left:* Photomicrograph revealing the absence of fibers in the NVmt following extracellular injection of biocytine in the ventral part of the NVsnpr. Several fibers could be seen coursing ventrally to the nucleus. *Right:* Enlargement of the white square in left. Calibration bars 100 μ m. *Cette expérience a été effectuée par Sami Obeid.*

2.3.2 Electrophysiological evidence of connectivity between NVsnpr and NVmt

2.3.2.1 Whole-cell recordings of trigeminal MNs

To investigate the functional connectivity between NVsnpr and NVmt, we recorded in whole-cell configuration responses of trigeminal MNs (n=32 from 22 mice) to electrical stimulation of dorsal NVsnpr. Trigeminal MNs had a mean input resistance of $67 \pm 12\text{M}\Omega$ and resting membrane potentials (RMP) ranging from -45 to -74 mV (mean of $-56 \pm -1\text{mV}$). Nearly half of the recorded MNs (44%, n=14) exhibited spontaneous tonic firing at frequencies ranging from 1 to 41Hz with a mean of $7.5 \pm 2.1\text{Hz}$. Electrophysiological characteristics of trigeminal MNs are summarized in **Table 1**.

Table 1. Electrophysiological characteristics of trigeminal motoneurons and NVsnpr neurons

Electrophysiological characteristics	Motoneurons (n=32)	NVsnpr neurons (n=12)
Input resistance (M Ω)	67 ± 12	230 ± 29
RMP (mV)	-56 ± -1	-50 ± 2
Firing threshold (mV)	-42 ± -2	-40 ± 1
Spontaneous firing frequency (Hz)	7.5 ± 2.1	7.2 ± 1.8
AP amplitude (mV)	85 ± 4	60.8 ± 8.6
AP duration (ms)	1.6 ± 0.1	1.7 ± 0.3
AHP amplitude (mV)	12.4 ± 1.6	6.8 ± 1.9

AP, action potential; AHP, afterhyperpolarization; RMP, resting membrane potential.

Electrical stimulation of the dorsal NVsnpr evoked excitatory postsynaptic potentials (EPSPs) in 7 of 17 MNs tested (from 12 mice) at a mean latency of 2.5 ± 0.2 ms that could follow stimulation frequencies of 20-40Hz suggesting mono- to di-synaptic response. The EPSPs mean amplitude and duration were respectively of 4.2 ± 0.7 mV and 40 ± 11 ms. In 5 of 7 cases, EPSPs were multiphasic and were composed of multiple overlapping synaptic events. An EPSP consisting of more than two rising phases is shown in **Fig. 2A-C**. In 5 MNs, high frequency stimulation (40Hz) of the dorsal NVsnpr resulted in an increase of the frequency of spontaneous EPSPs (6.5 ± 2.3 Hz; **Fig. 2D**). In 3 cases, the high frequency stimulation also caused a sustained depolarization (6.5 ± 1.9 mV lasting 9.4 ± 3.2 s) at a mean latency of 1.0 ± 0.5 s that led (in 2 cases) to low frequency firing at a mean latency of 1.2 ± 0.6 s (**Fig. 2E**). In the remaining 10 MNs, 8 responded to the electrical stimulation with short-latency (1.0 ± 0.1 ms) action potentials (amplitude: 89 ± 7 mV; duration: 1.6 ± 0.3 ms; AHP amplitude : 10.6 ± 1.7 mV) that did not emerge from an underlying EPSP (**Fig. 2F**). These responses may reflect direct activation of MNs through their dendrites which are known to extend far beyond the boundaries of NVmt, reaching NVsnpr, among other regions (Mong, Chen et al. 1988, Lingenhohl and Friauf 1991).

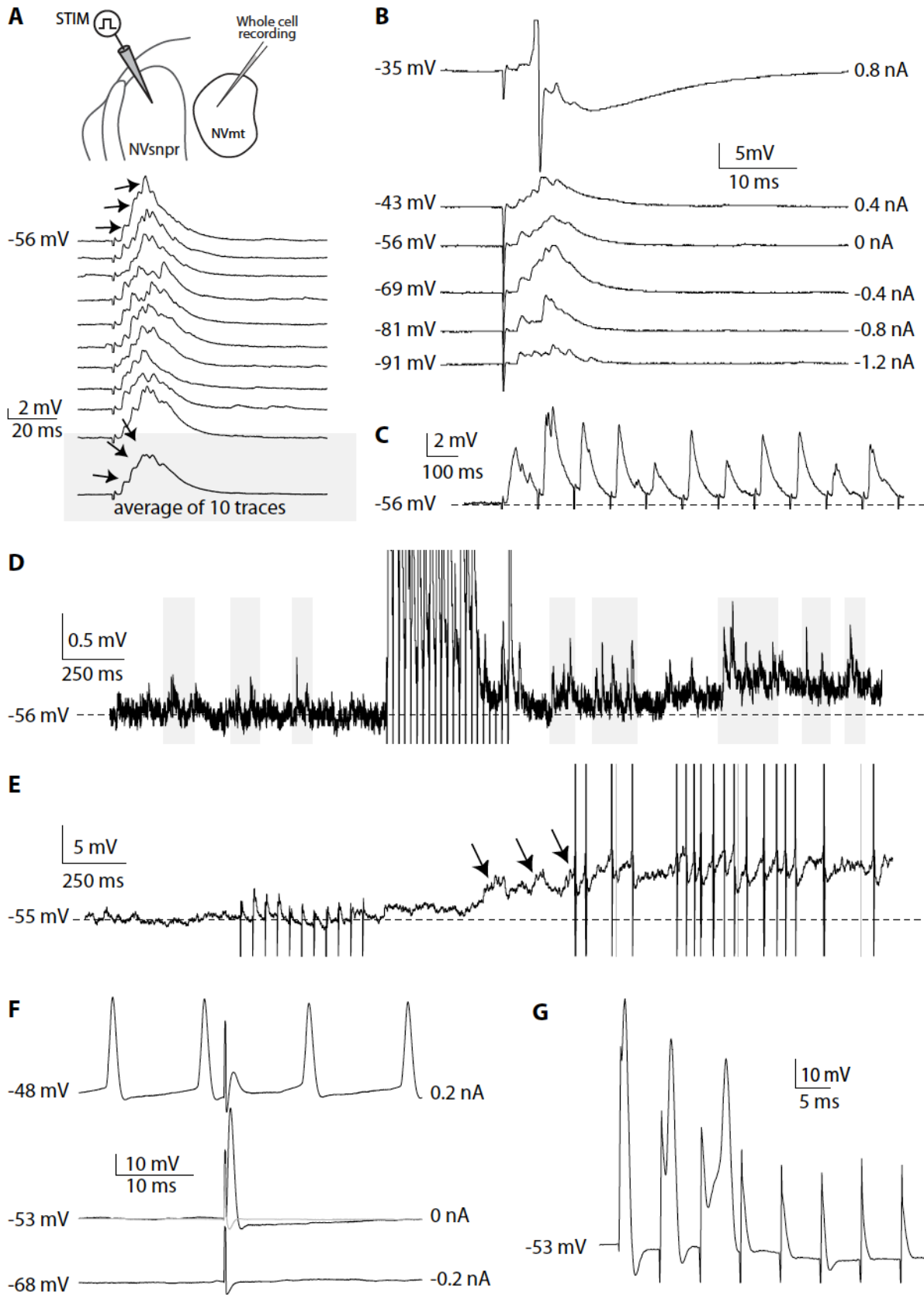


Figure 2. Electrical stimulation of NVsnpr induces monosynaptic responses in trigeminal MNs. **A. Top:** Schematic drawing of the brainstem slice preparation and the experimental condition used. **Bottom:** Example of a multiphasic EPSP recorded in the NVmt following electrical stimulation in the dorsal NVsnpr. Responses to 10 single pulses are shown. Inset: Average trace of 10 EPSPs still shows the multiphasic component **B.** Depolarization elicited an action potential (Top trace, truncated) and did not reveal a reversal of the response. **C.** This EPSP followed stimulation of 40 Hz. **D.** Train of repetitive stimulations (500ms 40Hz) in the dorsal NVsnpr causes a long lasting increase of the frequency of spontaneous PSPs in the recorded motoneuron. **E.** Train of repetitive stimulations (500ms 40Hz) in the dorsal NVsnpr causes action potentials firing in the recorded motoneuron that seems to emerge from the summation of the increased spontaneous PSPs. **F.** Example of a short-latency action potential (middle) elicited in the motoneuron by electrical stimulation in the dorsal NVsnpr. Hyperpolarization does not reveal an underlying postsynaptic potential (PSP; bottom) and firing preceding the stimulation causes failure (top). **G.** High-frequency stimulation (166 Hz) reveals an inconsistency in latency and amplitude of the spike suggesting direct activation of the recorded motoneuron.

2.3.3 Functional evidence of connectivity between NVsnpr and NVmt revealed by calcium imaging

Ca²⁺ imaging and electrical stimulation of either NVsnpr or NVmt was used to assess functional connectivity. Electrical stimulation (500-900ms train, 40Hz) in NVmt confirmed the anatomical findings and elicited synchronized transient calcium responses ($261 \pm 20\% \Delta F/F_0$ lasting $2.2 \pm 0.1s$) in 161 NVsnpr neurons (12 of 14 mice tested) distributed essentially throughout the dorsal $\frac{3}{4}$ of the nucleus with the highest density located mainly in its dorsomedial area.

Electrical stimulation (500-900ms train, 40Hz) in 4 different regions of the NVsnpr elicited monophasic increase of intracellular calcium in 118 MNs (35 mice) throughout the dorsal and ventral NVmt (R1: 54 MNs in 18 of 30 mice, R2: 49 MNs in 10 of 15 mice, R3: 13 MNs in 3 of 5 mice and R4: 2 MNs in 2 of 5 mice; see **Fig. 3**). These were mostly transient responses ($160 \pm 15\% \Delta F/F_0$ lasting $3.4 \pm 0.3 ms$; $n=80/118$) characterized by a fast and a slow decay that outlasted the stimulation train. The remaining 32% (38 out of 118 MNs) exhibited persistent calcium responses ($87 \pm 16\% \Delta F/F_0$) with a minimal duration ranging between 3 and 55s. In 3 animals, bath-application of synaptic blockers abolished calcium responses in 4 out of 6 (67%) responding MNs (not shown). In general, each (trial) electrical stimulation performed in NVsnpr elicited few responses in the NVmt (mean cells/trial : 2.29 for R1, 2.25 for R2, 2.00 for R3 and 1.00 for R4; **Fig. 3C**) with a slightly higher ratio when the dorsal NVsnpr was stimulated. Indeed, the highest number of responsive cells per stimulation was obtained with R1 which

activated a cluster of 11 MNs in the dorsolateral quadrant of the NVmt (illustrated in **Fig. 3A**). This region holds also the highest concentration and density of responsive cells and therefore it might of all share the highest level of connectivity with NVsnpr (**Fig. 3B and 3E**). Stimulation of the first 3 regions (R1-R3) of the NVsnpr generated nearly all the calcium responses elicited in trigeminal MNs. In 5 mice, only 2 MNs located in the dorsolateral quadrant responded to the stimulation of R4 (**Fig. 3E**, right).

In general, responsive MNs were observed across the entire NVmt, but were more concentrated in certain areas depending on the stimulated site. Stimulation of the dorsal NVsnpr resulted mainly in activation of MNs located dorsally (R1: 44 of 54 MNs (82%) and R2: 35 of 49 MNs (71%)) with a slight lateral and ventral shift of the cell clusters when R2 was stimulated. Moreover, stimulation of R2 produced the highest ratio (67% of tested mice) and number (3.3/animal) of calcium response in NVmt which happens to be also the region in NVsnpr with the highest density of responsive neurons following stimulation of the NVmt. On the other hand, stimulations performed more ventrally, within R3, resulted in preferential distribution of the responsive cells into the ventral NVmt (dorsal : 7 MNs vs ventral : 8 MNs) with the higher density observed in the ventromedial division. A straight lateromedial pattern of connectivity emerges from comparison of the heatmaps of R1, R2 and R3 in which the position of activated regions of higher density in NVmt are shifting in the same direction in the dorsoventral axis as the displacement of the stimulation in NVsnpr. Comparison of combined data obtained from R1 and R2 (dorsal) with those generated in R3 and R4 (ventral) shows a higher responsiveness of trigeminal MNs to electrical stimulation of the dorsal NVsnpr (in 62% of tested mice, 2.3 MNs per animal) compared to ventral (in 50% of tested mice, 1.5 MNs per animal).

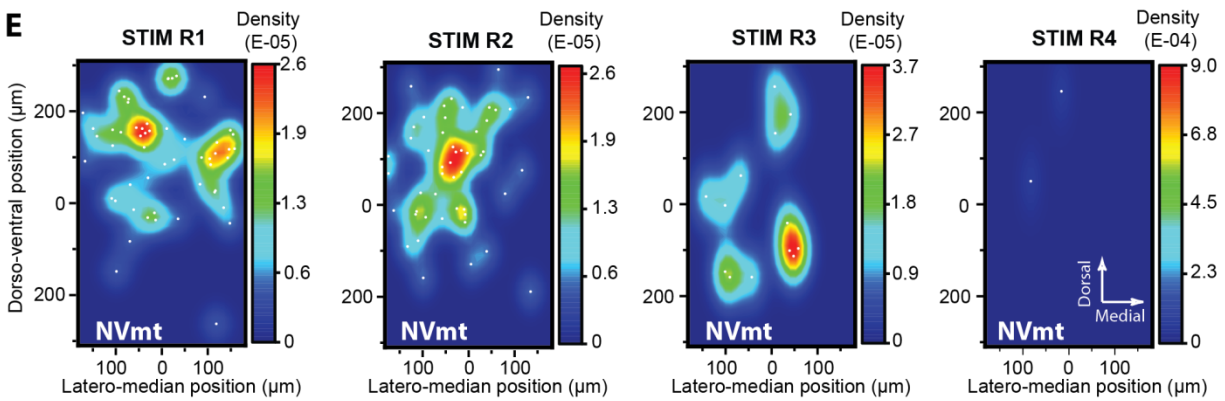
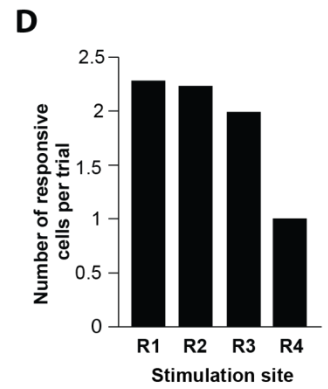
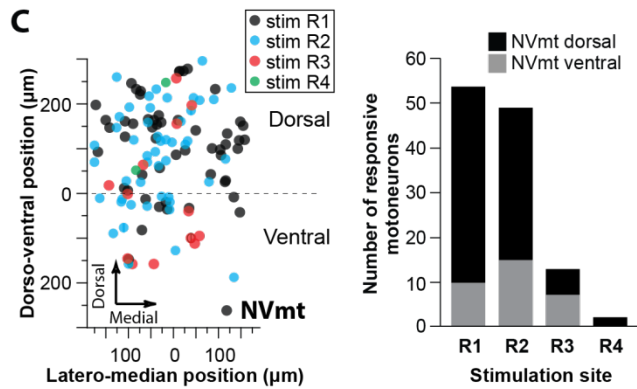
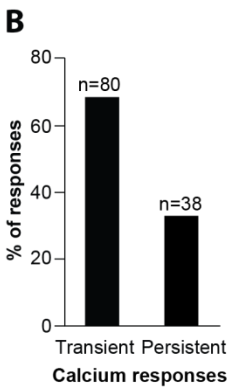
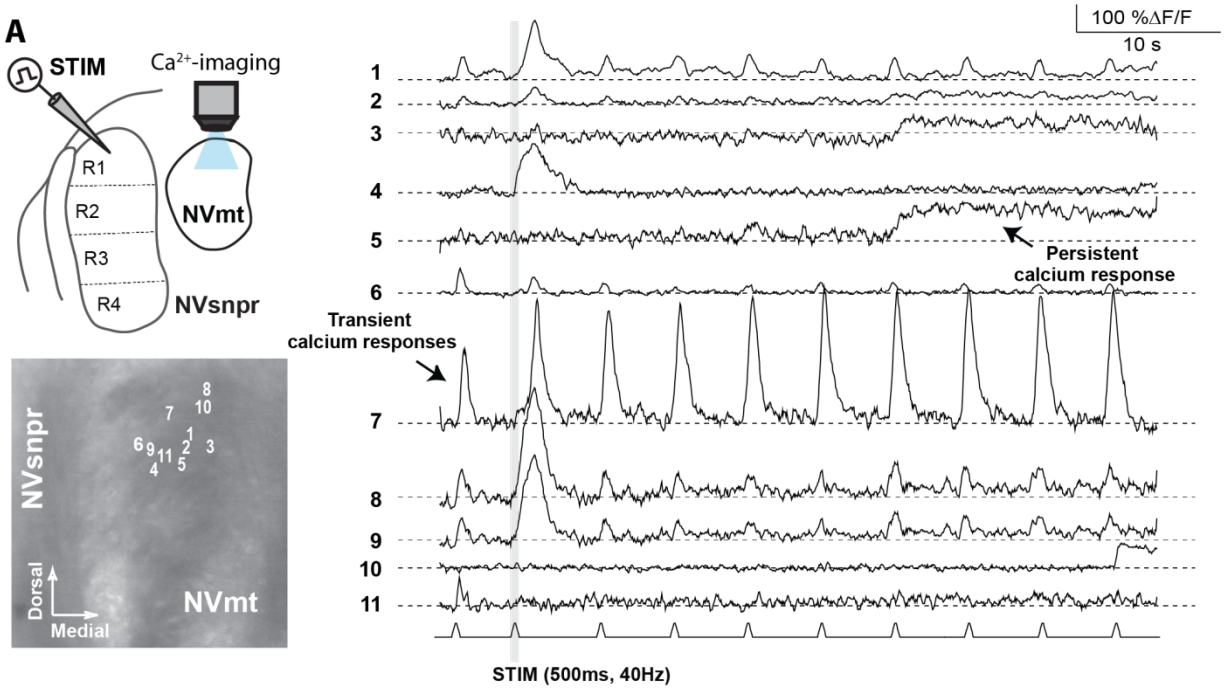


Figure 3. High frequency electrical stimulation of NVsnpr induces transient and persistent calcium responses in trigeminal MNs. **A. Left Top:** Schematic drawing of the brainstem slice preparation and the experimental condition used. **Left Bottom:** Photomicrograph showing the position of the responsive cells in the NVmt following electrical stimulation of the dorsal NVsnpr. **Right :** Calcium responses of several motoneurons elicited by electrical stimulation of the dorsal NVsnpr. **B:** Vertical bars chart reporting the number of responsive motoneurons according to the site of electrical stimulation in the NVsnpr. **C.** Vertical bars chart reporting the number of responsive motoneurons per trial according to the site of electrical stimulation in the NVsnpr. **D.** Vertical bars chart reporting the distribution of the type of calcium responses elicited in the motoneurons. **E.** Heatmaps illustrating the location of the responsive motoneurons within the NVmt according to the site of electrical stimulation in the NVsnpr.

2.3.4 Induction of rhythmic firing in NVsnpr neurons and transmission to MNs

2.3.4.1 BAPTA-induced bursting in NVsnpr neurons

To assess how rhythmic firing in NVsnpr is transmitted to MNs, we used local extracellular applications of BAPTA (10 mM) in NVsnpr of Thy1-GCaMP6f mice (N=9, P10-19) as previously done in rats (Morquette, Verdier et al. 2015). The basic electrophysiological characteristics of 12 dorsal NVsnpr neurons recorded for this purpose are summarized in **Table 1**. Ten of these had spontaneous activity as in **Fig. 4A** (right, top trace) and a depolarizing sag upon hyperpolarization (**Fig. 4A**, left, top traces) with 9 of them displaying rebound spiking upon termination of the current injection (see **Fig. 4A**, right, bottom trace).

Typically, local BAPTA applications at the RMP induced a depolarization (6.1 ± 1.6 mV; n=9) in NVsnpr neurons at a latency of 1.9 ± 0.7 s and an increase in firing frequency (21 ± 6 Hz; n=10), as emphasized by the abrupt drop of the interspike interval that could be seen in the example shown in **Fig. 4B** (top) occurring at a latency of 2.4 ± 0.8 s. In 7 of these 10 cases, the firing gradually switched to rhythmic bursting (**Fig. 4B**) as denoted by the oscillation of the interspike interval between two main levels, a lower one which indicates the interval between two action potentials within a burst and an upper one that reflect the interspike interval between

the last action potential in a burst and the first action potential of the subsequent burst. Local BAPTA applications at the RMP, directly induced rhythmic bursting in only one NVsnpr neuron, which amounts the total of bursting NVsnpr neurons to 8 of the 12 recorded neurons (67%) when tested at their RMP. An hyperpolarization ($7.2 \pm 1.6\text{mV}$) occurring alongside this bursting activity was observed in 5 cases changing the neurons membrane potential to approximately $-62 \pm 3\text{mV}$. These bursts consisted of three different types, the regular bursts (RB) ($n=4$; 50%), the adaptative bursts (AB) ($n=1$) and the irregular bursts (IB) ($n=3$; 38%). RB appeared at $-60 \pm -2\text{mV}$ and were represented by recurrent short plateaus ($10.3 \pm 2.6\text{mV}$ lasting $384 \pm 137\text{ms}$, $0.9 \pm 0.4\text{Hz}$) with over-riding action potentials occurring regularly at a frequency of $69.3 \pm 15.9\text{Hz}$. AB was elicited in only one neuron and was characterized by recurrent plateaus (0.4 Hz) of larger amplitudes (30.8 mV) and durations (1200 ms) that set off at a potential of -62 mV . Finally, the 3 remaining neurons displayed IB characterized by an irregular occurrence ($0.9 \pm 0.4\text{Hz}$) of plateaus that sets-off at an average potential of $-48 \pm -6\text{mV}$ and that can be further subdivided into smaller plateaus were observed. When tested at more hyperpolarized potentials ($-61 \pm -2\text{ mV}$), BAPTA induced a depolarization ($n=4$; $5.4 \pm 1.7\text{ mV}$ at a latency of $2.8 \pm 1.0\text{s}$) followed by a tonic ($n=2$; $9 \pm 4\text{Hz}$ at a latency of $10.1 \pm 1.2\text{s}$) or rhythmic discharge (latency of $8.2 \pm 1.2\text{s}$) in 6 out of 11 tested NVsnpr neurons (see **Fig. 4C**). These bursts (occurring at $-59 \pm -2\text{mV}$ with a mean latency of $7.0 \pm 2.3\text{s}$) were mainly RB ($n=3$; plateaus of $9.4 \pm 1.6\text{mV}$ lasting $86 \pm 22\text{ms}$, at $1.0 \pm 0.2\text{Hz}$) with two IB ($1.0 \pm 0.1\text{ Hz}$) and only one AB (plateaus of 30.9mV lasting 1700ms , at 0.3Hz). Interestingly, the majority of the bursts with irregular intraburst spiking (2 AB and 3 of 5 IB) were elicited in mice younger than P12 (P10 and P11) which coincides with the age of emergence of the first masticatory movements in the rat (Westneat and Hall 1992).

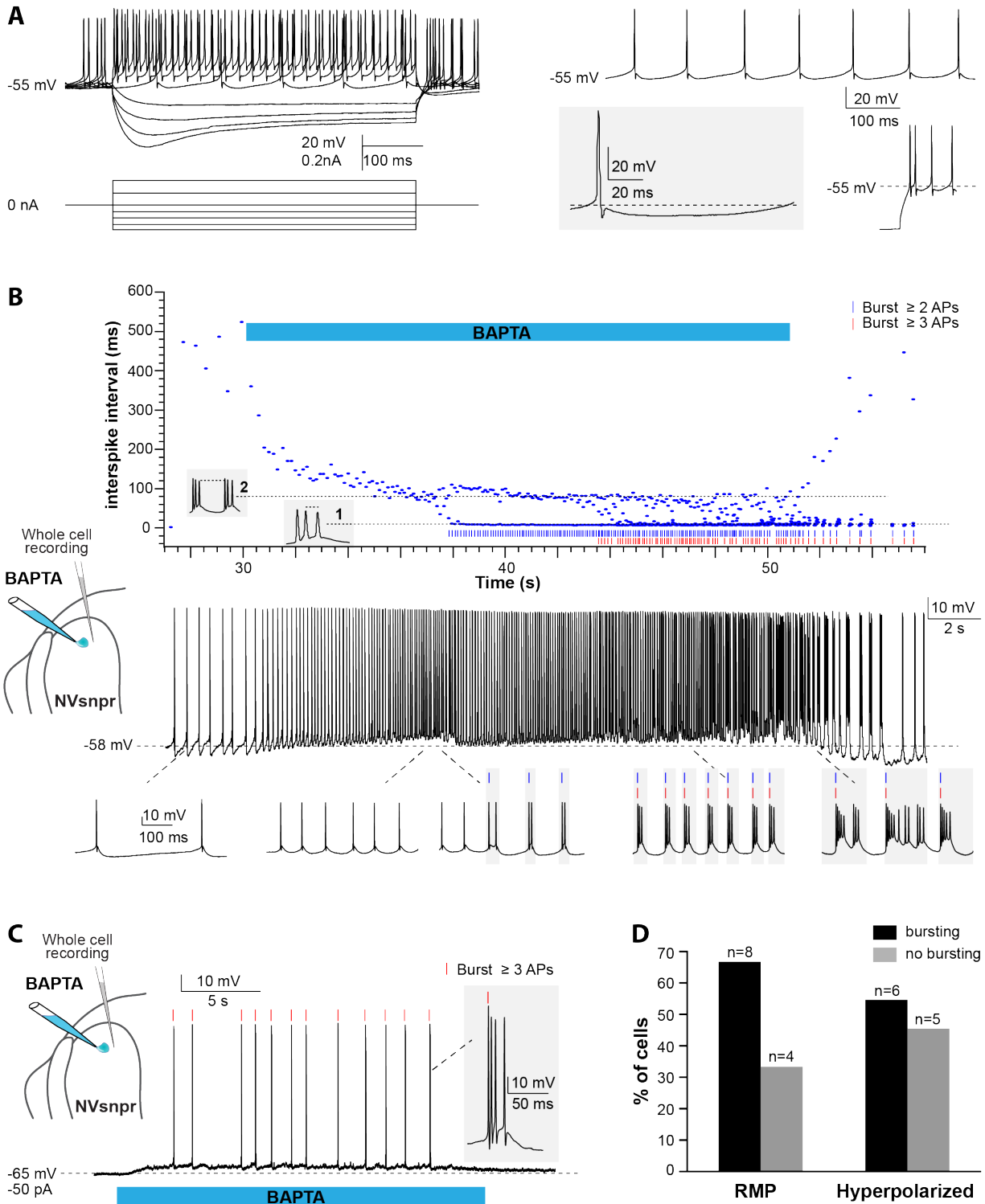


Figure 4. Local BAPTA application induces rhythmic bursting in mice NVsnr neurons. **A:** Left: Membrane response of an NVsnr neuron to current injection. *Right top* spontaneous activity recorded in an NVsnr neuron (inset bottom enlargement showing the biphasic AHP). *Right bottom:* Example of the rebound firing observed at the offset of membrane hyperpolarisation. **B:** *Top:* Scatter plot of the interspike interval prior to, along and after local application of BAPTA at the NVsnr neuron resting potential. The pattern of firing

gradually progresses from tonic to bursting along the course of BAPTA application (Bottom traces). **C**: Upon membrane hyperpolarisation, BAPTA application directly causes burst firing (inset) in the NVsnpr neuron. **D**. Vertical bars chart reporting the number of bursting and non-bursting NVsnpr neurons membrane potential state (RMP or hyperpolarized).

2.3.4.2 Calcium imaging of NVsnpr neurons

Whole-cell recordings in the current-clamp configuration allowed real time monitoring of the physiological activity in recorded neurons and enabled us to adjust the membrane potential of the recorded cell to bring it closer to the activation range of the sodium persistent current (I_{NaP}) responsible for rhythmic bursting in NVsnpr neurons but does not provide information about the number, synchrony and distribution of activated cells. Calcium imaging of NVsnpr neurons in Thy1-GCaMP6f mice was used for that purpose. Local BAPTA (10mM, in 2 mice) applications in slices from these mice elicited mainly transient calcium responses in 19 NVsnpr neurons located near the site of application with a maximum radius of activation of approximately 420 μm (distance between the tip of the BAPTA pipette and the farthest responsive NVsnpr neuron). Responses occurred at variable latencies (mean of $17.3 \pm 4.0\text{s}$) depending on the position from the pipette tip. NVsnpr neurons responded with either single ($n=8$) or repetitive ($n=11$) Ca^{2+} increases to single BAPTA applications. Single Ca^{2+} responses ($n=8$) were in the majority transient and monophasic ($187 \pm 87\% \Delta\text{F}/\text{F}_0$ lasting $8.6 \pm 2.8\text{s}$, in 6 of 8 neurons, 75%) and consisted of an initial fast rising phase followed by a slow decay period (**Fig. 5A**, trace 1). A biphasic calcium response ($396 \pm 105\% \Delta\text{F}/\text{F}_0$) was observed in the 2 remaining cases (as in **Fig. 5A**, trace 3). This type of response was characterized by a transient peak followed by a sustained plateau which persisted as long as the BAPTA was applied. In the 11 other neurons (58%), repetitive Ca^{2+} transients peaks ($110 \pm 12\% \Delta\text{F}/\text{F}_0$ lasting $4.2 \pm 1.6\text{s}$) were observed (**Fig. 5A**, traces 4-7) occurring at a mean frequency of $0.38 \pm 0.04\text{Hz}$. In 5 of these cases, the repetitive Ca^{2+} transients peaks override a plateau-like calcium transient as in the examples shown in **Fig. 5B** (left, bottom trace).

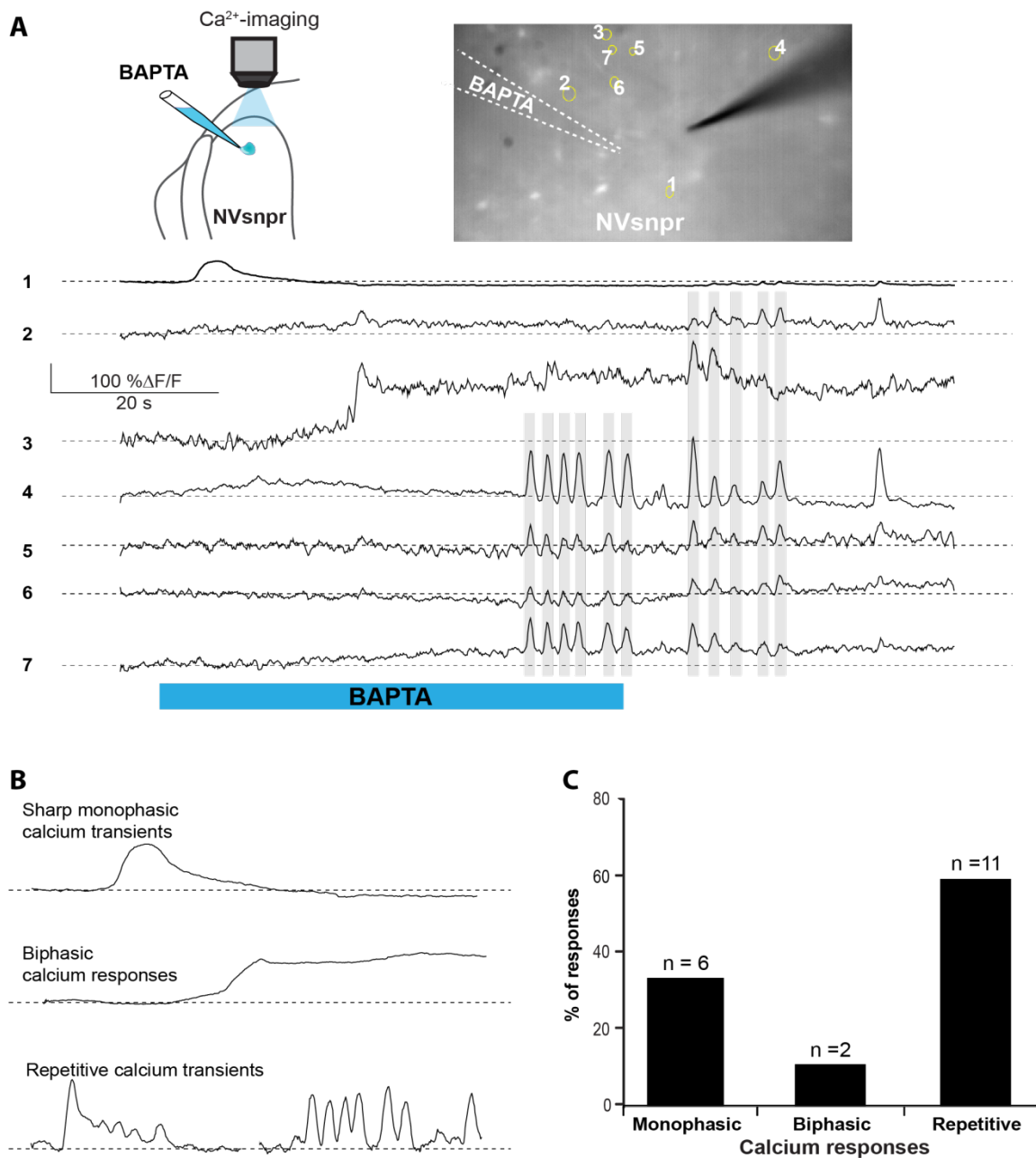


Figure 5. Local BAPTA application induces patterns of calcium responses in NVsnpr neurons reflecting those obtained in whole-cell configuration. **A.** *Right Top:* Schematic drawing of the brainstem slice preparation and the experimental condition used. *Left Top:* Photomicrograph showing the position of the responsive cells in the NVsnpr following local BAPTA application. *Bottom:* Calcium responses of several NVsnpr neurons following local BAPTA application. **B:** Vertical bars chart reporting the number of responsive motoneurons according to the site of electrical stimulation in the NVsnpr. **C.** Illustration of the three main types of calcium responses observed in NVsnpr neurons following local application of BAPTA. **C.** Vertical bars chart reporting the distribution of the type of calcium responses of NVsnpr neurons to local application of BAPTA.

2.3.4.3 Trigeminal MNs responds to BAPTA-induced bursting in NVsnpr

Whole-cell recordings of MNs

Motoneurons responses to BAPTA application in dorsal NVsnpr were first assessed electrophysiologically with recordings from 20 MNs distributed across the NVmt (**Fig. 6**). These responses were more frequent in MNs at hyperpolarized holding potentials ($n=7$, $-65 \pm -1\text{mV}$) compared to when it was tested at RMP states ($n=4$, $-60 \pm -3\text{mV}$). For instance, 4 out of 11 MNs exhibited rhythmic bursts (RB type as in **Fig 6A**) at a mean latency of $22 \pm 6\text{s}$ with only half of them occurring when tested at their RMP. These RB appeared at $-58 \pm -2\text{mV}$ and had recurrent ($2.5 \pm 0.6\text{Hz}$) short plateaus ($13 \pm 3\text{mV}$ lasting $47 \pm 19\text{ms}$) with overriding action potentials occurring regularly at a frequency of $128 \pm 30\text{Hz}$. The most frequent effect induced by BAPTA was a membrane depolarization of $9.2 \pm 1.6 \text{ mV}$ ($n=6$) occurring at a mean latency of $8.2 \pm 3.7\text{s}$ leading in all cases to different patterns of spiking. These patterns were either tonic with singlets ($n=3$; $22.4 \pm 5.6 \text{ Hz}$ at $-57 \pm -3 \text{ mV}$) or duplets ($n=1$; 1.2 Hz at -63 mV ; plateaus of 5mV lasting 1ms) of action potentials or rhythmic with regular bursts (2 of 4 bursting MNs). In 3 of 6 cases, the discharge was followed by an hyperpolarization (latency: $12.2 \pm 0.5\text{s}$, duration: $14.0 \pm 4.7\text{s}$) that brings the MN $6.8 \pm 2.2\text{mV}$ below (at $-74 \pm -4 \text{ mV}$) the baseline potential. Another apparent effect of BAPTA was the appearance of recurrent depolarizations as in **Fig. 6B** ($4.6 \pm 0.9\text{mV}$ lasting $1.0 \pm 0.3\text{s}$) characterized by synchronized groups of high amplitude spontaneous EPSPs ($n=4$). This type of response appeared at a mean latency of $11.5 \pm 6.9\text{s}$ with an average frequency of $1.1 \pm 0.2\text{Hz}$ and lasted for approximately $43 \pm 10\text{s}$. In one MN, the appearance of spontaneous EPSPs combined with an increase of their frequency (0 to 40Hz) following BAPTA application can be observed preceding the occurrence of such repetitive depolarizations (see **Fig. 6A**, inset 3). In 2 out of 4 MNs, the timing of the recurrent depolarizations increased over time leading by temporal summation to a transient depolarization of longer duration ($4.5 \pm 2.6\text{s}$) and greater amplitude ($7.1 \pm 2.5\text{mV}$). In the 2 remaining MNs, the recurrent depolarizations were overridden by APs (singlets or duplets) suggesting that each one of them might actually represent a burst from a rhythmic sequence generated in NVsnpr neurons near the BAPTA pipette. In one particular MN, these recurrent

depolarizations started with a rapid transient hyperpolarization phase composed of either one or multiple IPSPs (3.9 mV lasting 24 ms) occurring at a frequency of approximately 27 Hz. In one MN, BAPTA caused a small and long lasting hyperpolarization (2.7mV lasting 33.1s) at a latency of 3.9s.

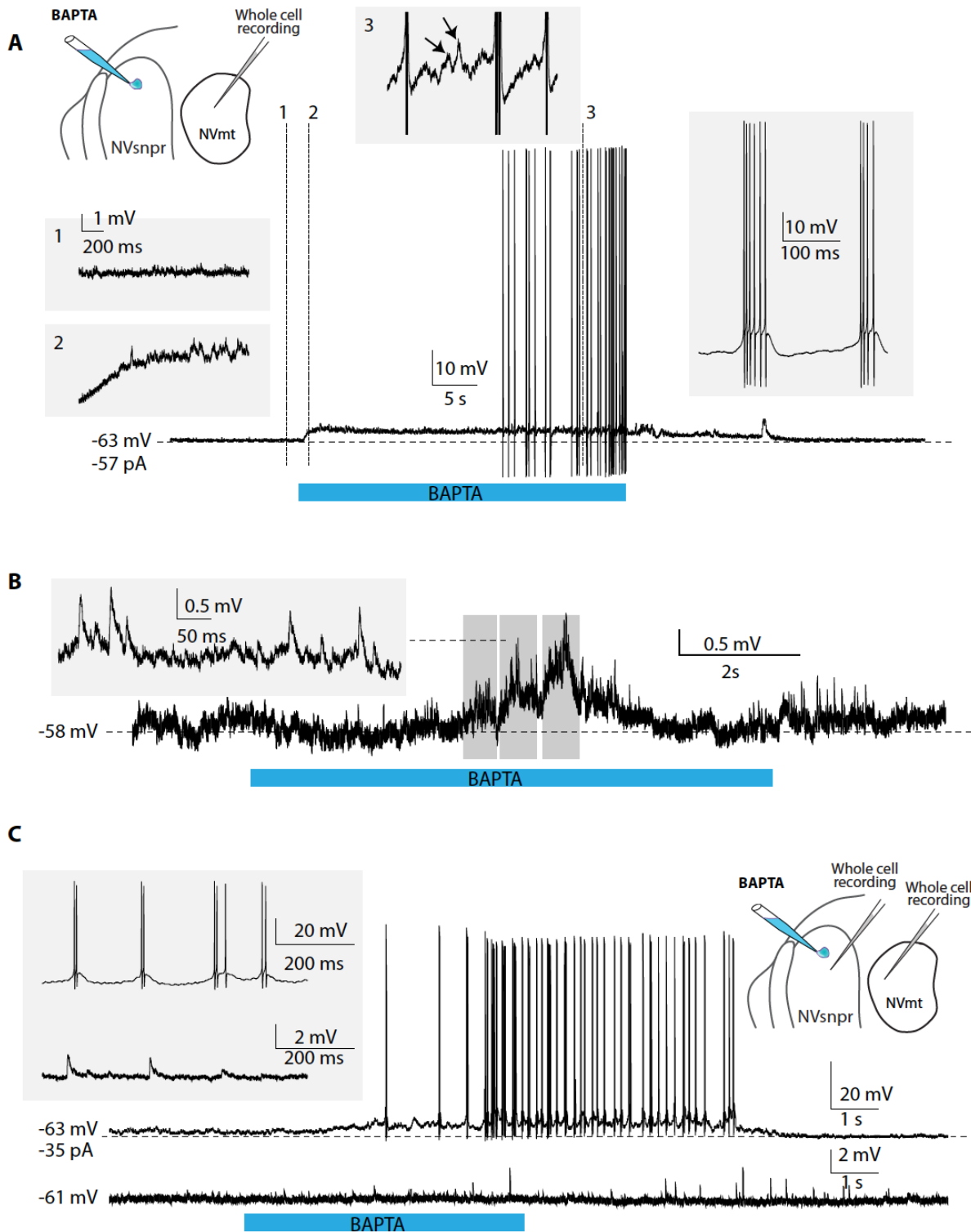


Figure 6. BAPTA-induced rhythmic activity in NVsnpr neurons can be relayed to NVmt. **A:** *Left Top:* Schematic drawing of the brainstem slice preparation and the experimental condition used. *Bottom:* BAPTA application in the dorsal NVsnpr causes burst firing (right, inset) in the recorded motoneuron. **B:** BAPTA application in the dorsal NVsnpr elicited repetitive depolarisations caused by summation of spontaneous

PSPs (inset) in the recorded motoneuron. C. Simultaneous recordings of an NVsnpr neuron and a motoneuron showing the occurrence of several PSPs in the motoneuron during an episode of firing and bursting during BAPTA application in the NVsnpr.

Calcium imaging of MNs

In calcium imaging experiments, local BAPTA application in the 4 regions of the NVsnpr (R1, R2, R3 and R4) elicited calcium responses in 27 MNs (12 of 25 mice) located mainly in the dorsal NVmt (n=21) with only 6 cells responding ventrally (see **Fig. 7**). Dorsal BAPTA applications in NVsnpr induced more calcium responses in NVmt (1.4/animal) than ventral applications (0.6/animal) (**Fig. 7D**) with the highest ratio obtained by R2 (1.8/animal). Although, no clear distribution pattern of the responding MNs in NVmt was observed across stimulation sites in NVsnpr, there is a well-defined distinction between R1 and R2 where no overlap of their respective innervated region was observed (**Fig. 7E**).

Single application of BAPTA in NVsnpr induced either single (n=10; 37%) or repetitive (n=17; 63%) calcium increases in 27 MNs (in 7 mice) at a mean latency of 13.9 ± 2.2 s. The responses elicited in 7 of the former were monophasic and transient (2 MNs; $66 \pm 16\%$ $\Delta F/F_0$ for 22.4 ± 9.0 s) or persistent (see **Fig. 7A**, middle 2nd trace) (5 MNs; $106 \pm 23\%$ $\Delta F/F_0$) while those observed in the 3 remaining MNs, were biphasic ($210 \pm 70\%$ $\Delta F/F_0$) and consisted of an initial transient rise followed by a sustained calcium elevation, which persist even after the BAPTA application (see **Fig. 7A**, middle top trace). Repeated calcium transients ($83 \pm 27\%$ $\Delta F/F_0$ for 2.9 ± 0.5 s, see bottom trace **Fig. 7A**, middle) occurring at a mean frequency of 0.44 ± 0.09 Hz in 17 out of 27 responsive MNs (63%) following BAPTA (middle trace **Fig. 7A**) and in 11 of these, long plateaus of 11.3 ± 2.9 s were observed.

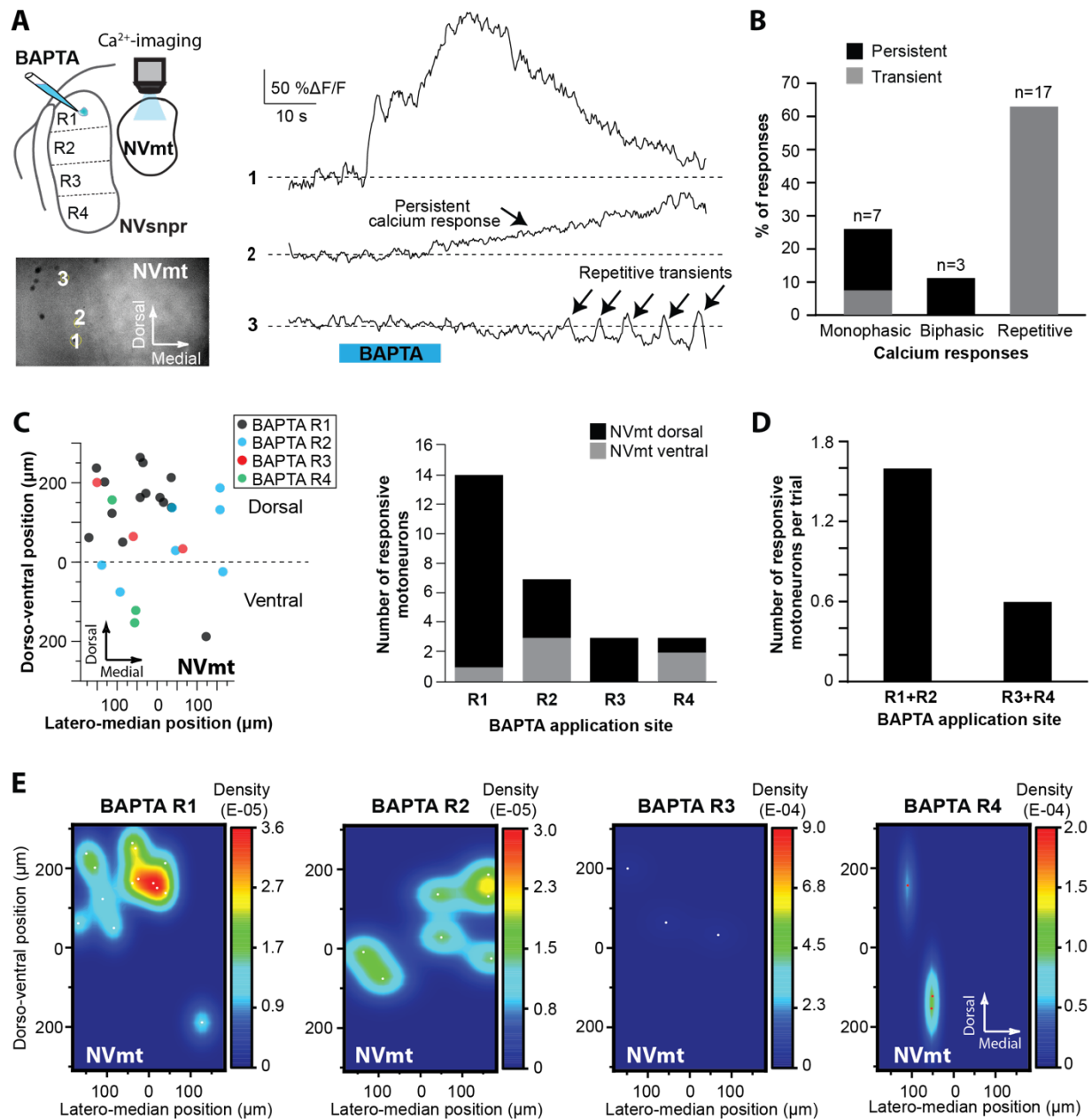


Figure 7. Local BAPTA application in NVsnpr induces single and rhythmic calcium responses in trigeminal MNs. **A. Left Top:** Schematic drawing of the brainstem slice preparation and the experimental condition used. **Left Bottom:** Photomicrograph showing the position of the responsive cells in the NVmt following BAPTA application in the dorsal NVsnpr. **Right:** Calcium responses of 3 motoneurons elicited by BAPTA application in the dorsal NVsnpr. **B:** Vertical bars chart reporting the number of responsive motoneurons according to the site of BAPTA application in the dorsal NVsnpr. **C:** Vertical bars chart reporting the number of responsive motoneurons per trial according to the site of BAPTA application in the dorsal NVsnpr. **D:** Vertical bars chart reporting the distribution of the type of calcium responses elicited in the motoneurons. **E:** Heatmaps illustrating the location of the responsive motoneurons within the NVmt according to the site of BAPTA application in the dorsal NVsnpr.

2.4 DISCUSSION

The present results provide new evidence of functional connectivity between the NVmt and the NVsnpr, thought to form the rhythmogenic core of the masticatory CPG (Athanassiadis, Olsson et al. 2005, Athanassiadis, Westberg et al. 2005, Brocard, Verdier et al. 2006, Kolta, Brocard et al. 2007, Kolta, Morquette et al. 2010, Morquette, Verdier et al. 2015). Our results indicate that neurons projecting to different parts of the NVmt are located in the dorsal $\frac{3}{4}$ region of NVsnpr (R1, R2 and R3). Electrical stimulation of the dorsal NVsnpr induced multiphasic excitatory synaptic responses in trigeminal MNs while BAPTA application induced a rhythmic activity, further emphasizing the functional relationship between these two nuclei in terms of rhythm transmission. Electrical stimulation of NVsnpr evoked calcium responses in MNs located mainly in the jaw-closing region in NVmt and revealed a specific pattern of connectivity between the two nuclei. The organization of the projections seemed to critically depend on the dorso-ventral location of the stimulation site within NVsnpr. The main tendency observed was in regard to the DL region of NVmt receiving inputs from the dorsal NVsnpr (R1 and R2), whereas the VM region of NVmt was found to receive inputs from R2 and R3 which accounts for the major part to the intermediate division of the NVsnpr. This study confirms and expands earlier findings (Li, Takada et al. 1995, Li, Takada et al. 1996b, Stanek, Cheng et al. 2014) by exploring the physiological nature and functional topography of the connectivity between NVsnpr and NVmt that was demonstrated in the past with neuroanatomical techniques.

2.4.1 Connectivity

2.4.1.1 Anatomical evidence

Our anatomical experiments suggest that NVsnpr neurons projecting to both the dorsal or ventral NVmt emanates mostly from the dorsal three quarter region (R1, R2 and R3) of NVsnpr. In both cases, the highest number and density of retrogradely labeled NVsnpr neurons were found constricted within the dorsal half (R1 and R2) with very few observed in R3. Moreover, injections of biocytin within NVsnpr resulted in labelled fibers originating exclusively from the dorsal region and terminating both in the DL and VM divisions of NVmt further supporting this connectivity evidence. This is consistent with previous anatomical studies demonstrating in both rats (Li, Takada et al. 1995, Li, Takada et al. 1996b) and mice (Stanek, Cheng et al. 2014) that the majority of NVsnpr projections to NVmt arises from neurons located in the dorsal division.

Although, labelled fibers originating from the ventral NVsnpr did not project to the NVmt, we observed multiple fibers terminating into PCRT, the region directly ventral to it. PCRT, a nucleus recently associated with hunger-driven mastication and feeding modulation (Nakamura and Nakamura 2018), is also known to form direct synaptic contact with both jaw-closing and jaw-opening MNs (Mogoseanu, Smith et al. 1993, Kolta, Westberg et al. 2000, McDavid, Lund et al. 2006, Yoshida, Taki et al. 2009). In the same region but closer to the ventral division of the NVsnpr is the group k nucleus formed by small neurons organized in a column (Mukerji, Brown et al. 2009). This nucleus contains the tensor tympani MNs and is believed to be responsible for the attenuation of sounds generated during the mastication process (Mukerji, Windsor et al. 2010). Furthermore, there is additional evidence showing in rabbit that masticatory muscles receive a direct innervation from the group k nucleus (Donga, Dubuc et al. 1992, Saad, Dubuc et al. 1997, Saad, Dubuc et al. 1999). However caution should be used in the interpretation of these results since retrograde labelling may partly result from the uptake by fibers of passage inside NVmt, and because of the small size of the VM division and its close proximity to the DL, the specific labelling of jaw-opening pre-MNs becomes even more challenging.

2.4.1.2 Electrophysiological evidence

In the present study, nearly half of the trigeminal MNs evoked short-latency EPSPs following electrical stimulation of the dorsal NVsnpr suggesting a monosynaptic connection with NVmt. Moreover, these synaptic responses were for the majority multiphasic in nature which might result from a convergence of monosynaptic glutamatergic inputs from multiple pre-MNs stimulated in NVsnpr or possibly from activation of polysynaptic pathways. Many anatomical studies demonstrated that the regions in the lateral reticular formation surrounding NVmt (peritrigeminal area (PeriV) and PCRt) is home of the largest population of trigeminal pre-MNs (Mizuno, Yasui et al. 1983, Landgren, Olsson et al. 1986, Chandler, Turman Jr et al. 1990, Stanek, Cheng et al. 2014). These regions are known to form a complex network of interconnected excitatory and inhibitory neurons that could shape the final masticatory motor output (Kolta 1997, Bourque and Kolta 2001). NVsnpr have been shown to share reciprocal connectivity with both PeriV and PCRt, further supporting the implication of polysynaptic pathways originating from NVsnpr (Shammah-Lagnado, Costa et al. 1992, Kolta 1997, Yoshida, Hiraga et al. 1998, Kolta, Westberg et al. 2000, Athanassiadis, Westberg et al. 2005). An alternative explanation of such response would be the convergence of multiple synaptic inputs received through the extensive dendritic arborization of trigeminal jaw-closing MNs known to extend beyond the boundaries of NVmt and even reaching inside the NVsnpr (Mong, Chen et al. 1988, Lingenhohl and Friauf 1991). This type of connectivity is not unusual for trigeminal MNs where it was demonstrated in earlier electron microscopic studies that axon terminals of most trigeminal pre-MNs surrounding the NVmt make synaptic contact more often with the dendrites than with the soma of MNs (Mizuno, Nomura et al. 1978, Mizuno, Yasui et al. 1983, Mogoseanu, Smith et al. 1993).

2.4.2 MNs respond to high frequency stimulation in NVsnpr

Stimulation of the dorsal NVsnpr at 40 Hz, a frequency close to the natural output of the sensory afferents during mastication (Trulsson and Johansson 2002), evoked intracellular calcium transients in MNs located mainly in the DL division of NVmt. The persistence of these responses beyond the stimulation trains is caused by the slow calcium dissociation kinetics of GCaMP

combined with the real slow decay of the intracellular calcium concentration (Yoshida, Iwamoto et al. 2001, Chen, Wardill et al. 2013). In some cases, a long lasting response was evoked in MNs following several electrical trains. In calcium imaging, this response was characterized by a slow and persistent rise of calcium which could probably represent a gradual and slow increase of the spike frequency while in whole-cell recordings the response represented a depolarization leading to an increasing spike discharge. This interpretation is based on evidence showing that GCaMP is mainly sensitive to spike discharge and not to smaller membrane potential changes (Grienberger and Konnerth 2012, Chen, Wardill et al. 2013, Badura, Sun et al. 2014, Helmchen and Tank 2015). The slope and duration of the rising phase of the recorded calcium transients would then correspond to the spike frequency and firing duration, respectively (Yoshida, Iwamoto et al. 2001). This comes from the fact that calcium transients from internal stores are not necessarily correlated with changes in membrane potential (Nakajima and Baker 2018). Moreover, an increase in frequency of spontaneous EPSPs was also induced indicating a possible synaptic facilitation effect caused by the high frequency stimulations.

2.4.3 Topography

Calcium imaging, used to investigate the specific organization of the projections from NVsnpr to the NVmt, revealed that the dorsal part of NVsnpr projects mostly to the DL division containing the jaw-closing MNs. Electrical stimulation of NVmt revealed that the dorsomedial part of NVsnpr, which coincides with the region known to innervate the masseter MNs, is the main region projecting to trigeminal MNs (Appenteng and Girdlestone 1987). Interestingly, this region is also known to arbor the majority of the neurons with intrinsic bursting properties (Athaniassiadis, Westberg et al. 2005). Previous retrograde HRP labelling studies performed in rats and mice revealed the myotopical arrangement of jaw-closing and jaw-opening MNs within NVmt : (1) those innervating the masseter muscle are located in the lateral part of the DL division; (2) those innervating the temporal muscle are located in the dorsomedial part of the DL division; (3) those innervating the medial and lateral pterygoid muscles are located in the most ventral part of the NVmt; and (4) those innervating the mylohyoid and the anterior belly of the digastric muscle are located in the VM division of NVmt (Chen, Wen et al. 1988, Terashima, Kishimoto et al. 1994, Setsu, Ikeda et al. 2001).

In our experiments, the masseter region was activated by the dorsal NVsnpr with R2 resulting in a larger activated region in the lateral part of NVmt. On the other hand, the temporal region was innervated most exclusively by R1 suggesting a smaller and a more distinct representation of the temporal pre-MNs within NVsnpr compared to those of the masseter which cover the whole dorsal region. Interestingly, the jaw-closing representations within NVmt are known to be proportional to the innervated muscle size (Maeda, Sugiyama et al. 1993, Watson, Provis et al. 2012) and this seems to be also preserved within the NVsnpr. Although most NVsnpr regions (R1, R2 and R3) evoked responses in the ventral NVmt, our results revealed a dorso-ventral tendency where the activation ratio in the ventral NVmt was increasing and the recruited regions were shifting ventrally through NVmt. R3 was the only region exhibiting an exclusive ventral innervation of NVmt and activated the highest density of MNs within VM which suggest that it might preferentially innervate the lateral and medial pterygoid and the jaw-opening MNs. These observations are in line with an anterograde study conducted on the rat reporting that trigeminal pre-MNs located in the dorsal NVsnpr make axon contact preferentially to jaw-closing MNs while those located in the intermediate part of NVsnpr make axon contact primarily to jaw-opening MNs (Li, Takada et al. 1995).

2.4.4 BAPTA induced rhythmic activity in NVsnpr

We showed in previous studies performed in rat that bursting could be elicited in NVsnpr neurons with local BAPTA application and that this rhythmic discharge is I_{NaP} -dependent as it can be abolished by pharmacological blockade of the current (Brocard, Verdier et al. 2006, Morquette, Verdier et al. 2015). Therefore, BAPTA could be used as a burst-inducing stimuli in NVsnpr to experiment rhythm transmission toward NVmt. However, despite being currently the most commonly used animal model for fundamental research, there is still no reports investigating this mechanism in mice. We successfully evoked bursting with BAPTA in 67% of the recorded NVsnpr neurons at a membrane potential (-60 ± 2 mV) within the activation range of I_{NaP} (between -65 mV and -50 mV) (Crill 1996). In most cases, a depolarization followed by spiking preceded the bursts which occurred at frequencies ranging from 0.4 to 0.9Hz.

The spatiotemporal activity pattern induced within the BAPTA application site in NVsnpr appeared as a circular wave with a sequential activation of NVsnpr neurons. Not only NVsnpr neurons responded at variable latencies, but also the patterns evoked were not always rhythmic as expected. Indeed, BAPTA evoked single Ca^{2+} events in 42% and repetitive calcium transients in 58% of neurons which correspond approximately to the proportion of bursting response at RMP (67%) obtained in whole-cell recordings. Thus, it might suggest that those who responded with only one transient could be too depolarized to activate I_{NaP} knowing that BAPTA caused a depolarization in 75% of the recorded NVsnpr. Recurrent transients occurred at frequencies comparable to the bursts recorded in patch-clamp but the peaks duration were longer in calcium imaging which could be due to the slow calcium decay phase of GCaMP6f (Chen, Wardill et al. 2013, Li, Geng et al. 2019). Earlier reports have demonstrated that neural rhythmic patterns are detectable with calcium imaging techniques and that their sensitivity highly depends on the decay kinetics of the calcium indicator (Yoshida, Iwamoto et al. 2001, Lin, Chen et al. 2007, Chen, Wardill et al. 2013). If the calcium decay phase is longer than the inter-burst interval a summation would occur and therefore, multiple bursts would be represented by a long lasting calcium transient. Thus, the long lasting singular transients evoked in NVsnpr neurons with BAPTA could perhaps underlie either one or multiple trains of action potentials while repetitive calcium transients would represent rhythmic bursting.

2.4.5 MNs respond to BAPTA-induced bursting in NVsnpr

BAPTA application in NVsnpr successfully induced rhythmic bursting in MNs at a membrane potential ($-58 \pm -2\text{mV}$) within the I_{NaP} activation range. Another rhythmic activity characterized by recurrent plateau potentials was evoked in MNs. It was shown in guinea pig that trigeminal motoneurons have bistable membrane properties mediated by I_{NaP} and L-type Ca^{2+} currents required for the production of such plateau potentials (Hsiao, Del Negro et al. 1998). In our study, these plateau potentials occurred at frequencies resembling those evoked in NVsnpr in patch-clamp and were, in 50% of the cases, overridden by action potentials. Therefore, we think that these recurrent depolarizations might in fact represent the bursts evoked in NVsnpr neurons with BAPTA.

In calcium imaging, BAPTA evoked rhythmic calcium transients occurring at similar frequencies than those obtained in NVsnpr neurons. Moreover, responding MNs upon BAPTA application were found mainly within the DL division of NVmt. These MNs responded mostly when BAPTA was applied within the dorsal NVsnpr. This result is consistent with our findings stipulating that the jaw-closing MNs receive most of their inputs from the dorsal NVsnpr were both the masseter and temporal pre-MNs are localized.

2.4.6 Conclusion

This study suggests that projections from NVsnpr to NVmt are organized topographically with the dorsolateral region of NVmt receiving inputs from the dorsal NVsnpr (R1 and R2), and the ventromedial region receiving mostly inputs from R2 and R3. From a functional perspective, NVsnpr neurons were also shown to have the capacity to drive rhythmic activity in trigeminal MNs, thus reinforcing their potential role in masticatory rhythmogenesis (Athaniassiadis, Olsson et al. 2005, Athaniassiadis, Westberg et al. 2005, Brocard, Verdier et al. 2006, Kolta, Brocard et al. 2007, Kolta, Morquette et al. 2010, Kadala, Verdier et al. 2015, Morquette, Verdier et al. 2015).

2.5 METHODS

All experiments were conducted according to the Canadian Institutes of Health Research guidelines and were approved by the Animal Care and Use Committee of Université de Montréal.

2.5.1 Brainstem slice preparations

Experiments were conducted on Thy1-GCaMP6f mice (P8-26) anesthetized with isoflurane (Pharmaceutical Partners of Canada Inc., Richmond Hill, Ontario, Canada) prior to decapitation. Weaned mice were housed in groups of 2 to 5 per cage under a standard 12h light/dark cycle with free access to water and chow. Their brain was quickly extracted from the cranium and immersed in an ice cold (4°C) sucrose-based solution saturated with 95% O₂ and 5% CO₂ containing (in mM) : 3 KCl, 1.25 KH₂PO₄, 4 MgSO₄, 26 NaHCO₃, 10 dextrose, 0.2 CaCl₂ and 219 sucrose, pH 7.3–7.4, 300–320 mosmol/kg.

Coronal sections (350-400 µm thick) were performed in the same medium with a vibratome (Leica, Model VT 100S). The slices containing both the trigeminal main sensory nucleus (NVsnpr) and the trigeminal motor nucleus (NVmt) were then transferred at room temperature to a continuously perfused holding chamber filled with an artificial cerebrospinal fluid (aCSF) bubbled with a mix of 95% O₂ and 5% CO₂ (composition in mM : 124 NaCl, 3 KCl, 1.25 KH₂PO₄, 1.3 MgSO₄, 26 NaHCO₃, 10 dextrose and 1.6 CaCl₂, pH 7.3–7.4, 290-300 mosmol/kg). Slices were allowed to recover for at least 1 hour when used to record from NVsnpr neurons otherwise, they were directly transferred to a recording chamber perfused with aCSF (1.5 ml/min) when used to record from MNs due their rapid deterioration. All the experiments were performed under an epifluorescence microscope (Olympus BX50WI) equipped with an optiMOSTM Scientific CMOS camera (QImaging) and an 10X-air objective for visualization and precise positioning of the pipettes in either the NVsnpr or the NVmt.

2.5.2 Electroporation and biocytin labelling

Slices (350 μ m) used for these experiments were acquired from Thy1-GCaMP6f mice aged between 14 and 26 days. Electrophoresis pipettes were pulled from borosilicate glass capillaries (1.5 mm outside diameter, 1.12 mm inside diameter; World Precision Instruments, Sarasota, FL) using the P-97 puller model (Sutter Instruments, Novato, CA) and back-loaded with a solution of biocytin (Sigma; 1.5% in 0.5M NaCl). A silver wire inserted inside the injection pipette was used to perform the electrophoresis. Positive pressure was applied prior to the descent to maintain the patency of the injection electrodes which were then guided on the surface of either the NVsnpr or the NVmt until a depression was formed. Biocytin was ejected from the pipette tip with positive rectangular pulses of current (1 μ A, 7s on, 7s off) for 15 min. After electrophoresis, slices were kept in the chamber to recover for 2h and then fixed for 24 hours in 4% paraformaldehyde. Biocytin was revealed with streptavidin-alexa 594 (Molecular Probes, no. S11227). Clearing was performed on the slices using the Clear^{T2} protocol (Kuwajima, Sitko et al. 2013) to increase the imaging depth and resolution. Imaging was performed under an Olympus FluoView FV 1000 confocal microscope equipped with a 4X air and 20X water-immersion objectives (Olympus). Acquired images were processed and analyzed offline with FIJI ImageJ (NIH) and Illustrator CS4.

2.5.3 Electrophysiology

Whole-cell experiments were performed with brainstem slices from Thy1-GCaMP6f mice aged between 8 and 26 days and were acquired at room temperature in a submerged recording chamber perfused with normal aCSF. Recordings of neurons from the NVsnpr and the NVmt were performed with microelectrodes pulled from borosilicate glass capillaries (1.5 mm outside diameter, 1.12 mm inside diameter; World Precision Instruments, Sarasota, FL) using the P-97 puller model (Sutter Instruments, Novato, CA). The microelectrodes had resistances of 5-10 M Ω and were filled with an internal solution containing (in mM) 140 potassium gluconate, 5 NaCl, 10 HEPES, 0.5 EGTA, 2 Tris ATP salt, 0.4 Tris GTP salt, pH 7.2-7.3, 280-300 mosmol/kg. Recordings were acquired in current-clamp mode using the pClamp10.3 software (Molecular Devices). Electrophysiological signals were amplified with the Axopatch 200B and

digitized with the Digidata 1322A (Axon Instruments, Downingtown, PA, USA) and later on analyzed offline with Clampfit10.3 (Molecular Devices). Input resistance was measured using current-clamp recordings of the voltage in response to hyperpolarizing steps. Neurons viability was constantly monitored throughout the experiments with a step current-voltage protocol and only the recordings from neurons with stable resting membrane potential (RMP) of at least -45 mV and overshooting action potentials were analyzed.

Synaptic responses were evoked in trigeminal MNs by electrical stimulation (single pulse) of the NVsnpr using tungsten bipolar electrodes controlled by an Isostim A320 stimulator (WPI, Sarasota, FL, USA). Stimulation parameters were adapted for each cell to attain optimal responses with the exception of pulse width that was kept at 0.2 ms to prevent any risk of direct stimulation of the recorded neuron. BAPTA (10 mM) was also applied locally in the dorsal NVsnpr to synaptically activate trigeminal MNs. As previously defined, we considered rhythmic bursting as a recurrent depolarization plateaus over-ridden by at least 3 action potentials occurring at high frequency and separated by silent periods (Morquette, Verdier et al. 2015). Based on the pattern and shape of both the plateau and their spikes, the bursts were classified in three different types (Ferraz-Pereira, da Silva Aragao et al. 2015). Plateau potentials occurring regularly were classified as regular bursts (RB) when the spikes occurring within them are regular and perceived throughout all their extent and as adaptative bursts (AB) when the intraburst spiking is subject to an adaptation which leads to the progressive disappearance of the spikes. Finally, long-lasting plateaus occurring irregularly and with irregular spiking defined by the existence of smaller spike over-ridden plateaus were classified as irregular bursts (IB).

2.5.4 Calcium imaging

Calcium imaging in slices of transgenic mice (P8-23) expressing GCaMP6f under the neuronal promoter *Thy1* was performed using an epifluorescence microscope (Olympus BX50WI) equipped with air (10X) and water-immersion (20X and 40X) objectives (Olympus) and an optiMOS™ Scientific CMOS camera (QImaging) controlled by the open source acquisition software Micro-Manager v1.4 (www.micro-manager.org). Acute brain slices were prepared and observed the same as for electrophysiology experiments. Excitation of GCaMP6f (470 nm) was

carried out with a mercury light source (Olympus U-HGLGPS) and emission was detected through a band pass filter (535 nm). Slices were under continuous light exposure during the recordings and images were acquired at frequencies of 5-7Hz with no interval delay between each frame. To assess the specific topographical connectivity, we recorded calcium response of trigeminal MNs responding to electrical or pharmacological (BAPTA at 10mM for 20s) stimulations delivered in NVsnpr at 4 different and equal regions in the dorsoventral orientation. Four electrical trains (900ms at 40Hz; every 10s) were delivered at the center of each locations using tungsten bipolar electrodes controlled by an Isostim A320 stimulator (WPI, Sarasota, FL, USA). A blue dye which can be seen in the acquired time-lapse images was added to the BAPTA solution as a control for any possible spread of the drug outside the desired region of application in the NVsnpr.

2.5.5 Drug application

BAPTA tetrasodium salt (5 mM; Invitrogen) was locally applied with a glass pipette using the pressure pulses ejection system (Picospritzer III; Parker, Mayfield Heights, OH, USA) to induce bursting in NVsnpr neurons. In some experiments, a cocktail of synaptic blockers (excitatory and inhibitory) was bath-applied with a Harvard 22 syringe pump at the following concentrations : 6-Cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX; 10 μ M; TOCRIS), D,L-2-amino-5-phosphonovaleric acid (APV; 26 μ M; Sigma), GABA_A Receptor Antagonist (Gabazine; 20 μ M; TOCRIS).

2.5.6 Imaging analysis

Time-lapse images obtained under either the 10X air lens (0.3 N.A.) or the 20X (0.5 N.A.) and 40X (0.80 N.A.) water-immersion objectives were processed and analyzed offline with FIJI ImageJ (NIH) and Excel (Microsoft). Photo-bleaching was compensated using the *Bleach Correction* plugin in FIJI. Changes in fluorescence intensity of responsive cells were determined by measuring for each frame the average pixel values of defined regions of interest (ROIs) traced over the cells bodies using the *freehand* selection tool in FIJI. The *dFoverFmovie* FIJI plugin was also used to help localizing lower calcium responses that may have been concealed by higher backgrounds fluorescence. An extracellular ROI was also traced near each responsive

neuron for background subtraction. Calcium responses were quantified for each cell as relative changes in fluorescence intensity (ΔF) from the baseline fluorescence and was calculated in % as $\Delta F/F_0 = (F_t - F_0)/F_0$ where F_t is the fluorescence at a time t and F_0 is the fluorescence intensity averaged over a baseline period of 1s before the start of the stimulations. Only the neurons with changes of at least 20% and which responded either at the same delay or in synchronization with the stimulations onset were considered as “responsive cells” and included in our analysis.

2.5.7 Mapping analysis

Images acquired at 20X and 40X with traced ROIs of the responsive cells were saved in ImageJ and transferred to Adobe Illustrator to be resized and aligned over the 10X image of the nucleus of interest. For uniformity purposes, all the resulting 10X images were rotated in ImageJ so that the nuclei are vertically orientated with their dorsal and ventral poles positioned respectively at the top and bottom of the image. To produce our heatmaps, x- and y-coordinates were attributed for each responsive cell and their position were displayed in a referential normalized nucleus. To do so, the Polygon tool combined with the Bounding Rectangle option were used to trace an ROI over each nucleus to measure the size of the smallest rectangle surrounding their boundaries as well as their referential point coordinates defined as x_{BR} and y_{BR} . The mean width and height of rectangles measured for all the experiments were used to normalize the size of each nucleus (NV_{snpr} and NV_{mt}). Afterwards, we traced new ROIs over all the previously identified cells to obtain their coordinates with the 10X referential. Referential translation was used to express these coordinates in the nucleus referential using the following formula :

$$(x_R, y_R) = (x_{10X} - x_{BR}, y_{10X} - y_{BR})$$

where (x_R, y_R) are the cells coordinates in the bounding rectangle referential; (x_{10X}, y_{10X}) are the cells coordinates in the 10X referential; and (x_{BR}, y_{BR}) are the coordinates of the bounding rectangle referential in the 10X image. These coordinates were then transferred in OriginPro 2019 (OriginLab) to create 2D Density plots and transform them into heatmaps using the Kernel Kensity estimation function.

2.5.8 Statistics

Mice of both genders were used for all experiments. Data are expressed as mean \pm standard error (SEM) throughout the text. In all the experimental results, “N” represents the number of animals used while “n” represents the number of neurons tested unless otherwise specified.

2.6 REFERENCES

- Appenteng, K. and D. Girdlestone (1987). "Transneuronal transport of wheat germ agglutinin-conjugated horseradish peroxidase into trigeminal interneurons of the rat." J Comp Neurol **258**(3): 387-396.
- Athanassiadis, T., K. A. Olsson, A. Kolta and K. G. Westberg (2005). "Identification of c-Fos immunoreactive brainstem neurons activated during fictive mastication in the rabbit." Exp Brain Res **165**(4): 478-489.
- Athanassiadis, T., K. G. Westberg, K. A. Olsson and A. Kolta (2005). "Physiological characterization, localization and synaptic inputs of bursting and nonbursting neurons in the trigeminal principal sensory nucleus of the rat." Eur J Neurosci **22**(12): 3099-3110.
- Badura, A., X. R. Sun, A. Giovannucci, L. A. Lynch and S. S. Wang (2014). "Fast calcium sensor proteins for monitoring neural activity." Neurophotonics **1**(2): 025008.
- Bourque, M. J. and A. Kolta (2001). "Properties and interconnections of trigeminal interneurons of the lateral pontine reticular formation in the rat." J Neurophysiol **86**(5): 2583-2596.
- Bremer, F. (1923). "Physiologie nerveuse de la mastication chez le chat et le lapin. Reponses masticatrices corticales et centre corticale du gout." Archives Internationales de Physiologie **21**: 308-352.
- Brocard, F., D. Verdier, I. Arsenault, J. P. Lund and A. Kolta (2006). "Emergence of intrinsic bursting in trigeminal sensory neurons parallels the acquisition of mastication in weanling rats." J Neurophysiol **96**(5): 2410-2424.
- Chandler, S. H., J. Turman Jr, L. Salem and L. J. Goldberg (1990). "The effects of nanoliter ejections of lidocaine into the pontomedullary reticular formation on cortically induced rhythmical jaw movements in the guinea pig." Brain research **526**: 54-64.
- Chen, K. N., C. Y. Wen, J. Y. Shieh and T. M. Tseng (1988). "The somatotopy of the masticatory neurons in the rat trigeminal motor nucleus as revealed by HRP study." Proc Natl Sci Councl Repub China B **12**(3): 146-155.
- Chen, T. W., T. J. Wardill, Y. Sun, S. R. Pulver, S. L. Renninger, A. Baohan, E. R. Schreiter, R. A. Kerr, M. B. Orger, V. Jayaraman, L. L. Looger, K. Svoboda and D. S. Kim (2013). "Ultrasensitive fluorescent proteins for imaging neuronal activity." Nature **499**(7458): 295-300.
- Crill, W. E. (1996). "Persistent sodium current in mammalian central neurons." Annu Rev Physiol **58**: 349-362.

Dellow, P. G. and J. P. Lund (1971). "Evidence for central timing of rhythmical mastication." J Physiol **215**(1): 1-13.

Donga, R., R. Dubuc, A. Kolta and J. P. Lund (1992). "Evidence that the masticatory muscles receive a direct innervation from cell group k in the rabbit." Neuroscience **49**(4): 951-961.

English, A. W., D. I. Carrasco and C. G. Widmer (1999). "Torques produced by different compartments of the rabbit masseter muscle." Journal of Applied Biomechanics **15**: 348-360.

Grienberger, C. and A. Konnerth (2012). "Imaging calcium in neurons." Neuron **73**(5): 862-885.

Helmchen, F. and D. W. Tank (2015). "A single-compartment model of calcium dynamics in nerve terminals and dendrites." Cold Spring Harb Protoc **2015**(2): 155-167.

Hsiao, C. F., C. A. Del Negro, P. R. Trueblood and S. H. Chandler (1998). "Ionic basis for serotonin-induced bistable membrane properties in guinea pig trigeminal motoneurons." J Neurophysiol **79**(6): 2847-2856.

Jacquín, M. F., R. W. Rhoades, H. L. Enfiejian and M. D. Egger (1983). "Organization and morphology of masticatory neurons in the rat: a retrograde HRP study." J Comp Neurol **218**(3): 239-256.

Kadala, A., D. Verdier, P. Morquette and A. Kolta (2015). "Ion Homeostasis in Rhythmogenesis: The Interplay Between Neurons and Astroglia." Physiology (Bethesda) **30**(5): 371-388.

Kogo, M., G. D. Funk and S. H. Chandler (1996). "Rhythmical oral-motor activity recorded in an in vitro brainstem preparation." Somatosens Mot Res **13**(1): 39-48.

Kolta, A. (1997). "In vitro investigation of synaptic relations between interneurons surrounding the trigeminal motor nucleus and masseteric motoneurons." J Neurophysiol **78**(3): 1720-1725.

Kolta, A., F. Brocard, D. Verdier and J. P. Lund (2007). "A review of burst generation by trigeminal main sensory neurons." Arch Oral Biol **52**(4): 325-328.

Kolta, A., P. Morquette, R. Lavoie, I. Arsenault and D. Verdier (2010). "Modulation of rhythmogenic properties of trigeminal neurons contributing to the masticatory CPG." Prog Brain Res **187**: 137-148.

Kolta, A., K. G. Westberg and J. P. Lund (2000). "Identification of brainstem interneurons projecting to the trigeminal motor nucleus and adjacent structures in the rabbit." J Chem Neuroanat **19**(3): 175-195.

Landgren, S., K. A. Olsson and K. G. Westberg (1986). "Bulbar neurones with axonal projections to the trigeminal motor nucleus in the cat." Exp Brain Res **65**(1): 98-111.

Li, P., X. Geng, H. Jiang, A. Caccavano, S. Vicini and J. Y. Wu (2019). "Measuring Sharp Waves and Oscillatory Population Activity With the Genetically Encoded Calcium Indicator GCaMP6f." Front Cell Neurosci **13**: 274.

Li, Y. Q., M. Takada, T. Kaneko and N. Mizuno (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**(4): 563-579.

Li, Y. Q., M. Takada, T. Kaneko and N. Mizuno (1996). "GABAergic and glycinergic neurons projecting to the trigeminal motor nucleus: a double labeling study in the rat." J Comp Neurol **373**(4): 498-510.

Li, Y. Q., M. Takada and N. Mizuno (1993). "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 **611**(1): 160-164.

Limwongse, V. and M. DeSantis (1977). "Cell body locations and axonal pathways of neurons innervating muscles of mastication in the rat." Am J Anat **149**(4): 477-488.

Lin, B. J., T. W. Chen and D. Schild (2007). "Cell type-specific relationships between spiking and $[Ca^{2+}]_i$ in neurons of the *Xenopus* tadpole olfactory bulb." J Physiol **582**(Pt 1): 163-175.

Lingenhohl, K. and E. Friauf (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**(2): 385-396.

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**(1-2): 354-358.

Maeda, N., H. Sugiyama, S. Suemune, H. Wakisaka, S. Niida, K. Ogata and K. Miyata (1993). "Sexual dimorphism in the trigeminal motor neurons innervating the mouse masseter muscle." Brain Res **627**(1): 177-180.

McDavid, S., J. P. Lund, F. Auclair and A. Kolta (2006). "Morphological and immunohistochemical characterization of interneurons within the rat trigeminal motor nucleus." Neuroscience **139**(3): 1049-1059.

Mizuno, N., A. Konishi and M. Sato (1975). "Localization of masticatory motoneurons in the cat and rat by means of retrograde axonal transport of horseradish peroxidase." J Comp Neurol **164**(1): 105-115.

Mizuno, N., S. Nomura, K. Itoh, Y. Nakamura and A. Konishi (1978). "Commissural interneurons for masticatory motoneurons: a light and electron microscope study using the horseradish peroxidase tracer technique." Exp Neurol **59**(2): 254-262.

Mizuno, N., Y. Yasui, S. Nomura, K. Itoh, A. Konishi, M. Takada and M. Kudo (1983). "A light and electron microscopic study of premotor neurons for the trigeminal motor nucleus." J Comp Neurol **215**(3): 290-298.

Mogoseanu, D., A. D. Smith and J. P. Bolam (1993). "Monosynaptic innervation of trigeminal motor neurones involved in mastication by neurones of the parvicellular reticular formation." J Comp Neurol **336**(1): 53-65.

Mong, F. S., Y. C. Chen and C. H. Lu (1988). "Dendritic ramifications of trigeminal motor neurons innervating jaw-closing muscles of rats." J Neurol Sci **86**(2-3): 251-264.

Morquette, P., D. Verdier, A. Kadala, J. Fethiere, A. G. Philippe, R. Robitaille and A. Kolta (2015). "An astrocyte-dependent mechanism for neuronal rhythmogenesis." Nat Neurosci **18**(6): 844-854.

Mukerji, S., M. C. Brown and D. J. Lee (2009). "A morphologic study of Fluorogold labeled tensor tympani motoneurons in mice." Brain Res **1278**: 59-65.

Mukerji, S., A. M. Windsor and D. J. Lee (2010). "Auditory brainstem circuits that mediate the middle ear muscle reflex." Trends Amplif **14**(3): 170-191.

Nakajima, R. and B. J. Baker (2018). "Mapping of excitatory and inhibitory postsynaptic potentials of neuronal populations in hippocampal slices using the GEVI, ArcLight." J Phys D Appl Phys **51**(50).

Nakamura, K. and Y. Nakamura (2018). "Hunger and Satiety Signaling: Modeling Two Hypothalamomedullary Pathways for Energy Homeostasis." Bioessays **40**(8): e1700252.

Nakamura, Y., N. Katakura and M. Nakajima (1999). "Generation of rhythmical ingestive activities of the trigeminal, facial, and hypoglossal motoneurons in in vitro CNS preparations isolated from rats and mice." J Med Dent Sci **46**(2): 63-73.

Rokx, J. T. and J. D. van Willigen (1985). "Arrangement of supramandibular and suprahyoid motoneurons in the rat; a fluorescent tracer study." Acta Anat (Basel) **122**(3): 158-162.

Saad, M., R. Dubuc, K. G. Westberg and J. P. Lund (1999). "Distribution of cholinergic neurons in cell group K of the rabbit brainstem." Neuroscience **88**(3): 927-937.

Saad, M., R. Dubuc, C. G. Widmer, K. G. Westberg and J. P. Lund (1997). "Anatomical organization of efferent neurons innervating various regions of the rabbit masseter muscle." J Comp Neurol **383**(4): 428-438.

Sasamoto, K. (1979). "Motor nuclear representation of masticatory muscles in the rat." Jpn J Physiol **29**(6): 739-747.

Setsu, T., Y. Ikeda, P. L. Woodhams and T. Terashima (2001). "Branchiogenic motoneurons innervating facial, masticatory, and esophageal muscles show aberrant distribution in the reeler-phenotype mutant rat, Shaking Rat Kawasaki." J Comp Neurol **439**(3): 275-290.

Shammah-Lagnado, S. J., M. S. Costa and J. A. Ricardo (1992). "Afferent connections of the parvocellular reticular formation: a horseradish peroxidase study in the rat." Neuroscience **50**(2): 403-425.

Shigenaga, Y., I. C. Chen, S. Suemune, T. Nishimori, I. D. Nasution, A. Yoshida, H. Sato, T. Okamoto, M. Sera and M. Hosoi (1986). "Oral and facial representation within the medullary and upper cervical dorsal horns in the cat." J Comp Neurol **243**: 388-408.

Shigenaga, Y., T. Okamoto, T. Nishimori, S. Suemune, I. D. Nasution, I. C. Chen, K. Tsuru, A. Yoshida, K. Tabuchi, M. Hosoi and et al. (1986). "Oral and facial representation in the trigeminal principal and rostral spinal nuclei of the cat." J Comp Neurol **244**(1): 1-18.

Shigenaga, Y., M. Sera, T. Nishimori, S. Suemune, M. Nishimura, A. Yoshida and K. Tsuru (1988). "The central projection of masticatory afferent fibers to the trigeminal sensory nuclear complex and upper cervical spinal cord." J Comp Neurol **268**(4): 489-507.

Stanek, E. t., S. Cheng, J. Takatoh, B. X. Han and F. Wang (2014). "Monosynaptic premotor circuit tracing reveals neural substrates for oro-motor coordination." Elife **3**: e02511.

Tanaka, S., M. Kogo, S. H. Chandler and T. Matsuya (1999). "Localization of oral-motor rhythmogenic circuits in the isolated rat brainstem preparation." Brain Res **821**(1): 190-199.

Terashima, T., Y. Kishimoto and T. Ochiishi (1994). "Musculotopic organization in the motor trigeminal nucleus of the reeler mutant mouse." Brain Res **666**(1): 31-42.

Trulsson, M. and R. S. Johansson (2002). "Orofacial mechanoreceptors in humans: encoding characteristics and responses during natural orofacial behaviors." Behav Brain Res **135**(1-2): 27-33.

Tsuboi, A., A. Kolta, C. C. Chen and J. P. Lund (2003). "Neurons of the trigeminal main sensory nucleus participate in the generation of rhythmic motor patterns." Eur J Neurosci **17**(2): 229-238.

Viggiano, A., R. Manara, R. Conforti, A. Paccone, C. Secondulfo, L. Lorusso, L. Sbordone, F. Di Salle, M. Monda, G. Tedeschi and F. Esposito (2015). "Mastication induces long-term increases in blood perfusion of the trigeminal principal nucleus." Neuroscience **311**: 75-80.

Watson, C., J. Provis and S. Herculano-Houzel (2012). "What determines motor neuron number? Slow scaling of facial motor neuron numbers with body mass in marsupials and primates." Anat Rec (Hoboken) **295**(10): 1683-1691.

Widmer, C. G., D. I. Carrasco and A. W. English (2003). "Differential activation of neuromuscular compartments in the rabbit masseter muscle during different oral behaviors." Exp Brain Res **150**(3): 297-307.

Widmer, C. G. and J. Morris-Wiman (2010). "Limb, respiratory, and masticatory muscle compartmentalization: developmental and hormonal considerations." Prog Brain Res **187**: 63-80.

Yasui, Y., K. Itoh, A. Mitani, M. Takada and N. Mizuno (1985). "Cerebral cortical projections to the reticular regions around the trigeminal motor nucleus in the cat." J Comp Neurol **241**(3): 348-356.

Yoshida, A., T. Hiraga, M. Moritani, K. Chen, Y. Takatsuki, Y. Hirose, Y. C. Bae and Y. Shigenaga (1998). "Morphologic characteristics of physiologically defined neurons in the cat trigeminal nucleus principalis." J Comp Neurol **401**(3): 308-328.

Yoshida, A., I. Taki, Z. Chang, C. Iida, T. Haque, A. Tomita, S. Seki, S. Yamamoto, Y. Masuda, M. Moritani and Y. Shigenaga (2009). "Corticofugal projections to trigeminal motoneurons innervating antagonistic jaw muscles in rats as demonstrated by anterograde and retrograde tract tracing." J Comp Neurol **514**(4): 368-386.

Yoshida, R., A. Iwamoto and T. Nagahama (2001). Calcium Imaging for Detection and Estimation of Spike Activities in Aplysia Neurons, BIOONE.

CHAPITRE 3

3. Discussion

Les travaux de cette étude mènent à de nouvelles connaissances concernant le contrôle nerveux de la mastication en décrivant la connectivité fonctionnelle entre le NVmt et le NVsnpr, un noyau dont l'implication dans la genèse du rythme masticatoire fut largement démontrée (Athaniassiadis, Olsson et al. 2005, Athaniassiadis, Westberg et al. 2005, Brocard, Verdier et al. 2006, Kolta, Brocard et al. 2007, Kolta, Morquette et al. 2010, Kadala, Verdier et al. 2015, Morquette, Verdier et al. 2015). Nos résultats démontrent une organisation des projections directes des neurones du NVsnpr dorsal vers le NVmt ainsi que la capacité de ces pré-MNs à entraîner synaptiquement une décharge rythmique dans les MNs trigéminaux.

3.1 Le NVsnpr innerve directement les MNs trigéminaux

Nos expériences de marquage antérograde et rétrograde à la biocytine ont révélé la présence de pré-MNs trigéminaux dans le $\frac{3}{4}$ dorsal du NVsnpr (R1, R2 et R3) avec la plus grande population et densité dans le NVsnpr dorsal. Ceci corrobore les études anatomiques précédentes démontrant chez le rat (Li, Takada et al. 1995, Li, Takada et al. 1996a) et chez la souris (Stanek, Cheng et al. 2014) que la majorité des projections du NVsnpr vers le NVmt proviennent des neurones situés dans le $\frac{2}{3}$ dorsal du NVsnpr.

L'utilisation de la biocytine pour le marquage antérograde et rétrograde des pré-MNs et de leur projection axonale n'est pas sans limitations notamment à cause de l'absorption via des fibres en passant. Ainsi, cela peut mener à un marquage non spécifique des neurones du NVsnpr projetant aux régions de la FRL entourant le NVmt dont l'axone passerait à travers le NVmt avant de faire synapse dans la région cible. Une étude morphologique des différents types de neurones retrouvés dans le NVsnpr démontra que les pré-MNs de fermeture envoient leur axone vers le NVmt préférentiellement selon une orientation rostromédiale et que ces axones, une fois arrivés dans le noyau, se diviseraient en multiples collatérales innervant une vaste région dans le NVmt DL (Yoshida, Hiraga et al. 1998). Dans leur étude, certains pré-MNs localisés dans le

NVsnpr dorsal et intermédiaire projetaient leur axone dorsomédialement en passant par la SupV avant de pénétrer dans la division DL du NVmt. De ce fait, la distribution des pré-MNs rétro-marqués à la biocytine dans le NVsnpr dépendrait grandement du point d'entrée des projections axonales dans le NVmt ainsi que de leurs trajectoires à l'intérieur même du noyau. Malgré ces limites expérimentales, nous avons été en mesure de répliquer ces résultats par l'utilisation d'une approche plus physiologique soit l'imagerie calcique. De manière générale, ces deux techniques ont permis de démontrer chez la souris qu'à l'exception du quart ventral (R4), le NVsnpr innerve directement les MNs trigéminaux.

Les neurones de la PCRt sont connus pour former des contacts synaptiques directs avec les MNs de fermeture et d'ouverture (Mogoseanu, Smith et al. 1993, Kolta, Westberg et al. 2000, McDavid, Lund et al. 2006, Yoshida, Taki et al. 2009) et cette région a récemment été associée à la modulation de la mastication lors des sensations de faim (Nakamura and Nakamura 2018). Dès lors, bien que la région la plus ventrale du NVsnpr ne projette pas directement au NVmt, cette dernière pourrait bien agir sur les MNs indirectement par une voie polysynaptique étant donné le marquage de fibres projetant dans la région directement ventrale au NVmt contenant la PCRt. En considérant l'inter-connectivité et les propriétés du réseau neuronal entourant le NVmt (Kolta 1997, Bourque and Kolta 2001), un input provenant de R4 pourrait bien être rapidement distribué via la PCRt à tous les pré-MNs de la FRL entourant le NVmt d'autant plus que ce type de distribution fut déjà démontré dans de nombreuses études électrophysiologiques dans le cas des inputs corticaux en provenance de l'ACM (Olsson, Landgren et al. 1986, Donga and Lund 1991, Westberg, Clavelou et al. 1998, Bourque and Kolta 2001, Westberg, Scott et al. 2001). Situé dans la même région, mais un peu plus latéral, se trouve le groupe k qui pourrait être une autre cible potentielle de R4. Ce dernier est formé de petits neurones organisés en colonne qui innervent le muscle tenseur du tympan responsable de l'atténuation des sons générés lors des mouvements masticatoires (Mukerji, Brown et al. 2009, Mukerji, Windsor et al. 2010). Mais encore, d'autres études réalisées chez le lapin ont démontré la présence d'une innervation directe des muscles masticatoires par le groupe k impliquant ainsi la possibilité de la présence de pré-MNs trigéminaux dans R4 (Donga, Dubuc et al. 1992, Saad, Dubuc et al. 1997, Saad, Dubuc et al. 1999).

Dans la présente étude, la stimulation électrique du NVsnpr dorsal a évoqué des PPSEs à courte latence dans près de la moitié des MNs trigéminaux suggérant une connexion monosynaptique avec le NVmt et représenterait par le fait même la première évidence électrophysiologique de connectivité chez la souris. De plus, ces réponses synaptiques étaient pour la plupart de nature multiphasique, ce qui pourrait résulter d'une convergence des inputs monosynaptiques glutamatergiques provenant de plusieurs pré-MNs stimulés dans le NVsnpr ou possiblement par l'activation de voies polysynaptiques. De nombreuses études anatomiques ont démontré que les régions de la FRL entourant la NVmt (aire péritrigeminale (PeriV) et PCRt) hébergent la plus grande population de pré-MNs trigéminaux (Mizuno, Yasui et al. 1983, Landgren, Olsson et al. 1986, Chandler, Turman Jr et al. 1990, Stanek, Cheng et al. 2014). Ces régions forment un réseau complexe de neurones excitateurs et inhibiteurs interconnectés qui pourraient façonner l'output moteur masticatoire final (Kolta 1997, Bourque and Kolta 2001). De plus, il a été démontré que le NVsnpr partage une connectivité réciproque avec PeriV et PCRt, renforçant ainsi l'implication des voies polysynaptiques provenant de NVsnpr (Shammah-Lagnado, Costa et al. 1992, Kolta 1997, Yoshida, Hiraga et al. 1998, Kolta, Westberg et al. 2000, Athanassiadis, Westberg et al. 2005). Une autre explication de cette réponse serait la convergence de plusieurs inputs synaptiques reçus par le biais de la vaste arborisation dendritique des MNs de fermeture connus pour s'étendre au-delà des limites du NVmt et même atteindre l'intérieur du NVsnpr (Mong, Chen et al. 1988, Lingenhohl and Friauf 1991). Ce type de connectivité n'est pas inhabituel pour les MNs trigéminaux car des études antérieures au microscope électronique ont démontré que les terminaisons axonales de la plupart des pré-MNs situés autour du NVmt établissent un contact synaptique plus souvent avec les dendrites (distaux et intermédiaires) qu'avec le corps cellulaire des MNs (Mizuno, Nomura et al. 1978, Mizuno, Yasui et al. 1983, Mogoseanu, Smith et al. 1993). Ces bouffées de PPSEs ont été rapportées dans plusieurs études électrophysiologiques effectuées chez le rat (Grimwood, Appenteng et al. 1992, Curtis and Appenteng 1993). L'étude de Curtis et al. (1993) proposa que cette nature multiphasique serait causée par la propriété des pré-MNs trigéminaux à (1) innover plus d'un MN et (2) à envoyer plusieurs boutons synaptiques à différents niveaux de l'arbre dendritique d'un même MN.

3.2 Réponses des MNs à la stimulation à haute fréquence du NVsnpr

La stimulation du NVsnpr dorsal à 40 Hz, une fréquence proche de l'output naturel des afférences sensorielles lors de la mastication (Trulsson et Johansson 2002), induisait en plus des réponses synaptiques excitatrices, une augmentation des PPSEs spontanés suivi dans certains cas d'une dépolarisation menant à une décharge dans les MNs. Des réponses similaires ont déjà été observées dans les MNs trigéminaux lors d'une facilitation synaptique induit par différents neuromodulateurs (Katakura and Chandler 1990, Kurasawa, Toda et al. 1990, Trueblood, Levine et al. 1996). En effet, le NVmt reçoit des inputs de type modulateur (nitroergiques, noradrénergiques, sérotoninergique, etc.) de différentes régions pontiques qui sont présentes dans les niveaux de tranches utilisés dans nos expériences (Fort, Luppi et al. 1990, Abudara, Alvarez et al. 2002, Travers, Yoo et al. 2005). Le NVsnpr possède dans sa région dorsale des neurones nitroergiques (Rodrigo, Springall et al. 1994) qui pourraient avoir causé la facilitation synaptique observée dans la présente étude. Effectivement, il a été démontré que le NVmt est sous l'influence d'un système nitroergique (Abudara, Alvarez et al. 2002) dont le rôle serait de moduler l'ordre de recrutement des MNs de fermeture (Okamoto, Emura et al. 2016).

L'activité des MNs trigéminaux est aussi sous le contrôle monoaminergique de plusieurs régions pontiques permettant la facilitation de l'activation du muscle du masséter durant la mastication. Le NVmt reçoit des inputs noradrénergiques directement du locus coeruleus (Fort, Luppi et al. 1990), un noyau connu pour sa connectivité réciproque avec le NVsnpr (Couto, Moroni et al. 2006). La noradrénaline amplifierait l'effet excitateur de la neurotransmission glutamatergique endogène directement via des récepteurs $\alpha 1$ ou indirectement par la facilitation de courants persistants (Schwarz, Yee et al. 2008, Heckman, Mottram et al. 2009, Burgess and Peever 2013). L'activation des récepteurs $\alpha 1$ a pour effet de potentialiser la concentration de calcium cytosolique par l'entrée du Ca^{2+} extracellulaire et/ou par la relâche du Ca^{2+} des réserves internes (Milanick, Polo-Parada et al. 2019). Effectivement, dans nos expériences d'imagerie calcique, certains MNs évoquent des réponses calciques tardives caractérisées par une augmentation lente et persistante du calcium suite à plusieurs trains de 40Hz dans le NVsnpr. Toutefois, étant

donné que GCaMP est principalement sensible à la décharge de potentiels d'action et non aux petites variations du potentiel membranaire (Grienberger and Konnerth 2012, Chen, Wardill et al. 2013, Badura, Sun et al. 2014, Helmchen and Tank 2015), il est tout à fait possible que ces réponses calciques tardives représenteraient aussi une augmentation progressive et lente de la fréquence de décharge du MN.

3.3 Topographie

Il fut démontré chez le rat que la division DL comportant les MNs innervant les muscles de fermeture reçoit des terminaisons axonales principalement du NVsnpr dorsal alors que ceux de la division VM comportant les MNs d'ouverture recevraient des inputs surtout de la région intermédiaire du NVsnpr (R2 et R3) (Li, Takada et al. 1995). Les résultats obtenus dans cette étude concordent avec ceux de la littérature et ajoutent une implication plus importante et plus exclusive de R3 au niveau de l'innervation des MNs d'ouverture. En stimulant électriquement l'ensemble du NVmt, nous avons observé des réponses calciques majoritairement dans le NVsnpr dorsal avec la plus grande densité de neurones activés retrouvés dans la section dorso-médiale. Il est intéressant de constater que cette région coïncide aussi avec celle comportant la majeure partie des neurones innervant les MNs du masséter (Appenteng and Girdlestone 1987), mais aussi avec la région du NVsnpr comportant la majorité des neurones ayant des propriétés rythmogéniques intrinsèques (Athanasias, Westberg et al. 2005). Chez le rat et la souris, les muscles masséter, temporal et ptérygoïde (médial et latéral) sont innervés respectivement par les MNs localisés dans la partie latérale, dorso-médiale et ventrale du NVmt. Pour ce qui est des muscles d'ouverture (digastrique antérieur et mylo-hyoïdien), ces derniers seraient innervés par les MNs localisés dans la division VM du NVmt (Chen, Wen et al. 1988, Terashima, Kishimoto et al. 1994, Setsu, Ikeda et al. 2001). Nos résultats suggèrent que les pré-MNs temporaux seraient localisés dans la région R1 alors que ceux du masséter occuperaient l'ensemble du NVsnpr dorsal (R1 et R2) possiblement dans la partie médiale comme suggéré par la littérature (Appenteng and Girdlestone 1987) et par la distribution des pré-MNs activés antidromiquement dans le NVsnpr obtenus en imagerie calcique. La région R3 étant la seule dont l'innervation se montrait exclusive à la région ventrale du NVmt, pourrait contenir principalement les pré-MNs

du ptérygoïde et des muscles d'ouverture. De manière générale, nos résultats révèlent une tendance dorso-ventrale des projections du NVsnpr vers le NVmt.

Néanmoins, plusieurs limites liées à l'utilisation de l'approche d'imagerie Ca^{2+} sur des tranches de cerveau amèneraient un doute en ce qui concerne la spécificité de nos résultats de topographie. Effectivement, en plus de sa faible résolution temporelle empêchant la distinction entre les réponses mono- et polysynaptiques (Anderson, Zheng et al. 2018), l'imagerie Ca^{2+} ne permettrait pas la détection des neurones ayant des potentiels d'action de courte durée et dont l'axone serait à conduction rapide (Smith-Edwards, DeBerry et al. 2016). L'utilisation exclusive de tranches coronales dans nos expériences représenterait la principale limite expérimentale de notre étude étant donné la présence d'une orientation rostro-caudale des prolongements nerveux des pré-MNs (axone) et MNs (dendrites) trigéminaux. En effet, en plus de l'orientation rostromédiale des projections axonales des pré-MNs localisés dans le NVsnpr (Yoshida, Hiraga et al. 1998), les MNs de fermeture envoient aussi leurs prolongements dendritiques rostrolatéralement dans le NVsnpr (Mong, Chen et al. 1988, Lingenhohl and Friauf 1991). Dès lors, une sous-estimation des projections directes entre NVsnpr et NVmt serait aussi envisageable dans le cas des MNs innervés directement par NVsnpr, mais dont le corps cellulaire serait localisé en dehors des limites rostrocaudales de la tranche.

En plus des limites précédemment discutées, la variation de la position et taille de VM par rapport à DL sur l'axe rostro-caudal rend plus difficile la localisation précise des pré-MNs d'ouverture dans le NVsnpr. De plus, cette région ne s'étale que sur le 2/3 caudal du NVmt impliquant donc une sous-estimation des réponses lorsque le niveau de la tranche est très rostral. Afin de contourner cette problématique, il aurait été préférable de faire un marquage rétrograde préalable des MNs d'ouverture dans le but d'identifier plus précisément la région VM et d'assurer sa présence dans nos tranches lors de nos expériences. Bien que l'existence de pré-MNs d'ouverture dans le NVsnpr fut démontrée, il ne s'agit pas du seul noyau à en contenir. En effet, plusieurs études démontrent la présence de pré-MNs d'ouverture à un niveau plus caudal soit dans le NVspo (Mizuno, Yasui et al. 1983, Westberg and Olsson 1991, Li, Takada et al. 1995, Cairns, Sessle et al. 2001). Une étude proposa que les pré-MNs excitateurs pour les MNs d'ouverture ainsi que les pré-MNs inhibiteurs pour les MNs de fermeture seraient en fait

localisés principalement dans la médulla (Katoh, Taira et al. 1982). Une autre étude démontra que la majorité des réponses antidromiques enregistrées dans les neurones du NVsnpr proviendraient de la stimulation du pool de MNs du masséter alors qu'aucune ne serait évoquée par la stimulation du pool de MNs du digastrique (Athanassiadis, Westberg et al. 2005). Ces données pourraient bien expliquer le faible nombre de réponses obtenues dans la division VM suite aux stimulations électriques dans NVsnpr.

3.4 Induction d'activité rythmique dans le NVsnpr avec BAPTA

Nous avons démontré dans des études antérieures effectuées chez le rat qu'une décharge rythmique pouvait être provoquée dans les neurones du NVsnpr avec des applications locales de BAPTA et que cette dernière dépendait d' I_{NaP} , étant donné qu'elle peut être abolie par un blocage pharmacologique du courant (Brocard, Verdier et al. 2006, Morquette, Verdier et al. 2015). Par conséquent, le BAPTA fut utilisé dans notre étude pour induire de l'activité rythmique dans les neurones du NVsnpr et étudier sa transmission vers le NVmt. Bien qu'il soit actuellement le modèle animal le plus couramment utilisé dans la recherche fondamentale, il n'existe encore aucune étude sur ce mécanisme chez la souris. Dans le présent mémoire, nous avons évoqué des bouffées rythmiques dans les neurones du NVsnpr avec des applications locales de BAPTA et ce à un potentiel membranaire situé à l'intérieur de la plage optimale d'activation d' I_{NaP} (entre -65 et -50mV) (Crill 1996). Contrairement à ce qui était attendu, le BAPTA n'évoquait pas toujours des décharges rythmiques dans les neurones du NVsnpr lorsque testé au potentiel membranaire de repos. De plus, le BAPTA induisait aussi des réponses non récurrentes et de plus longues durées dans les neurones du NVsnpr (dépolariation et décharge à haute fréquence). Ceci concorde avec les réponses (rythmiques ou persistantes) obtenues dans le NVsnpr en imagerie avec les réponses Ca^{2+} rythmiques ayant été observées à des proportions similaires à celles obtenues en courant-imposé soit dans environ 60% des cas. Des études antérieures ont démontré que les patrons rythmiques neuronaux sont détectables avec les techniques d'imagerie Ca^{2+} et que leur sensibilité dépendrait fortement de la cinétique de l'indicateur calcique (Yoshida, Iwamoto et al. 2001, Lin, Chen et al. 2007, Chen, Wardill et al. 2013). Si la phase d'inactivation du calcium est plus longue que l'intervalle entre les bouffées rythmiques, une sommation spatio-temporelle se produirait et, par conséquent, de multiples

bouffées s'illustreraient par une réponse calcique transitoire de longue durée. Ainsi, les élévations calciques persistantes évoquées dans les neurones avec le BAPTA pourraient probablement représenter une décharge persistante ou plusieurs bouffées évoquées à haute fréquence, tandis que les réponses Ca^{2+} récurrentes représenteraient plutôt une décharge de bouffées rythmiques de plus basses fréquences.

3.5 Réponses des MNs à l'application de BAPTA dans le NVsnpr

L'application de BAPTA dans le NVsnpr a induit dans les MNs les mêmes types de réponses que celles qui avaient été obtenues dans le NVsnpr ce qui vient soutenir la présence d'un mécanisme de transmission des patrons d'activités du NVsnpr vers le NVmt. La principale réponse évoquée dans les MNs constituait une dépolarisation aboutissant à une décharge tonique. Une fois sur trois, ces décharges se transformaient en bouffées rythmiques, et ce à un potentiel membranaire situé à l'intérieur de la plage d'activation d' I_{NaP} (Crill 1996). Des réponses calciques rythmiques ont aussi été évoquées dans les MNs à des fréquences comparables à celles obtenues dans les neurones du NVsnpr (en courant-imposé et imagerie Ca^{2+}). La durée de ces réponses Ca^{2+} était toutefois bien plus longue que celle des bouffées enregistrées en courant-imposé, et ce principalement à cause de la lente cinétique d'inactivation du calcium de GCaMP6f (Chen, Wardill et al. 2013, Li, Geng et al. 2019).

Une étude effectuée chez le cochon d'Inde démontra que les MNs trigéminaux possèdent des propriétés membranaires bistables médiées par des courants Ca^{2+} de type-L et I_{NaP} permettant la production de petites dépolarisations récurrentes (Hsiao, Del Negro et al. 1998). Dans notre étude, certains MNs ont évoqué des dépolarisations rythmiques miniatures suivant l'application de BAPTA et ce à des fréquences comparables à celles des bouffées évoquées dans les neurones du NVsnpr. Dans certains cas, cette activité rythmique s'accompagnait d'une dépolarisation graduelle du potentiel membranaire du MN menant à l'apparition d'une décharge à l'intérieur même des dépolarisations miniatures. Par conséquent, nous avons posé l'hypothèse que ces dépolarisations récurrentes pourraient en fait représenter le patron rythmique évoqué par le BAPTA de manière synchronisée dans plusieurs neurones du NVsnpr possédant une connexion directe avec le MN enregistré. Chaque dépolarisation miniature représenterait alors une

sommation spatio-temporelle des PPSEs générés par la décharge synchronisée de plusieurs bouffées provenant de l'ensemble des pré-MNs activés par le BAPTA.

3.6 Perspectives futures

Chez le lapin, le muscle du masséter serait composé de 23 compartiments différents pouvant être innervés indépendamment par des groupes distincts de MNs (English, Carrasco et al. 1999, Widmer, Carrasco et al. 2003). En partant du principe que la production des mouvements complexes découle d'un recrutement différentiel des différents compartiments neuromusculaires par le GPC masticatoire, nous avons assumé que des populations distinctes de pré-MNs contrôleraient l'activité de différents compartiments musculaires. Bien que notre étude confirme la présence d'une connectivité fonctionnelle entre le NVsnpr et NVmt, plusieurs éléments restent à être étudiés. En effet, les limites expérimentales associées aux approches expérimentales utilisées ne permettaient pas de confirmer avec précision la représentation des pré-MNs de chaque muscle masticatoire et de leurs différents compartiments dans le NVsnpr. Afin de cartographier les pré-MNs des muscles de la mâchoire dans le NVsnpr, une approche virale de marquage rétrograde transsynaptique pourrait être une alternative intéressante de notre étude. Cette méthode fut utilisée par Stanek et al. (2014) pour l'identification des circuits neuronaux responsables de la coordination langue-mâchoire chez la souris néonatale. En injectant une version modifiée du virus de la rage dans le muscle du masséter et du génioglosse, les auteurs ont été en mesure de cartographier les pré-MNs impliqués dans la coordination de ces muscles (Stanek, Cheng et al. 2014). En combinant cette approche avec des techniques de marquage immunologiques, nous serions en mesure de cartographier plus précisément les populations de pré-MNs pour les différents compartiments de chaque muscle masticatoire tout en caractérisant leurs propriétés neurochimiques.

Dans notre étude, l'approche utilisée pour induire la décharge rythmique dans les neurones du NVsnpr n'était pas assez effective et adaptée pour l'étude de la transmission du patron rythmique du NVsnpr au NVmt. L'imagerie calcique nous a permis de visualiser le patron spatio-temporel d'activité neuronal induit au niveau du site d'application du BAPTA dans le

NVsnpr. Ce dernier est apparu sous la forme d'une vague circulaire impliquant une activation séquentielle des neurones autour de la pipette. Ainsi, l'application locale de BAPTA dans le NVsnpr ne permettrait pas de faire décharger en bouffées rythmiques et de manière synchronisée assez de neurones du NVsnpr pour générer un patron suffisamment robuste pouvant être relayé aux MNs. L'utilisation d'un chélateur calcique « en cage » comme le diazo-2 (SR, JPY et al. 1989) permettrait une baisse plus uniformisée du calcium extracellulaire et donc une induction d'activité rythmique plus synchronisée dans les neurones du NVsnpr.

3.7 Conclusion

Les travaux présentés dans ce mémoire démontrent la présence d'une connectivité fonctionnelle entre le NVsnpr et le NVmt. Nos résultats décrivent l'organisation topographique de l'innervation du NVmt par les pré-MNs situés dans le NVsnpr et confirment la présence d'une tendance dorso-ventrale des projections. De plus, nous avons démontré que ces pré-MNs ont la capacité d'entraîner des décharges rythmiques dans les MNs trigéminaux. Finalement, nos résultats soulignent l'importance fonctionnelle du NVsnpr dans la rythmogenèse masticatoire (Athassiadis, Olsson et al. 2005, Athassiadis, Westberg et al. 2005, Brocard, Verdier et al. 2006, Kolta, Brocard et al. 2007, Kolta, Morquette et al. 2010, Kadala, Verdier et al. 2015, Morquette, Verdier et al. 2015) contribuant ainsi à l'amélioration significative de la compréhension de la circuiterie impliquée dans la production des mouvements oraux.

Bibliographie

Abbink, J. H., A. van der Bilt, F. Bosman, H. W. van der Glas, C. J. Erkelens and M. F. Klaassen (1999). "Comparison of external load compensation during rhythmic arm movements and rhythmic jaw movements in humans." J Neurophysiol **82**(3): 1209-1217.

Abudara, V., A. F. Alvarez, M. H. Chase and F. R. Morales (2002). "Nitric oxide as an anterograde neurotransmitter in the trigeminal motor pool." J Neurophysiol **88**(1): 497-506.

Agerberg, G. (1974). "Maximal mandibular movements in young men and women." Sven Tandlak Tidskr **67**(2): 81-100.

Ahlgren, J. (1966). "Mechanism of mastication; a quantitative cinematographic and electromyographic study of masticatory movements in children, with special reference to occlusion of the teeth." Acta Odont Scand **24**: 44.

Anderson, M., Q. Zheng and X. Dong (2018). "Investigation of Pain Mechanisms by Calcium Imaging Approaches." Neurosci Bull **34**(1): 194-199.

Appenteng, K. and D. Girdlestone (1987). "Transneuronal transport of wheat germ agglutinin-conjugated horseradish peroxidase into trigeminal interneurons of the rat." J Comp Neurol **258**(3): 387-396.

Appenteng, K., J. P. Lund and J. J. Seguin (1982). "Intraoral mechanoreceptor activity during jaw movement in the anesthetized rabbit." J Neurophysiol **48**(1): 27-37.

Ardran, G. M., F. H. Kemp and J. Lind (1958). "A cineradiographic study of bottle feeding." Br J Radiol **31**(361): 11-22.

Athanassiadis, T., K. A. Olsson, A. Kolta and K. G. Westberg (2005). "Identification of c-Fos immunoreactive brainstem neurons activated during fictive mastication in the rabbit." Exp Brain Res **165**(4): 478-489.

Athanassiadis, T., K. G. Westberg, K. A. Olsson and A. Kolta (2005). "Physiological characterization, localization and synaptic inputs of bursting and nonbursting neurons in the trigeminal principal sensory nucleus of the rat." Eur J Neurosci **22**(12): 3099-3110.

Avivi-Arber, L. and B. J. Sessle (2018). "Jaw sensorimotor control in healthy adults and effects of ageing." J Oral Rehabil **45**(1): 50-80.

Badura, A., X. R. Sun, A. Giovannucci, L. A. Lynch and S. S. Wang (2014). "Fast calcium sensor proteins for monitoring neural activity." Neurophotonics **1**(2): 025008.

Bates, J. F., G. D. Stafford and A. Harrison (1975). "Masticatory function--a review of the literature. 1. The form of the masticatory cycle." J Oral Rehabil **2**(3): 281-301.

Bazett, H. C. and W. G. Penfield (1922). "A study of the Sherrington decerebrate animal in the chronic as well as acute condition." Brain: A Journal of Neurology **45**: 185-265.

Beevor, C. E., V. S. Horsley, S. Royal and L. St. Thomas's Hospital. Medical School (1888). A further minute analysis by electric stimulation of the so-called motor region of the cortex cerebri in the monkey (Macacus sinicus). London, Published for the Royal Society by Trübner.

Bittencourt, J. C., J. Vaughan, C. Arias, R. A. Rissman, W. W. Vale and P. E. Sawchenko (1999). "Urocortin expression in rat brain: evidence against a pervasive relationship of urocortin-containing projections with targets bearing type 2 CRF receptors." J Comp Neurol **415**(3): 285-312.

Blanksma, N. G., T. M. van Eijden, L. J. van Ruijven and W. A. Weijs (1997). "Electromyographic heterogeneity in the human temporalis and masseter muscles during dynamic tasks guided by visual feedback." J Dent Res **76**(1): 542-551.

Bourque, M. J. and A. Kolta (2001). "Properties and interconnections of trigeminal interneurons of the lateral pontine reticular formation in the rat." J Neurophysiol **86**(5): 2583-2596.

Bredman, J. J., W. A. Weijs, A. F. Moorman and P. Brugman (1990). "Histochemical and functional fibre typing of the rabbit masseter muscle." J Anat **168**: 31-47.

Bremer, F. (1923). "Physiologie nerveuse de la mastication chez le chat et le lapin. Reponses masticatrices corticales et centre corticale du gout." Archives Internationales de Physiologie **21**: 308-352.

Brocard, F., D. Verdier, I. Arsenault, J. P. Lund and A. Kolta (2006). "Emergence of intrinsic bursting in trigeminal sensory neurons parallels the acquisition of mastication in weanling rats." J Neurophysiol **96**(5): 2410-2424.

Brody, J. F., P. A. DeFeudis and F. V. DeFeudis (1969). "Effects of micro-injections of L-glutamate into the hypothalamus on attack and flight behaviour in cats." Nature **224**(5226): 1330.

Brown, J. L., R. W. Hunsperger and H. E. Rosvold (1969). "Defence, attack, and flight elicited by electrical stimulation of the hypothalamus of the cat." Exp Brain Res **8**(2): 113-129.

Brown, T. G. (1914). "On the nature of the fundamental activity of the nervous centres; together with an analysis of the conditioning of rhythmic activity in progression, and a theory of the evolution of function in the nervous system." J Physiol **48**(1): 18-46.

Burgess, C. R. and J. H. Peever (2013). "A noradrenergic mechanism functions to couple motor behavior with arousal state." Curr Biol **23**(18): 1719-1725.

Byrd, K. E. (1997). "Characterization of brux-like movements in the laboratory rat by optoelectronic mandibular tracking and electromyographic techniques." Arch Oral Biol **42**(1): 33-43.

Cairns, B. E., B. J. Sessle and J. W. Hu (2001). "Temporomandibular-evoked jaw muscle reflex: role of brain stem NMDA and non-NMDA receptors." Neuroreport **12**(9): 1875-1878.

Capra, N. F. and D. Dessem (1992). "Central connections of trigeminal primary afferent neurons: topographical and functional considerations." Crit Rev Oral Biol Med **4**(1): 1-52.

Card, J. P., J. N. Riley and R. Y. Moore (1986). "The motor trigeminal nucleus of the rat: analysis of neuronal structure and the synaptic organization of noradrenergic afferents." J Comp Neurol **250**(4): 469-484.

Chandler, S. H. and L. J. Goldberg (1988). "Effects of pontomedullary reticular formation stimulation on the neuronal networks responsible for rhythmical jaw movements in the guinea pig." J Neurophysiol **59**(3): 819-832.

Chandler, S. H., C. F. Hsaio, T. Inoue and L. J. Goldberg (1994). "Electrophysiological properties of guinea pig trigeminal motoneurons recorded in vitro." J Neurophysiol **71**(1): 129-145.

Chandler, S. H. and M. Tal (1986). "The effects of brain stem transections on the neuronal networks responsible for rhythmical jaw muscle activity in the guinea pig." J Neurosci **6**(6): 1831-1842.

Chandler, S. H., J. Turman Jr, L. Salem and L. J. Goldberg (1990). "The effects of nanoliter ejections of lidocaine into the pontomedullary reticular formation on cortically induced rhythmical jaw movements in the guinea pig." Brain research **526**: 54-64.

Chang, Y., D. Cantelmi, J. J. Wisco, A. Fattah, A. G. Hannam and A. M. Agur (2013). "Evidence for the functional compartmentalization of the temporalis muscle: a 3-dimensional study of innervation." J Oral Maxillofac Surg **71**(7): 1170-1177.

Chatonnet, F., L. J. Wrobel, V. Mezieres, M. Pasqualetti, S. Ducret, E. Taillebourg, P. Charnay, F. M. Rijli and J. Champagnat (2007). "Distinct roles of Hoxa2 and Krox20 in the development of rhythmic neural networks controlling inspiratory depth, respiratory frequency, and jaw opening." Neural Dev **2**: 19.

Chen, J. and L. Engelen (2012). Food oral processing : fundamentals of eating and sensory perception. Hoboken, Wiley Blackwell.

Chen, K. N., C. Y. Wen, J. Y. Shieh and T. M. Tseng (1988). "The somatotopy of the masticatory neurons in the rat trigeminal motor nucleus as revealed by HRP study." Proc Natl Sci Coun Repub China B **12**(3): 146-155.

Chen, T. W., T. J. Wardill, Y. Sun, S. R. Pulver, S. L. Renninger, A. Baohan, E. R. Schreiter, R. A. Kerr, M. B. Orger, V. Jayaraman, L. L. Looger, K. Svoboda and D. S. Kim (2013). "Ultrasensitive fluorescent proteins for imaging neuronal activity." Nature **499**(7458): 295-300.

Chevallier, S., F. Nagy and J. M. Cabelguen (2006). "Cholinergic control of excitability of spinal motoneurons in the salamander." J Physiol **570**(Pt 3): 525-540.

Chi, C. C. and J. P. Flynn (1971). "Neural pathways associated with hypothalamically elicited attach behavior in cats." Science **171**(3972): 703-706.

Cody, F. W., L. M. Harrison and A. Taylor (1975). "Analysis of activity of muscle spindles of the jaw-closing muscles during normal movements in the cat." J Physiol **253**(2): 565-582.

Colley, J. R. and B. Creamer (1958). "Sucking and swallowing in infants." Br Med J **2**(5093): 422-423.

Couto, L. B., C. R. Moroni, C. M. dos Reis Ferreira, D. H. Elias-Filho, C. A. Parada, I. R. Pela and N. C. Coimbra (2006). "Descriptive and functional neuroanatomy of locus coeruleus-noradrenaline-containing neurons involvement in bradykinin-induced antinociception on principal sensory trigeminal nucleus." J Chem Neuroanat **32**(1): 28-45.

Crick, F. (1984). "Function of the thalamic reticular complex: the searchlight hypothesis." Proc Natl Acad Sci U S A **81**(14): 4586-4590.

Crill, W. E. (1996). "Persistent sodium current in mammalian central neurons." Annu Rev Physiol **58**: 349-362.

Crompton, A. W., P. Cook, K. Hiimeae and A. J. Thexton (1975). "Movement of the hyoid apparatus during chewing." Nature **258**(5530): 69-70.

Cruccu, G., A. Berardelli, M. Inghilleri and M. Manfredi (1989). "Functional organization of the trigeminal motor system in man. A neurophysiological study." Brain **112 (Pt 5)**: 1333-1350.

Curtis, J. C. and K. Appenteng (1993). "The electrical geometry, electrical properties and synaptic connections onto rat V motoneurons in vitro." J Physiol **465**: 85-119.

Del Negro, C. A., C. F. Hsiao and S. H. Chandler (1999). "Outward currents influencing bursting dynamics in guinea pig trigeminal motoneurons." J Neurophysiol **81(4)**: 1478-1485.

Del Negro, C. A., C. Morgado-Valle and J. L. Feldman (2002). "Respiratory rhythm: an emergent network property?" Neuron **34(5)**: 821-830.

Del Negro, C. A., R. W. Pace and J. A. Hayes (2008). "What role do pacemakers play in the generation of respiratory rhythm?" Adv Exp Med Biol **605**: 88-93.

Dellow, P. G. and J. P. Lund (1971). "Evidence for central timing of rhythmical mastication." J Physiol **215(1)**: 1-13.

Destexhe, A., D. Contreras and M. Steriade (1999). "Spatiotemporal analysis of local field potentials and unit discharges in cat cerebral cortex during natural wake and sleep states." J Neurosci **19(11)**: 4595-4608.

Doiron, B., M. J. Chacron, L. Maler, A. Longtin and J. Bastian (2003). "Inhibitory feedback required for network oscillatory responses to communication but not prey stimuli." Nature **421(6922)**: 539-543.

Dong, Y., J. Li, F. Zhang and Y. Li (2011). "Nociceptive afferents to the premotor neurons that send axons simultaneously to the facial and hypoglossal motoneurons by means of axon collaterals." PLoS One **6(9)**: e25615.

Donga, R., R. Dubuc, A. Kolta and J. P. Lund (1992). "Evidence that the masticatory muscles receive a direct innervation from cell group k in the rabbit." Neuroscience **49(4)**: 951-961.

Donga, R. and J. P. Lund (1991). "Discharge patterns of trigeminal commissural last-order interneurons during fictive mastication in the rabbit." J Neurophysiol **66(5)**: 1564-1578.

Donga, R., J. P. Lund and D. Veilleux (1990). "An electrophysiological study of trigeminal commissural interneurons in the anaesthetized rabbit." Brain Res **515(1-2)**: 351-354.

Druzinsky, R. E. (1993). "The time allometry of mammalian chewing movements: chewing frequency scales with body mass in mammals." J Theor Biol **160(4)**: 427-440.

Dubner, R., B. J. Sessle and A. T. Storey (1978). Jaw, facial, and tongue reflexes. The Neural Basis of Oral and Facial Function. P. Press. New York: 246-310.

Dun, S. L., G. C. Brailoiu, J. Yang, J. K. Chang and N. J. Dun (2001). "Urotensin II-immunoreactivity in the brainstem and spinal cord of the rat." Neurosci Lett **305**(1): 9-12.

Eisenman, J., S. Landgren and D. Novin (1963). "Functional Organization in the Main Sensory Trigeminal Nucleus and in the Rostral Subdivision of the Nucleus of the Spinal Trigeminal Tract in the Cat." Acta Physiol Scand Suppl: SUPPL214:211-244.

English, A. W., D. I. Carrasco and C. G. Widmer (1999). "Torques produced by different compartments of the rabbit masseter muscle." Journal of Applied Biomechanics **15**: 348-360.

English, A. W. and W. D. Letbetter (1982). "Anatomy and innervation patterns of cat lateral gastrocnemius and plantaris muscles." Am J Anat **164**(1): 67-77.

English, A. W. and C. G. Widmer (2001). "Neuromuscular compartments of the rabbit masseter are functionally distinct." J Dent Res **80**: 54.

Enomoto, S., G. Schwartz and J. P. Lund (1987). "The effects of cortical ablation on mastication in the rabbit." Neurosci Lett **82**(2): 162-166.

Eriksson, P. O., E. Stalberg and L. Antoni (1984). "Flexibility in motor-unit firing pattern in the human temporal and masseter muscles related to type of activation and location." Arch Oral Biol **29**(9): 707-712.

Erzurumlu, R. S., Y. Murakami and F. M. Rijli (2010). "Mapping the face in the somatosensory brainstem." Nat Rev Neurosci **11**(4): 252-263.

Fay, R. A. and R. Norgren (1997). "Identification of rat brainstem multisynaptic connections to the oral motor nuclei using pseudorabies virus. III. Lingual muscle motor systems." Brain Res Brain Res Rev **25**(3): 291-311.

Feldman, J. L. and S. Grillner (1983). "Control of vertebrate respiration and locomotion: a brief account." Physiologist **26**(5): 310-316.

Feldman, J. L., J. C. Smith, D. R. McCrimmon, H. H. Ellenberger and D. F. Speck (1988). Generation of respiratory patterns in mammals. New York, Wiley and Sons.

Ferraz-Pereira, K. N., R. da Silva Aragao, D. Verdier, A. E. Toscano, D. C. Lacerda, R. Manhaes-de-Castro and A. Kolta (2015). "Neonatal low-protein diet reduces the masticatory efficiency in rats." Br J Nutr **114**(9): 1515-1530.

Fort, P., P. H. Luppi, K. Sakai, D. Salvert and M. Jouvet (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**(2): 262-275.

Franklin, K. and G. Paxinos (2008). The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates, The coronal plates and diagrams. San Diego.

Fritschy, J. M., W. E. Lyons, M. E. Molliver and R. Grzanna (1988). "Neurotoxic effects of p-chloroamphetamine on the serotonergic innervation of the trigeminal motor nucleus: a retrograde transport study." Brain Res **473**(2): 261-270.

Geers, C., C. Nyssen-Behets, G. Cosnard and B. Lengele (2005). "The deep belly of the temporalis muscle: an anatomical, histological and MRI study." Surg Radiol Anat **27**(3): 184-191.

Gibbs, C. H., N. A. Wickwire, A. P. Jacobson, H. C. Lundeen, P. E. Mahan and S. M. Lupkiewicz (1982). "Comparison of typical chewing patterns in normal children and adults." J Am Dent Assoc **105**(1): 33-42.

Goldberg, J. A., U. Rokni, T. Boraud, E. Vaadia and H. Bergman (2004). "Spike synchronization in the cortex/basal-ganglia networks of Parkinsonian primates reflects global dynamics of the local field potentials." J Neurosci **24**(26): 6003-6010.

Goldberg, L. J., S. H. Chandler and M. Tal (1982). "Relationship between jaw movements and trigeminal motoneuron membrane-potential fluctuations during cortically induced rhythmic jaw movements in the guinea pig." Journal of Neurophysiology **48**: 110-138.

Goldberg, L. J. and M. Tal (1978). "Intracellular recording in trigeminal motoneurons of the anesthetized guinea pig during rhythmic jaw movements." Exp Neurol **58**(1): 102-110.

Goodwin, G. M. and E. S. Luschei (1974). "Effects of destroying spindle afferents from jaw muscles on mastication in monkeys." J Neurophysiol **37**(5): 967-981.

Gorniak, G. C. (1977). "Feeding in golden hamsters, *Mesocricetus auratus*." J Morphol **154**(3): 427-458.

Gorniak, G. C. and C. Gans (1980). "Quantitative assay of electromyograms during mastication in domestic cats (*Felis catus*)." J Morphol **163**(3): 253-281.

Greenfield, B. E. (1956). "Electromyographic studies of some of the muscles of mastication." Br Dent J **100**: 129-143.

Gregg, J. M. and A. D. Dixon (1973). "Somatotopic organization of the trigeminal ganglion in the rat." Arch Oral Biol **18**(4): 487-498.

Grienberger, C. and A. Konnerth (2012). "Imaging calcium in neurons." Neuron **73**(5): 862-885.

Grillner, S. (1981). "Control of locomotion in bipeds, tetrapods, and fish." Handbook of Physiology; The Nervous System II: 1179-1236.

Grimwood, P. D., K. Appenteng and J. C. Curtis (1992). "Monosynaptic EPSPs elicited by single interneurons and spindle afferents in trigeminal motoneurons of anaesthetized rats." J Physiol **455**: 641-662.

Grzanna, R., W. K. Chee and E. W. Akeyson (1987). "Noradrenergic projections to brainstem nuclei: evidence for differential projections from noradrenergic subgroups." J Comp Neurol **263**(1): 76-91.

Hannam, A. G., R. E. De Cou, J. D. Scott and W. W. Wood (1977). "The relationship between dental occlusion, muscle activity and associated jaw movement in man." Arch Oral Biol **22**(1): 25-32.

Harris-Warrick, R. M. (2010). "General principles of rhythmogenesis in central pattern generator networks." Prog Brain Res **187**: 213-222.

Hashimoto, N., T. Katayama, Y. Ishiwata and Y. Nakamura (1989). "Induction of rhythmic jaw movements by stimulation of the mesencephalic reticular formation in the guinea pig." J Neurosci **9**(8): 2887-2901.

Hatanaka, N., H. Tokuno, A. Nambu, T. Inoue and M. Takada (2005). "Input-output organization of jaw movement-related areas in monkey frontal cortex." J Comp Neurol **492**(4): 401-425.

Hayashi, H., R. Sumino and B. J. Sessle (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 **51**(5): 890-905.

Heckman, C. J., C. Mottram, K. Quinlan, R. Theiss and J. Schuster (2009). "Motoneuron excitability: the importance of neuromodulatory inputs." Clin Neurophysiol **120**(12): 2040-2054.

Helmchen, F. and D. W. Tank (2015). "A single-compartment model of calcium dynamics in nerve terminals and dendrites." Cold Spring Harb Protoc **2015**(2): 155-167.

Herring, S. W. (1985). "The ontogeny of mammalian mastication." American zoologist **25**: 339-349.

Herring, S. W., A. F. Grimm and B. R. Grimm (1979). "Functional heterogeneity in a multipinnate muscle." Am J Anat **154**(4): 563-576.

Herring, S. W. and T. C. Lakars (1982). "Craniofacial development in the absence of muscle contraction." J Craniofac Genet Dev Biol **1**(4): 341-357.

Hiiemae, K., M. R. Heath, G. Heath, E. Kazazoglu, J. Murray, D. Sapper and K. Hamblett (1996). "Natural bites, food consistency and feeding behaviour in man." Arch Oral Biol **41**(2): 175-189.

Hiiemae, K. M. (1978). Mammalian Mastication: A Review of the Activity of the Jaw Muscles and the Movements They Produce in Chewing. London.

Hsiao, C. F., C. A. Del Negro, P. R. Trueblood and S. H. Chandler (1998). "Ionic basis for serotonin-induced bistable membrane properties in guinea pig trigeminal motoneurons." J Neurophysiol **79**(6): 2847-2856.

Hsiao, C. F., P. R. Trueblood, M. S. Levine and S. H. Chandler (1997). "Multiple effects of serotonin on membrane properties of trigeminal motoneurons in vitro." J Neurophysiol **77**(6): 2910-2924.

Huang, C. S., H. Hiraba, G. M. Murray and B. J. Sessle (1989). "Topographical distribution and functional properties of cortically induced rhythmical jaw movements in the monkey (*Macaca fascicularis*)." J Neurophysiol **61**(3): 635-650.

Huff, T. and D. T. Daly (2018). Neuroanatomy, Cranial Nerve 5 (Trigeminal). StatPearls. Treasure Island (FL).

Humphrey, T. (1968). "The development of mouth opening and related reflexes involving the oral area of human fetuses." Ala J Med Sci **5**(2): 126-157.

Inoue, M., K. Nozawa-Inoue, R. Donga and Y. Yamada (2002). "Convergence of selected inputs from sensory afferents to trigeminal premotor neurons with possible projections to masseter motoneurons in the rabbit." Brain Res **957**(1): 183-191.

Inoue, T., S. H. Chandler and L. J. Goldberg (1994). "Neuropharmacological mechanisms underlying rhythmical discharge in trigeminal interneurons during fictive mastication." J Neurophysiol **71**(6): 2061-2073.

Inoue, T., T. Kato, Y. Masuda, T. Nakamura, Y. Kawamura and T. Morimoto (1989). "Modifications of masticatory behavior after trigeminal deafferentation in the rabbit." Exp Brain Res **74**(3): 579-591.

Inoue, T., Y. Masuda, T. Nagashima, K. Yoshikawa and T. Morimoto (1992). "Properties of rhythmically active reticular neurons around the trigeminal motor nucleus during fictive mastication in the rat." Neurosci Res **14**(4): 275-294.

Iriki, A., S. Nozaki and Y. Nakamura (1988). "Feeding behavior in mammals: corticobulbar projection is reorganized during conversion from sucking to chewing." Brain Res Dev Brain Res **44**(2): 189-196.

Iwata, K., H. Itoga, A. Ikukawa, N. Hanashima and R. Sumino (1985). "Movements of the jaw and orofacial regions evoked by stimulation of two different cortical areas in cats." Brain Res **359**(1-2): 332-337.

Jacquin, M. F., R. W. Rhoades, H. L. Enfiejian and M. D. Egger (1983). "Organization and morphology of masticatory neurons in the rat: a retrograde HRP study." J Comp Neurol **218**(3): 239-256.

Jacquin, M. F., K. Semba, M. D. Egger and R. W. Rhoades (1983). "Organization of HRP-labeled trigeminal mandibular primary afferent neurons in the rat." J Comp Neurol **215**(4): 397-420.

Jacquin, T. D., V. Borday, S. Schneider-Maunoury, P. Topilko, G. Ghilini, F. Kato, P. Charnay and J. Champagnat (1996). "Reorganization of pontine rhythmogenic neuronal networks in Krox-20 knockout mice." Neuron **17**(4): 747-758.

Johansson, R. S., M. Trulsson, K. A. Olsson and J. H. Abbs (1988). "Mechanoreceptive afferent activity in the infraorbital nerve in man during speech and chewing movements." Exp Brain Res **72**(1): 209-214.

Joo, W., F. Yoshioka, T. Funaki, K. Mizokami and A. L. Rhoton, Jr. (2014). "Microsurgical anatomy of the trigeminal nerve." Clin Anat **27**(1): 61-88.

Juch, P. J., R. F. Minkels and J. D. van Willigen (1993). "Inhibitory commissural connections of neurones in the trigeminal motor nucleus of the rat." Arch Oral Biol **38**(12): 1083-1091.

Kadala, A., D. Verdier, P. Morquette and A. Kolta (2015). "Ion Homeostasis in Rhythmogenesis: The Interplay Between Neurons and Astroglia." Physiology (Bethesda) **30**(5): 371-388.

Karlsen, K. (1965). "The location of motor end plates and the distribution and histological structure of muscle spindles in jaw muscles of the rat." Acta Odontol Scand **23**(5): 521-547.

Katakura, N. and S. H. Chandler (1990). "An iontophoretic analysis of the pharmacologic mechanisms responsible for trigeminal motoneuronal discharge during masticatory-like activity in the guinea pig." J Neurophysiol **63**(2): 356-369.

Kato, T., S. Seki, M. Higashiyama, Y. Masuda, S. Kitamura and A. Yoshida (2015). "Anatomical organization of descending cortical projections orchestrating the patterns of cortically induced rhythmical jaw muscle activity in guinea pigs." Neurosci Res **99**: 34-45.

Katoh, M., M. Taira, N. Katakura and Y. Nakamura (1982). "Cortically induced effects on trigeminal motoneurons after transection of the brainstem at the pontobulbar junction in the cat." Neurosci Lett **33**(2): 141-146.

Kidokoro, Y., K. Kubota, S. Shuto and R. Sumino (1968). "Possible interneurons responsible for reflex inhibition of motoneurons of jaw-closing muscles from the inferior dental nerve." J Neurophysiol **31**(5): 709-716.

Kobayashi, M., Y. Masuda, Y. Fujimoto, T. Matsuya, K. Yamamura, Y. Yamada, N. Maeda and T. Morimoto (2002). "Electrophysiological analysis of rhythmic jaw movements in the freely moving mouse." Physiol Behav **75**(3): 377-385.

Kogo, M., G. D. Funk and S. H. Chandler (1996). "Rhythmical oral-motor activity recorded in an in vitro brainstem preparation." Somatosens Mot Res **13**(1): 39-48.

Koizumi, H. and J. C. Smith (2008). "Persistent Na⁺ and K⁺-dominated leak currents contribute to respiratory rhythm generation in the pre-Botzinger complex in vitro." J Neurosci **28**(7): 1773-1785.

Kolta, A. (1997). "In vitro investigation of synaptic relations between interneurons surrounding the trigeminal motor nucleus and masseteric motoneurons." J Neurophysiol **78**(3): 1720-1725.

Kolta, A., F. Brocard, D. Verdier and J. P. Lund (2007). "A review of burst generation by trigeminal main sensory neurons." Arch Oral Biol **52**(4): 325-328.

Kolta, A., R. Dubuc and J. P. Lund (1993). "An immunocytochemical and autoradiographic investigation of the serotonergic innervation of trigeminal mesencephalic and motor nuclei in the rabbit." Neuroscience **53**(4): 1113-1126.

Kolta, A., P. Morquette, R. Lavoie, I. Arsenault and D. Verdier (2010). "Modulation of rhythmogenic properties of trigeminal neurons contributing to the masticatory CPG." Prog Brain Res **187**: 137-148.

Kolta, A., K. G. Westberg and J. P. Lund (2000). "Identification of brainstem interneurons projecting to the trigeminal motor nucleus and adjacent structures in the rabbit." J Chem Neuroanat **19**(3): 175-195.

Kuhn, A. A., D. Williams, A. Kupsch, P. Limousin, M. Hariz, G. H. Schneider, K. Yarrow and P. Brown (2004). "Event-related beta desynchronization in human subthalamic nucleus correlates with motor performance." Brain **127**(Pt 4): 735-746.

Kurasawa, I., K. Toda and Y. Nakamura (1990). "Non-reciprocal facilitation of trigeminal motoneurons innervating jaw-closing and jaw-opening muscles induced by iontophoretic application of serotonin in the guinea pig." Brain Res **515**(1-2): 126-134.

Kuwajima, T., A. A. Sitko, P. Bhansali, C. Jurgens, W. Guido and C. Mason (2013). "ClearT: a detergent- and solvent-free clearing method for neuronal and non-neuronal tissue." Development **140**(6): 1364-1368.

Kwa, S. H., J. A. Korfage and W. A. Weijjs (1995). "Function-dependent anatomical parameters of rabbit masseter motor units." J Dent Res **74**(10): 1649-1657.

Landgren, S. and K. A. Olsson (1980). "The effect of electrical stimulation in the hypothalamus on the monosynaptic jaw closing and the disynaptic jaw opening reflexes in the cat." Exp Brain Res **39**(4): 389-400.

Landgren, S., K. A. Olsson and K. G. Westberg (1986). "Bulbar neurones with axonal projections to the trigeminal motor nucleus in the cat." Exp Brain Res **65**(1): 98-111.

Landry, S. O., Jr. (1970). "The rodentia as omnivores." Q Rev Biol **45**(4): 351-372.

Larson, C. R., K. E. Byrd, C. R. Garthwaite and E. S. Luschei (1980). "Alterations in the pattern of mastication after ablations of the lateral precentral cortex in rhesus macaques." Exp Neurol **70**(3): 638-651.

Larson, C. R., A. Smith and E. S. Luschei (1981a). "Discharge characteristics and stretch sensitivity of jaw muscle afferents in the monkey during controlled isometric bites." J Neurophysiol **46**(1): 130-142.

Larson, C. R., J. C. Smith and E. S. Luschei (1981b). "Response characteristics of jaw muscle spindle and tooth mechanoreceptor afferents in monkeys during a controlled isometric biting task." Oral-Facial Sensory and Motor Functions: 175.

Lassauzay, C., M. A. Peyron, E. Albuissou, E. Dransfield and A. Woda (2000). "Variability of the masticatory process during chewing of elastic model foods." Eur J Oral Sci **108**(6): 484-492.

Lazarov, N. E. (2000). "The mesencephalic trigeminal nucleus in the cat." Adv Anat Embryol Cell Biol **153**: iii-xiv, 1-103.

Lazarov, N. E. (2007). "Neurobiology of orofacial proprioception." Brain Res Rev **56**(2): 362-383.

Lazarov, N. E., K. G. Usunoff, O. Schmitt, D. E. Itzev, A. Rolfs and A. Wree (2011). "Amygdalotrigeminal projection in the rat: An anterograde tracing study." Ann Anat **193**(2): 118-126.

Li, J. L., T. Kaneko, S. Nomura and N. Mizuno (1998). "Projections from the caudal spinal trigeminal nucleus to commissural interneurons in the supratrigeminal region: an electron microscope study in the rat." Neurosci Lett **254**(1): 57-60.

Li, P., X. Geng, H. Jiang, A. Caccavano, S. Vicini and J. Y. Wu (2019). "Measuring Sharp Waves and Oscillatory Population Activity With the Genetically Encoded Calcium Indicator GCaMP6f." Front Cell Neurosci **13**: 274.

Li, Y. Q., M. Takada, T. Kaneko and N. Mizuno (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**(4): 563-579.

Li, Y. Q., M. Takada, T. Kaneko and N. Mizuno (1996a). "GABAergic and glycinergic neurons projecting to the trigeminal motor nucleus: a double labeling study in the rat." J Comp Neurol **373**(4): 498-510.

Li, Y. Q., M. Takada, T. Kaneko and N. Mizuno (1996b). "GABAergic and glycinergic neurons projecting to the trigeminal motor nucleus: a double labeling study in the rat." J Comp Neurol **373**(4): 498-510.

Li, Y. Q., M. Takada and N. Mizuno (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." Neuroscience **611**(1): 160-164.

Li, Y. Q., M. Takada and N. Mizuno (1993b). "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 **611**(1): 160-164.

Li, Y. Q., M. Takada and N. Mizuno (1993c). "The sites of origin of serotonergic afferent fibers in the trigeminal motor, facial, and hypoglossal nuclei in the rat." Neurosci Res **17**(4): 307-313.

Lian, X. Y. and J. L. Stringer (2004). "Astrocytes contribute to regulation of extracellular calcium and potassium in the rat cerebral cortex during spreading depression." Brain Res **1012**(1-2): 177-184.

Limwongse, V. and M. DeSantis (1977). "Cell body locations and axonal pathways of neurons innervating muscles of mastication in the rat." Am J Anat **149**(4): 477-488.

Lin, B. J., T. W. Chen and D. Schild (2007). "Cell type-specific relationships between spiking and [Ca²⁺]_i in neurons of the *Xenopus* tadpole olfactory bulb." J Physiol **582**(Pt 1): 163-175.

Lingenhohl, K. and E. Friauf (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**(2): 385-396.

Liu, Z. J., Y. Masuda, T. Inoue, H. Fuchihata, A. Sumida, K. Takada and T. Morimoto (1993). "Coordination of cortically induced rhythmic jaw and tongue movements in the rabbit." J Neurophysiol **69**(2): 569-584.

Lund, J. P. (1991). "Mastication and its control by the brain stem." Crit Rev Oral Biol Med **2**(1): 33-64.

Lund, J. P. and P. G. Dellow (1973). "Rhythmical masticatory activity of hypoglossal motoneurons responding to an oral stimulus." Exp Neurol **40**(1): 243-246.

Lund, J. P., A. Kolta, K. G. Westberg and G. Scott (1998). "Brainstem mechanisms underlying feeding behaviors." Curr Opin Neurobiol **8**(6): 718-724.

Lund, J. P. and Y. Lamarre (1974). "Activity of neurons in the lower precentral cortex during voluntary and rhythmical jaw movements in the monkey." Exp Brain Res **19**(3): 282-299.

Lund, J. P. and K. A. Olsson (1983). "The importance of reflexes and their control during jaw movement." Trends Neurosci.: 458-463.

Lund, J. P., F. J. Richmond, C. Touloumis, Y. Patry and Y. Lamarre (1978). "The distribution of Golgi tendon organs and muscle spindles in masseter and temporalis muscles of the cat." Neuroscience **3**(2): 259-270.

Lund, J. P., K. Sasamoto, T. Murakami and K. A. Olsson (1984). "Analysis of rhythmical jaw movements produced by electrical stimulation of motor-sensory cortex of rabbits." J Neurophysiol **52**(6): 1014-1029.

Lundeen, H. C., H. C. Lundeen and C. H. Gibbs (1982). Advances in occlusion. Boston, Mass. ; Bristol, J. Wright.

Luo, P., M. Moritani and D. Dessem (2001). "Jaw-muscle spindle afferent pathways to the trigeminal motor nucleus in the rat." J Comp Neurol **435**(3): 341-353.

Luo, P., R. Wong and D. Dessem (1995). "Projection of jaw-muscle spindle afferents to the caudal brainstem in rats demonstrated using intracellular biotinamide." J Comp Neurol **358**(1): 63-78.

Luschei, E. S. and L. J. Goldberg (1981). "Neural mechanisms of mandibular control: mastication and voluntary biting." Handbook of physiology: The nervous system **2**: 1237-1274.

Luschei, E. S. and G. M. Goodwin (1974). "Patterns of mandibular movement and jaw muscle activity during mastication in the monkey." J Neurophysiol **37**(5): 954-966.

Luschei, E. S. and G. M. Goodwin (1975). "Role of monkey precentral cortex in control of voluntary jaw movements." J Neurophysiol **38**(1): 146-157.

Luu, P., D. M. Tucker and S. Makeig (2004). "Frontal midline theta and the error-related negativity: neurophysiological mechanisms of action regulation." Clin Neurophysiol **115**(8): 1821-1835.

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**(1-2): 354-358.

Macdougall, J. D. and B. L. Andrew (1953). "An electromyographic study of the temporalis and masseter muscles." J Anat **87**(1): 37-45.

- Maeda, N., H. Sugiyama, S. Suemune, H. Wakisaka, S. Niida, K. Ogata and K. Miyata (1993). "Sexual dimorphism in the trigeminal motor neurons innervating the mouse masseter muscle." Brain Res **627**(1): 177-180.
- Manaker, S., L. J. Tischler, T. L. Bigler and A. R. Morrison (1992). "Neurons of the motor trigeminal nucleus project to the hypoglossal nucleus in the rat." Exp Brain Res **90**(2): 262-270.
- Marfurt, C. F. (1981). "The somatotopic organization of the cat trigeminal ganglion as determined by the horseradish peroxidase technique." Anat Rec **201**(1): 105-118.
- McCormick, D. A. and D. Contreras (2001). "On the cellular and network bases of epileptic seizures." Annu Rev Physiol **63**: 815-846.
- McCrea, D. A. and I. A. Rybak (2008). "Organization of mammalian locomotor rhythm and pattern generation." Brain Res Rev **57**(1): 134-146.
- McDavid, S., J. P. Lund, F. Auclair and A. Kolta (2006). "Morphological and immunohistochemical characterization of interneurons within the rat trigeminal motor nucleus." Neuroscience **139**(3): 1049-1059.
- McDavid, S., D. Verdier, J. P. Lund and A. Kolta (2008). "Electrical properties of interneurons found within the trigeminal motor nucleus." Eur J Neurosci **28**(6): 1136-1145.
- Messen, H. and J. Olszewski (1949). Cytoarchitektonischer atlas des rautenhirns des kaninchens. Cytoarchitektonischer Atlas des Rautenhirns des Kaninchens/Cytoarchitectonic Atlas of the Rhombencephalon of the Rabbit. Basel, Karger: 5-52.
- Milanick, W. J., L. Polo-Parada, H. A. Dantzler and D. D. Kline (2019). "Activation of Alpha-1 Adrenergic Receptors Increases Cytosolic Calcium in Neurons of the Paraventricular Nucleus of the Hypothalamus." J Neuroendocrinol: e12791.
- Miller, S. and P. D. Scott (1977). "The spinal locomotor generator." Exp Brain Res **30**(2-3): 387-403.
- Minkels, R. F., P. J. Juch, G. J. Ter Horst and J. D. Van Willigen (1991). "Projections of the parvocellular reticular formation to the contralateral mesencephalic trigeminal nucleus in the rat." Brain Res **547**(1): 13-21.
- Minkels, R. F., P. J. Juch and J. D. van Willigen (1995). "Interneurones of the supratrigeminal area mediating reflex inhibition of trigeminal and facial motoneurons in the rat." Arch Oral Biol **40**(4): 275-284.

Mizuno, N. (1970). "Projection fibers from the main sensory trigeminal nucleus and the supratrigeminal region." J Comp Neurol **139**(4): 457-471.

Mizuno, N., A. Konishi and M. Sato (1975). "Localization of masticatory motoneurons in the cat and rat by means of retrograde axonal transport of horseradish peroxidase." J Comp Neurol **164**(1): 105-115.

Mizuno, N., S. Nomura, K. Itoh, Y. Nakamura and A. Konishi (1978). "Commissural interneurons for masticatory motoneurons: a light and electron microscope study using the horseradish peroxidase tracer technique." Exp Neurol **59**(2): 254-262.

Mizuno, N., Y. Yasui, S. Nomura, K. Itoh, A. Konishi, M. Takada and M. Kudo (1983). "A light and electron microscopic study of premotor neurons for the trigeminal motor nucleus." J Comp Neurol **215**(3): 290-298.

Mogoseanu, D., A. D. Smith and J. P. Bolam (1993). "Monosynaptic innervation of trigeminal motor neurones involved in mastication by neurones of the parvicellular reticular formation." J Comp Neurol **336**(1): 53-65.

Mong, F. S., Y. C. Chen and C. H. Lu (1988). "Dendritic ramifications of trigeminal motor neurons innervating jaw-closing muscles of rats." J Neurol Sci **86**(2-3): 251-264.

Morilak, D. A. and B. L. Jacobs (1985). "Noradrenergic modulation of sensorimotor processes in intact rats: the masseteric reflex as a model system." J Neurosci **5**(5): 1300-1306.

Morimoto, T., T. Inoue, Y. Masuda and T. Nagashima (1989). "Sensory components facilitating jaw-closing muscle activities in the rabbit." Exp Brain Res **76**(2): 424-440.

Morimoto, T., T. Inoue, T. Nakamura and Y. Kawamura (1985). "Characteristics of rhythmic jaw movements of the rabbit." Arch Oral Biol **30**(9): 673-677.

Morquette, P., R. Lavoie, M. D. Fhima, X. Lamoureux, D. Verdier and A. Kolta (2012). "Generation of the masticatory central pattern and its modulation by sensory feedback." Prog Neurobiol **96**(3): 340-355.

Morquette, P., D. Verdier, A. Kadala, J. Fethiere, A. G. Philippe, R. Robitaille and A. Kolta (2015). "An astrocyte-dependent mechanism for neuronal rhythmogenesis." Nat Neurosci **18**(6): 844-854.

Mu, L. and I. Sanders (1999). "Neuromuscular organization of the canine tongue." Anat Rec **256**(4): 412-424.

Mukerji, S., M. C. Brown and D. J. Lee (2009). "A morphologic study of Fluorogold labeled tensor tympani motoneurons in mice." Brain Res **1278**: 59-65.

Mukerji, S., A. M. Windsor and D. J. Lee (2010). "Auditory brainstem circuits that mediate the middle ear muscle reflex." Trends Amplif **14**(3): 170-191.

Murakami, T., H. Miyata, K. Ishizuka and Y. Suzuki (1989). "[Responses of premotor neurons for the trigeminal motor nucleus to stimulation of the cortical masticatory area and natural stimulation of the oral-facial area]." Shigaku **77**(3): 898-903.

Nakajima, R. and B. J. Baker (2018). "Mapping of excitatory and inhibitory postsynaptic potentials of neuronal populations in hippocampal slices using the GEVI, ArcLight." J Phys D Appl Phys **51**(50).

Nakamura, K. and Y. Nakamura (2018). "Hunger and Satiety Signaling: Modeling Two Hypothalamomedullary Pathways for Energy Homeostasis." Bioessays **40**(8): e1700252.

Nakamura, Y. and N. Katakura (1995). "Generation of masticatory rhythm in the brainstem." Neurosci Res **23**(1): 1-19.

Nakamura, Y., N. Katakura and M. Nakajima (1999). "Generation of rhythmical ingestive activities of the trigeminal, facial, and hypoglossal motoneurons in in vitro CNS preparations isolated from rats and mice." J Med Dent Sci **46**(2): 63-73.

Nakamura, Y., Y. Kubo, S. Nozaki and M. Takatori (1976). "Cortically induced masticatory rhythm and its modification by tonic peripheral inputs in immobilized cats." Bull Tokyo Med Dent Univ **23**(2): 101-107.

Narayanan, C. H., M. W. Fox and V. Hamburger (1971). "Prenatal development of spontaneous and evoked activity in the rat (*Rattus norvegicus albinus*)." Behaviour **40**(1): 100-134.

Notsu, K., T. Tsumori, S. Yokota, J. Sekine and Y. Yasui (2008). "Posterior lateral hypothalamic axon terminals are in contact with trigeminal premotor neurons in the parvicellular reticular formation of the rat medulla oblongata." Brain Res **1244**: 71-81.

Nozaki, S., A. Iriki and Y. Nakajima (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.

Nozaki, S., A. Iriki and Y. Nakamura (1986a). "Localization of central rhythm generator involved in cortically induced rhythmical masticatory jaw-opening movement in the guinea pig." J Neurophysiol **55**(4): 806-825.

Nozaki, S., A. Iriki and Y. Nakamura (1986b). "Role of corticobulbar projection neurons in cortically induced rhythmical masticatory jaw-opening movement in the guinea pig." J Neurophysiol **55**(4): 826-845.

Nozaki, S., A. Iriki and Y. Nakamura (1993). "Trigeminal premotor neurons in the bulbar parvocellular 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**(2): 595-608.

Okamoto, K., N. Emura, H. Sato, Y. Fukatsu, M. Saito, C. Tanaka, Y. Morita, K. Nishimura, E. Kuramoto, D. Xu Yin, K. Furutani, M. Okazawa, Y. Kurachi, T. Kaneko, Y. Maeda, T. Yamashiro, K. Takada, H. Toyoda and Y. Kang (2016). "The Possible Role of TASK Channels in Rank-Ordered Recruitment of Motoneurons in the Dorsolateral Part of the Trigeminal Motor Nucleus." eNeuro **3**(3).

Okayasu, I., Y. Yamada, S. Kohno and N. Yoshida (2003). "New animal model for studying mastication in oral motor disorders." J Dent Res **82**(4): 318-321.

Olsson, K. A., S. Landgren and K. G. Westberg (1986). "Location of, and peripheral convergence on, the interneuron in the disynaptic path from the coronal gyrus of the cerebral cortex to the trigeminal motoneurons in the cat." Exp Brain Res **65**(1): 83-97.

Ottenhoff, F. A., A. van der Bilt, H. W. van der Glas and F. Bosman (1992). "Peripherally induced and anticipating elevator muscle activity during simulated chewing in humans." J Neurophysiol **67**(1): 75-83.

Peck, J. H., E. Gaier, E. Stevens, S. Repicky and R. M. Harris-Warrick (2006). "Amine modulation of I_h in a small neural network." J Neurophysiol **96**(6): 2931-2940.

Perret, C. and J. M. Cabelguen (1980). "Main characteristics of the hindlimb locomotor cycle in the decorticate cat with special reference to bifunctional muscles." Brain Res **187**(2): 333-352.

Proschel, P. (1987). "An extensive classification of chewing patterns in the frontal plane." Cranio **5**(1): 55-63.

Proschel, P. and M. Hofmann (1988). "Frontal chewing patterns of the incisor point and their dependence on resistance of food and type of occlusion." J Prosthet Dent **59**(5): 617-624.

Rekling, J. C. and J. L. Feldman (1998). "PreBotzinger complex and pacemaker neurons: hypothesized site and kernel for respiratory rhythm generation." Annu Rev Physiol **60**: 385-405.

Rekling, J. C., X. M. Shao and J. L. Feldman (2000). "Electrical coupling and excitatory synaptic transmission between rhythmogenic respiratory neurons in the preBotzinger complex." J Neurosci **20**(23): RC113.

Rodrigo, J., D. R. Springall, O. Uttenthal, M. L. Bentura, F. Abadia-Molina, V. Riveros-Moreno, R. Martinez-Murillo, J. M. Polak and S. Moncada (1994). "Localization of nitric oxide synthase in the adult rat brain." Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci **345**(1312): 175-221.

Rokx, J. T. and J. D. van Willigen (1985). "Arrangement of supramandibular and suprahyoid motoneurons in the rat; a fluorescent tracer study." Acta Anat (Basel) **122**(3): 158-162.

Roland, P. E. and H. Ladegaard-Pedersen (1977). "A quantitative analysis of sensations of tension and of kinaesthesia in man. Evidence for a peripherally originating muscular sense and for a sense of effort." Brain **100**(4): 671-692.

Roste, G. K. (1989). "Non-motoneurons in the facial and motor trigeminal nuclei projecting to the cerebellar flocculus in the cat. A fluorescent double-labelling and WGA-HRP study." Exp Brain Res **75**(2): 295-305.

Rubin, J. E., J. A. Hayes, J. L. Mendenhall and C. A. Del Negro (2009). "Calcium-activated nonspecific cation current and synaptic depression promote network-dependent burst oscillations." Proc Natl Acad Sci U S A **106**(8): 2939-2944.

Saad, M., R. Dubuc, K. G. Westberg and J. P. Lund (1999). "Distribution of cholinergic neurons in cell group K of the rabbit brainstem." Neuroscience **88**(3): 927-937.

Saad, M., R. Dubuc, C. G. Widmer, K. G. Westberg and J. P. Lund (1997). "Anatomical organization of efferent neurons innervating various regions of the rabbit masseter muscle." J Comp Neurol **383**(4): 428-438.

Saha, S., K. Appenteng and T. F. Batten (1991). "Quantitative analysis and postsynaptic targets of GABA-immunoreactive boutons within the rat trigeminal motor nucleus." Brain Res **561**(1): 128-138.

Sandler, V. M., E. Puil and D. W. Schwarz (1998). "Intrinsic response properties of bursting neurons in the nucleus principalis trigemini of the gerbil." Neuroscience **83**(3): 891-904.

Sasamoto, K. (1979). "Motor nuclear representation of masticatory muscles in the rat." Jpn J Physiol **29**(6): 739-747.

Sasamoto, K., G. Zhang and M. Iwasaki (1990). "Two types of rhythmical jaw movements evoked by stimulation of the rat cortex." Shika Kiso Igakkai Zasshi **32**(1): 57-68.

Schaerer, P., J. V. Legault and H. A. Zander (1966). "Mastication under anesthesia." Helv Odontol Acta **10**(2): 130-134.

Schumacher, G. H. (1961). "Funktionelle morphologie der kaumuskulatur." VEB Gustav Fischer.

Schumacher, G. H. (1980). Comparative functional anatomy of jaw muscles. Jaw Position and Jaw Movement. V. V. V. u. Gesundheit. Berlin: 76-93.

Schwartz, G., S. Enomoto, C. Valiquette and J. P. Lund (1989). "Mastication in the rabbit: a description of movement and muscle activity." J Neurophysiol **62**(1): 273-287.

Schwarz, P. B., S. Mir and J. H. Peever (2014). "Noradrenergic modulation of masseter muscle activity during natural rapid eye movement sleep requires glutamatergic signalling at the trigeminal motor nucleus." J Physiol **592**(16): 3597-3609.

Schwarz, P. B., N. Yee, S. Mir and J. H. Peever (2008). "Noradrenaline triggers muscle tone by amplifying glutamate-driven excitation of somatic motoneurons in anaesthetized rats." J Physiol **586**(23): 5787-5802.

Scott, G., K. G. Westberg, N. Vrentzos, A. Kolta and J. P. Lund (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**(10): 2156-2162.

Sederberg, P. B., A. Schulze-Bonhage, J. R. Madsen, E. B. Bromfield, D. C. McCarthy, A. Brandt, M. S. Tully and M. J. Kahana (2007). "Hippocampal and neocortical gamma oscillations predict memory formation in humans." Cereb Cortex **17**(5): 1190-1196.

Segal, R. L. (1992). "Neuromuscular compartments in the human biceps brachii muscle." Neurosci Lett **140**(1): 98-102.

Setsu, T., Y. Ikeda, P. L. Woodhams and T. Terashima (2001). "Branchiogenic motoneurons innervating facial, masticatory, and esophageal muscles show aberrant distribution in the reeler-phenotype mutant rat, Shaking Rat Kawasaki." J Comp Neurol **439**(3): 275-290.

Shammah-Lagnado, S. J., M. S. Costa and J. A. Ricardo (1992). "Afferent connections of the parvocellular reticular formation: a horseradish peroxidase study in the rat." Neuroscience **50**(2): 403-425.

Shigenaga, Y., I. C. Chen, S. Suemune, T. Nishimori, I. D. Nasution, A. Yoshida, H. Sato, T. Okamoto, M. Sera and M. Hosoi (1986). "Oral and facial representation within the medullary and upper cervical dorsal horns in the cat." J Comp Neurol **243**: 388-408.

Shigenaga, Y., T. Okamoto, T. Nishimori, S. Suemune, I. D. Nasution, I. C. Chen, K. Tsuru, A. Yoshida, K. Tabuchi, M. Hosoi and et al. (1986). "Oral and facial representation in the trigeminal principal and rostral spinal nuclei of the cat." J Comp Neurol **244**(1): 1-18.

Shigenaga, Y., M. Sera, T. Nishimori, S. Suemune, M. Nishimura, A. Yoshida and K. Tsuru (1988). "The central projection of masticatory afferent fibers to the trigeminal sensory nuclear complex and upper cervical spinal cord." J Comp Neurol **268**(4): 489-507.

Shwaluk, S. (1971). "Initiation of reflex activity from the temporomandibular joint of the cat." J Dent Res **50**(6): 1642-1646.

Skofitsch, G. and D. M. Jacobowitz (1985). "Calcitonin gene-related peptide: detailed immunohistochemical distribution in the central nervous system." Peptides **6**(4): 721-745.

Slaughter, K., H. Li and A. J. Sokoloff (2005). "Neuromuscular organization of the superior longitudinalis muscle in the human tongue. 1. Motor endplate morphology and muscle fiber architecture." Cells Tissues Organs **181**(1): 51-64.

Smith-Edwards, K. M., J. J. DeBerry, J. L. Saloman, B. M. Davis and C. J. Woodbury (2016). "Profound alteration in cutaneous primary afferent activity produced by inflammatory mediators." Elife **5**.

SR, A., K. JPY and T. RY (1989). "Biologically useful chelators that take up calcium(2+) upon illumination." J Am Chem Soc: 7957–7968.

Stanek, E. t., S. Cheng, J. Takatoh, B. X. Han and F. Wang (2014). "Monosynaptic premotor circuit tracing reveals neural substrates for oro-motor coordination." Elife **3**: e02511.

Stanek, E. t., E. Rodriguez, S. Zhao, B. X. Han and F. Wang (2016). "Supratrigeminal Bilaterally Projecting Neurons Maintain Basal Tone and Enable Bilateral Phasic Activation of Jaw-Closing Muscles." J Neurosci **36**(29): 7663-7675.

Storey, A. T. (1968). "Sensory functions of the temporomandibular joint." J Can Dent Assoc (Tor) **34**(6): 294-300.

Storey, A. T. (1973). "Reflex functions of the temporomandibular joint." J Prosthet Dent **30**(5): 830-837.

Sumi, T. (1971). "Modification of cortically evoked rhythmic chewing and swallowing from midbrain and pons." Jpn J Physiol **21**(5): 489-506.

Sutin, E. L. and D. M. Jacobowitz (1990). "Detection of CCK mRNA in the motor nucleus of the rat trigeminal nerve with in situ hybridization histochemistry." Brain Res Mol Brain Res **8**(1): 63-68.

Szekely, G., G. Czeh and G. Voros (1969). "The activity pattern of limb muscles in freely moving normal and deafferented newts." Exp Brain Res **9**(1): 53-72.

Szekely, G. and C. Matesz (1982). "The accessory motor nuclei of the trigeminal, facial, and abducens nerves in the rat." J Comp Neurol **210**(3): 258-264.

Takamatsu, J., T. Inoue, M. Tsuruoka, T. Suganuma, R. Furuya and T. Kawawa (2005). "Involvement of reticular neurons located dorsal to the facial nucleus in activation of the jaw-closing muscle in rats." Brain Res **1055**(1-2): 93-102.

Tanaka, S., M. Kogo, S. H. Chandler and T. Matsuya (1999). "Localization of oral-motor rhythmogenic circuits in the isolated rat brainstem preparation." Brain Res **821**(1): 190-199.

Tazerart, S., J. C. Viemari, P. Darbon, L. Vinay and F. Brocard (2007). "Contribution of persistent sodium current to locomotor pattern generation in neonatal rats." J Neurophysiol **98**(2): 613-628.

Teaford, M. F. and A. Walker (1983). "Prenatal Jaw Movements in the Guinea Pig, *Cavia porcellus*; Evidence from Patterns of Tooth Wear." Journal of Mammalogy **64**(3): 534-536.

Ter Horst, G. J., J. C. Copray, J. D. Van Willigen and R. S. Liem (1990). "Contralateral projections of cells in the motor trigeminal nucleus of the rat." Neurosci Lett **113**(3): 260-266.

Terashima, T., Y. Kishimoto and T. Ochiishi (1994). "Musculotopic organization in the motor trigeminal nucleus of the reeler mutant mouse." Brain Res **666**(1): 31-42.

Thexton, A. J., K. M. Hiiemae and A. W. Crompton (1980). "Food consistency and bite size as regulators of jaw movement during feeding in the cat." J Neurophysiol **44**(3): 456-474.

Thexton, A. J. and J. McGarrick (1987). "Effect of experimentally elicited rhythmic oral activity on the linguodigastric reflex in the lightly anesthetized rabbit." Exp Neurol **96**(1): 104-117.

Thomas, N. R. and S. C. Peyton (1983). "An electromyographic study of mastication in the freely-moving rat." Arch Oral Biol **28**(10): 939-945.

Travers, J. B. (2015). Oromotor Nuclei. The Rat Nervous System: 223-245.

Travers, J. B., K. Herman and S. P. Travers (2010). "Suppression of third ventricular NPY-elicited feeding following medullary reticular formation infusions of muscimol." Behav Neurosci **124**(2): 225-233.

Travers, J. B. and R. Norgren (1983). "Afferent projections to the oral motor nuclei in the rat." J Comp Neurol **220**(3): 280-298.

Travers, J. B., J. E. Yoo, R. Chandran, K. Herman and S. P. Travers (2005). "Neurotransmitter phenotypes of intermediate zone reticular formation projections to the motor trigeminal and hypoglossal nuclei in the rat." J Comp Neurol **488**(1): 28-47.

Trueblood, P. R., M. S. Levine and S. H. Chandler (1996). "Dual-component excitatory amino acid-mediated responses in trigeminal motoneurons and their modulation by serotonin in vitro." J Neurophysiol **76**(4): 2461-2473.

Trulsson, M. and R. S. Johansson (2002). "Orofacial mechanoreceptors in humans: encoding characteristics and responses during natural orofacial behaviors." Behav Brain Res **135**(1-2): 27-33.

Tsuboi, A., A. Kolta, C. C. Chen and J. P. Lund (2003). "Neurons of the trigeminal main sensory nucleus participate in the generation of rhythmic motor patterns." Eur J Neurosci **17**(2): 229-238.

Tsuruyama, K., C. F. Hsiao and S. H. Chandler (2013). "Participation of a persistent sodium current and calcium-activated nonspecific cationic current to burst generation in trigeminal principal sensory neurons." J Neurophysiol **110**(8): 1903-1914.

Turman, J. E., Jr., N. B. Chopiuk and C. F. Shuler (2001). "The Krox-20 null mutation differentially affects the development of masticatory muscles." Dev Neurosci **23**(2): 113-121.

Uchino, K., K. Higashiyama, T. Kato, T. Haque, F. Sato, A. Tomita, K. Tsutsumi, M. Moritani, K. Yamamura and A. Yoshida (2015). "Jaw movement-related primary somatosensory cortical area in the rat." Neuroscience **284**: 55-64.

Viggiano, A., R. Manara, R. Conforti, A. Paccone, C. Secondulfo, L. Lorusso, L. Sbordone, F. Di Salle, M. Monda, G. Tedeschi and F. Esposito (2015). "Mastication induces long-term increases in blood perfusion of the trigeminal principal nucleus." Neuroscience **311**: 75-80.

Vitti, M. and J. V. Basmajian (1977). "Integrated actions of masticatory muscles: simultaneous EMG from eight intramuscular electrodes." Anat Rec **187**(2): 173-189.

Vornov, J. J. and J. Sutin (1986). "Noradrenergic hyperinnervation of the motor trigeminal nucleus: alterations in membrane properties and responses to synaptic input." J Neurosci **6**(1): 30-37.

Wang, F., N. A. Smith, Q. Xu, T. Fujita, A. Baba, T. Matsuda, T. Takano, L. Bekar and M. Nedergaard (2012). "Astrocytes modulate neural network activity by Ca²⁺-dependent uptake of extracellular K⁺." Sci Signal **5**(218): ra26.

Watson, C. (2012). The Somatosensory System. The Mouse Nervous System. A. Press: 563-570.

Watson, C., J. Provis and S. Herculano-Houzel (2012). "What determines motor neuron number? Slow scaling of facial motor neuron numbers with body mass in marsupials and primates." Anat Rec (Hoboken) **295**(10): 1683-1691.

Weijs, W. A. (1975). "Mandibular movements of the albino rat during feeding." J Morphol **145**(1): 107-124.

Weijs, W. A. (1994). Evolutionary approach of masticatory motor patterns in mammals.

Weijs, W. A. and R. Dantuma (1981). "Functional anatomy of the masticatory apparatus in the rabbit." Neth J Zool.: 99-147.

Weijs, W. A., P. J. Juch, S. H. Kwa and J. A. Korfage (1993). "Motor unit territories and fiber types in rabbit masseter muscle." J Dent Res **72**(11): 1491-1498.

Westberg, K., P. Clavelou, G. Sandstrom and J. P. Lund (1998). "Evidence that trigeminal brainstem interneurons form subpopulations to produce different forms of mastication in the rabbit." J Neurosci **18**(16): 6466-6479.

Westberg, K. G. and K. A. Olsson (1991). "Integration in trigeminal premotor interneurons in the cat. 1. Functional characteristics of neurones in the subnucleus-gamma of the oral nucleus of the spinal trigeminal tract." Exp Brain Res **84**(1): 102-114.

Westberg, K. G., G. Scott, K. A. Olsson and J. P. Lund (2001). "Discharge patterns of neurons in the medial pontobulbar reticular formation during fictive mastication in the rabbit." Eur J Neurosci **14**(10): 1709-1718.

Westneat, M. W. and W. G. Hall (1992). "Ontogeny of feeding motor patterns in infant rats: an electromyographic analysis of suckling and chewing." Behav Neurosci **106**(3): 539-554.

Widmalm, S. E., J. H. Lillie and M. M. Ash, Jr. (1988). "Anatomical and electromyographic studies of the digastric muscle." J Oral Rehabil **15**(1): 3-21.

Widmer, C. G., A. T. Bui and C. W. J. (1996). "Human masseteric nerve branching and innervation patterns." J Dent Res **75**.

Widmer, C. G., D. I. Carrasco and A. W. English (2003). "Differential activation of neuromuscular compartments in the rabbit masseter muscle during different oral behaviors." Exp Brain Res **150**(3): 297-307.

Widmer, C. G., D. Klugman and A. W. English (1997). "Anatomical partitioning and nerve branching patterns in the adult rabbit masseter." Acta Anat (Basel) **159**(4): 222-232.

Widmer, C. G. and J. Morris-Wiman (2010). "Limb, respiratory, and masticatory muscle compartmentalization: developmental and hormonal considerations." Prog Brain Res **187**: 63-80.

Windle, W. F. and A. M. Griffin (1931). "Observations on embryonic and fetal movements of the cat." J. Comp. Neurol. **52**(1): 149-188.

Yamada, Y. and K. Yamamura (1996). "Possible factors which may affect phase durations in the natural chewing rhythm." Brain Res **706**(2): 237-242.

Yasui, Y., K. Itoh, A. Mitani, M. Takada and N. Mizuno (1985). "Cerebral cortical projections to the reticular regions around the trigeminal motor nucleus in the cat." J Comp Neurol **241**(3): 348-356.

Yoshida, A., T. Hiraga, M. Moritani, K. Chen, Y. Takatsuki, Y. Hirose, Y. C. Bae and Y. Shigenaga (1998). "Morphologic characteristics of physiologically defined neurons in the cat trigeminal nucleus principalis." J Comp Neurol **401**(3): 308-328.

Yoshida, A., I. Taki, Z. Chang, C. Iida, T. Haque, A. Tomita, S. Seki, S. Yamamoto, Y. Masuda, M. Moritani and Y. Shigenaga (2009). "Corticofugal projections to trigeminal motoneurons innervating antagonistic jaw muscles in rats as demonstrated by anterograde and retrograde tract tracing." J Comp Neurol **514**(4): 368-386.

Yoshida, R., A. Iwamoto and T. Nagahama (2001). Calcium Imaging for Detection and Estimation of Spike Activities in Aplysia Neurons, BIOONE.