

Université de Montréal

**Transmission des voies olfactives aux cellules réticulospinales de la
lamproie**

par :

Elias Atallah

Département de physiologie

Faculté de Médecine

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

Août, 2011

©, Elias Atallah, 2011

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

Transmission des voies olfactives aux cellules réticulospinales de la lamproie

présenté par :

Elias Atallah

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dr. Arlette Kolta

président-rapporteur

Dr. Réjean Dubuc

directeur de recherche

Dr. Richard Robitaille

codirecteur

Dr. Marc Bélanger

membre du jury

RÉSUMÉ

Les informations olfactives sont connues pour leur capacité à induire des comportements moteurs spécifiques. En dépit de nombreuses observations comportementales chez les vertébrés, on ne connaît toujours pas les mécanismes et les voies nerveuses qui sous-tendent ces phénomènes de transformation olfacto-locomotrices. Chez la lamproie, des travaux récents ont permis de décrire cette voie, et les mécanismes responsables de la transformation des entrées olfactives en activité locomotrice (Derjean et al., 2010). Cette voie prend origine dans la partie médiane du bulbe olfactif, et envoie des projections vers le tubercule postérieur, une région qui se trouve dans le diencephale. De là, les neurones projettent directement vers la Région Locomotrice Mésencéphalique, connue pour envoyer des connexions vers les neurones réticulospinaux, et activer la locomotion.

L'objectif de cette étude était d'établir si l'ensemble des neurones réticulospinaux répond aux stimulations olfactives. Pour ce faire, nous avons utilisé sur une préparation de cerveau isolé de lamproie des techniques d'électrophysiologie et d'imagerie calcique.

La stimulation électrique des nerfs olfactifs, de la région médiane du bulbe olfactif ou du tubercule postérieur a provoqué une activation de toutes les cellules réticulospinales qui se retrouvent dans les quatre noyaux réticulaires (ARRN : Noyau Réticulaire Rhombencéphalique Antérieur; MRN : Noyau Réticulaire Mésencéphalique; MRRN : Noyau Réticulaire Rhombencéphalique Moyen; PRRN : Noyau Réticulaire Rhombencéphalique Postérieur). Seule la partie médiane du bulbe olfactif est impliquée dans le passage de l'information olfactive vers les neurones

réticulospinaux. Nous avons aussi découvert que le blocage des récepteurs GABAergiques dans la partie médiane du bulbe olfactif augmentait les réponses olfactives de façon considérable dans les cellules réticulospinales. Nous avons montré ainsi qu'il existe un tonus inhibiteur impliqué dans la dépression modulatrice de la voie olfacto-locomotrice.

Ce travail a permis de montrer que la stimulation des afférences sensorielles olfactives active simultanément l'ensemble des populations de neurones réticulospinaux qui commandent la locomotion. De plus, il existerait un tonus inhibiteur GABAergique, au niveau de la partie médiane du bulbe olfactif, responsable d'une dépression modulatrice dans la voie olfacto-locomotrice.

Mots-clés: Transformation olfacto-locomotrice, nerf olfactif, bulbe olfactif, tubercule postérieur, région locomotrice mésencéphalique, neurones réticulospinaux, tonus inhibiteur, lamproie, électrophysiologie, imagerie calcique.

ABSTRACT

Olfactory inputs are known for their ability to induce specific motor behaviors. Despite numerous behavioral observations in vertebrates, the mechanisms and the neural pathways underlying the olfactory-locomotor transformation are still unknown. In lamprey, recent studies have described this pathway and the mechanism underlying the transformation of olfactory input into a locomotor activity (Derjean et al., 2010). This pathway originates in the medial part of the olfactory bulb, sends projections to the posterior tuberculum, a diencephalic region. From there, the neurons project directly to the mesencephalic locomotor region that is known to send projections to the reticulospinal neurons to activate locomotion.

Using lamprey brain preparation, electrophysiology and calcium imaging, the aim of this study was to establish whether all reticulospinal neurons respond to olfactory stimuli. Electrical stimulation of the olfactory nerves, the medial part of the olfactory bulb or the posterior tuberculum activates all reticulospinal cells in the four reticular nuclei (ARRN: Anterior rhombencephalic reticular nucleus; MRN: middle mesencephalic reticular nucleus; MRRN: middle rhombencephalic reticular nucleus; PRRN: posterior rhombencephalic reticular nucleus). The medial part of the olfactory bulb is the only region that is implicated in transmitting the olfactory information to reticulospinal neurons. We also discovered that when blocking the GABAergic receptors in the medial part of the olfactory bulb, the reticulospinal neurons have a stronger response to olfactory stimulation. Thus we showed that a tonic inhibition is involved in the modulating depression of the olfacto-locomotor pathway.

Altogether, this work shows that stimulation of the olfactory sensory inputs activates simultaneously the entire population of reticulospinal neurons that control locomotion. In addition, there is a GABAergic tonic inhibition at the level of the medial part of the olfactory bulb that causes a modulating depression in the olfactory-locomotor pathway.

Keywords: Olfactory-locomotor transformation, olfactory nerve, olfactory bulb, posterior tuberculum, mesencephalic locomotor region, reticulospinal neurons, tonic inhibition, electrophysiology, calcium imaging.

TABLE DES MATIERES

RÉSUMÉ	iii
ABSTRACT	v
TABLES DES MATIÈRES	vii
LISTE DES FIGURES	x
LISTE DES ABREVIATIONS	xii
REMERCIEMENTS	xiv
INTRODUCTION	1
RECENSION DES ECRITS	6
A- Le système olfactif	6
1- Organisation de l'épithélium olfactif principal	7
1-1 Chez les mammifères	7
1-2 Chez la lamproie	9
2- Le bulbe olfactif	11
2-1 Neuromodulation dans le bulbe olfactif	14
2-2 Le bulbe olfactif chez la lamproie	18
3- Les centres supérieurs impliqués dans le traitement des informations olfactives	22
3-1 Chez les mammifères	22

3-2 Chez la lamproie	23
4- Le système voméronasal	24
4-1 Historique	24
4-2 Organisation générale du système voméronasal	26
4-3 Cas particulier de la lamproie	29
5- Le tubercule postérieur.....	32
B- La locomotion	34
1- Les Générateurs Centraux de Patrons	35
1-1 Description	35
1-2 Localisation anatomique des CPG	37
2- CPGs chez la lamproie	39
3- La formation réticulée chez les mammifères	41
4- Les cellules réticulospinales chez la lamproie	43
5- La région locomotrice mésencéphalique chez les mammifères	47
6- La région locomotrice mésencéphalique chez la lamproie	50
7- La région locomotrice diencéphalique chez la lamproie	53
OBJECTIFS.....	55
MATERIEL ET METHODES	57
Imagerie calcique.....	58
Électrophysiologie	59

Analyse des données et analyse statistique	60
Pharmacologie	61
RESULTATS	62
DISCUSSION	84
Considérations méthodologiques.....	84
Activation de populations de cellules RS	87
Modulation GABAergique	91
Perspectives	94
CONCLUSION	96
BIBLIOGRAPHIE	97

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Schéma montrant la voie nerveuse de la transformation d'un signal olfactif en locomotion.....	5
Figure 2: Schéma de l'organisation cellulaire de l'épithélium olfactif et du bulbe olfactif.....	13
Figure 3: Réponse calcique bilatérale des cellules réticulospinales du MRRN à la stimulation unilatérale du nerf olfactif.....	63
Figure 4: Réponse calcique bilatérale des cellules réticulospinales du MRRN à la stimulation unilatérale du bulbe olfactif.....	66
Figure 5: Identification des territoires du bulbe olfactif impliqués dans la transmission des entrées olfactives aux cellules RS du MRRN	68
Figure 6: La partie médiane du bulbe olfactif relaie les réponses dans les cellules RS du MRRN	70
Figure 7: Réponse électrique d'un neurone du MRRN à la stimulation du tubercule postérieur	72
Figure 8: Réponse calcique induite dans les quatre noyaux réticulaires suite à la stimulation du tubercule postérieur.....	74
Figure 9: Amplification de la réponse des cellules RS du MRRN par la gabazine	76
Figure 10: Apparition d'une réponse dans les cellules RS du MRRN sous gabazine.	78

Figure 11: Apparition d'une réponse dans les cellules RS du PRRN sous gabazine.	80
Figure 12: Potentialisation de la réponse calcique de l'ensemble des cellules RS à la stimulation du nerf olfactif après injection de gabazine dans le bulbe olfactif. ..	82
Figure 13: Quantification de l'augmentation de la réponse calcique des cellules RS à la stimulation du nerf olfactif, suite à une injection de gabazine dans la partie médiane du bulbe olfactif.	83

LISTE DES ABRÉVIATIONS

3kACA: 3-keto acide allocholique (7α , 12α -dihydroxy- 5α -cholan-3-one-24-oic-acid)

3kPZS : 3-keto pétromyzonol sulfate (7α , 12α , 24 -trihydroxy- 5α -cholan-3-one-24-sulfate)

$\Delta F/F$: Variation de fluorescence par rapport à la fluorescence basale

ACA : Acide allocholique (3α - 7α , 12α -trihydroxy- 5α -cholan-24-oic-acid)

AMPA : α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid

AMPc : Adénosine Monophosphate Cyclique

ARRN : Noyau Réticulaire Rhombencéphalique Antérieur

AP5 : Acide D, L-amino-5-phosphonopentanoïque

BOA : Bulbe Olfactif Accessoire

BNST : Noyau du lit de la strie terminale

CN : Noyau Cunéiforme

CNS : Système Nerveux Central

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

CPG : Générateur Central de Patron

DLR : Région Locomotrice Diencephalique

GABA : Acide Gamma-Aminobutyrique

GnRH : Gonadotropin-Releasing Hormone

HVA : Haut Voltage

LDT : Noyau Tegmentaire Latérodorsal

LVA : Bas Voltage

MLR : Région Locomotrice Mésencéphalique

MRF : Formation Réticulée Médullaire Médiane

MRN : Noyau Réticulaire Mésencéphalique

MRRN : Noyau Réticulaire Rhombencéphalique Moyen

NMDA : *N*-Methyl-D-Aspartate

NMDARs : Récepteurs *N*-Methyl-D-Aspartate

NRO : Neurones Récepteurs Olfactifs

OOA : Organe Olfactif Accessoire

PRRN : Noyau Réticulaire Rhombencéphalique Postérieur

PPN : Noyau Pédonculopontin

PZS : Pétromyzonol Sulfate (3α - 7α , 12α , 24-tetrahydroxy- 5α -cholan-24-sulfate)

RS : Réticulospinal

SN : Substance Noire

TAARs : Trace Amino-associated Receptors

V1R : Récepteurs Voméronasaux de Type 1

V2R : Récepteurs Voméronasaux de Type 2

VLV : Funiculus Ventrolatéral

VTA : Aire Tegmentaire Ventrale

REMERCIEMENTS

Je tiens d'abord à remercier mon directeur de recherche, le Dr. Rejean Dubuc pour m'avoir confié et donné l'opportunité de travailler sur un projet passionnant et pour tout son encadrement. Le Dr. Dubuc a une expérience extraordinaire dans le domaine de la recherche en science neurologique, et son support a toujours été une source d'inspiration et de motivation.

Je voudrais également remercier le Dr. Dominique Derjean et le Dr. Dimitri Ryczko pour leurs supervisions, leurs transmissions de conseils judicieux et leur énorme aide tout le long de la rédaction de ce mémoire. Je ne sais comment exprimer ma gratitude à ces deux personnes autrement qu'en leur promettant d'agir comme eux avec des étudiants dans ma situation, si un jour l'occasion m'en est donnée.

J'aimerais remercier le Dr. Richard Robitaille d'avoir bien voulu codiriger ces travaux de recherche.

Je tiens à exprimer ma gratitude à Mme Danielle Veilleux, au Dr. Laurent Juvin et François Auclair, pour leur grand support technique et scientifique. J'aimerais finalement remercier mes collègues de travail Frédéric Bernard, Kianoush Missaghi, Jean-François Gariépy, et le Dr. Gheylan Daghfous pour avoir rendu ce stage aussi agréable et dynamique.

INTRODUCTION

Les animaux utilisent l'olfaction dans différents contextes comportementaux, comme la recherche de nourriture, la communication sociale, ou la reproduction. Il est aussi possible d'induire des comportements moteurs, incluant la locomotion, par des stimulations du système olfactif chez plusieurs espèces (Fady et al., 1998 ; Varendi et al., 2001 ; Selset et al., 1980 ; Johnson et al., 2009). Ces réponses motrices stéréotypées, suggèrent un lien entre les entrées olfactives et les centres de commandes moteurs dans le système nerveux central (CNS). Le mécanisme neuronal qui sous-tend ce comportement olfacto-moteur a été décrit chez un nématode, *Caenorhabditis elegans* (Gray et al., 2005), mais demeure inconnu chez les vertébrés. Une étude récente a montré l'existence d'une voie olfacto-locomotrice sur une préparation *in vitro* de lamproie dans lequel le CNS était isolé (Derjean et al., 2010).

Les lamproies sont des vertébrés dépourvus de mâchoires, ayant divergés des autres lignées de vertébrés il y a environ 560 millions d'années (Thompson et al., 2008). Les larves naissent et se développent dans des ruisseaux sur une période pouvant aller jusqu'à 17 ans (Hardisty et al., 1971). Après métamorphose, les adultes migrent vers les lacs et les océans pour se nourrir en parasitant les autres poissons (Beamish et al., 1980). Les adultes sexuellement matures retournent vers les eaux douces pour la reproduction sous l'influence de signaux olfactifs de type phéromonal sécrétés par des lamproies au stade larvaire (Li et al., 1995). Les mâles migrent en premier, puis attirent à leur tour les femelles par des phéromones sexuelles (Applegate, 1950; Yun et al., 2003).

Comme modèle d'étude, le cerveau de la lamproie permet d'aborder des études physiologiques très difficiles à réaliser chez les mammifères (pour revue, voir Dubuc et al., 2008). Le tronc cérébral et la moelle épinière de la lamproie ont également un avantage par rapport à d'autres animaux pour les études *in vitro* puisqu'ils sont relativement transparents, ce qui facilite la visualisation des corps cellulaires et des axones à travers un stéréo-microscope.

Bien que des études anatomiques aient décrit partiellement le système olfactif de la lamproie (Northcutt et Puzdrowski, 1988), incluant les projections du bulbe olfactif vers le télencéphale et quelques projections vers le diencephale, le système de contrôle locomoteur de la lamproie est beaucoup mieux étudié. Les neurones réticulospinaux (RS) constituent le principal système descendant qui active les circuits locomoteurs dans la moelle épinière (Viana Di Prisco et al., 1997 ; Dubuc et al., 2008) et agissent en tant que neurones de commandes pour générer des mouvements locomoteurs. Puisque l'activité des neurones RS est un prérequis pour la production des mouvements, mesurer cette activité est un excellent outil pour étudier l'activation locomotrice chez la lamproie. Considérant ces avantages, une préparation *in vitro* a été développée (Derjean et al., 2010), dans laquelle le CNS est isolé avec l'épithélium olfactif, et le substrat neural de la transformation olfacto-locomotrice a pu être examiné à l'aide d'outils électrophysiologiques et anatomiques.

Il a également été montré que la stimulation des neurones sensoriels de l'épithélium olfactif par des substances odorantes, induit des dépolarisations maintenues dans les neurones RS chez la lamproie (Derjean et al., 2010). La stimulation électrique du nerf olfactif a induit une réponse excitatrice d'un neurone du Noyau Réticulaire Rhombencéphalique Moyen (MRRN), soit des côtés ipsi- et

contro-latéraux. Des animaux à plusieurs stades développementaux (larvaire, transformé, et adulte parasite) ont présenté des réponses similaires, ce qui montre que cette voie olfacto-locomotrice est présente dans tout le cycle de vie de la lamproie. Les stimulations chimique ou électrique du bulbe olfactif ont induit de la locomotion fictive. Celle-ci est caractérisée par une activité rythmique coordonnée et alternée entre les racines ventrales droite et gauche du même segment spinal. Des expériences de traçage anatomique rétrograde et antérograde ont permis d'identifier les projections nerveuses du bulbe olfactif vers le tubercule postérieur. Cette dernière structure est une région diencephalique connue pour projeter vers la Région Locomotrice Mésencéphalique (MLR) chez la lamproie (Ménard et al., 2007). Les stimulations électrique ou chimique du tubercule postérieur suggèrent que cette voie nerveuse, qui relie la partie médiane du bulbe olfactif au tubercule postérieur est glutamatergique, et qu'elle est impliquée dans le déclenchement de la locomotion suite à un signal olfactif de type phéromonal.

Ces résultats constituent la première description d'un substrat neuronal sous-tendant la transformation des signaux olfactifs en commande motrice. Le chemin neural prend origine dans la partie médiane du bulbe olfactif et projette vers le tubercule postérieur dans le diencephale. De là, la projection vers la MLR est connue pour envoyer des projections vers les neurones RS (Sirota et al., 2000), qui en retour activent les circuits locomoteurs spinaux (Derjean et al., 2010) (**Fig. 1**).

Les études électrophysiologiques réalisées dans le passé ont montré que la stimulation des voies olfactives induisait des réponses bilatérales au niveau de quelques grosses cellules RS du MRRN. Toutefois, il reste à déterminer si cette stimulation olfactive active l'ensemble des neurones RS, de petit ou de gros calibre,

responsables de l'initiation et du contrôle de la locomotion. De même, l'existence d'un mécanisme de modulation, qui pourrait amplifier ou masquer la transmission de cette voie olfacto-locomotrice, est encore obscure.

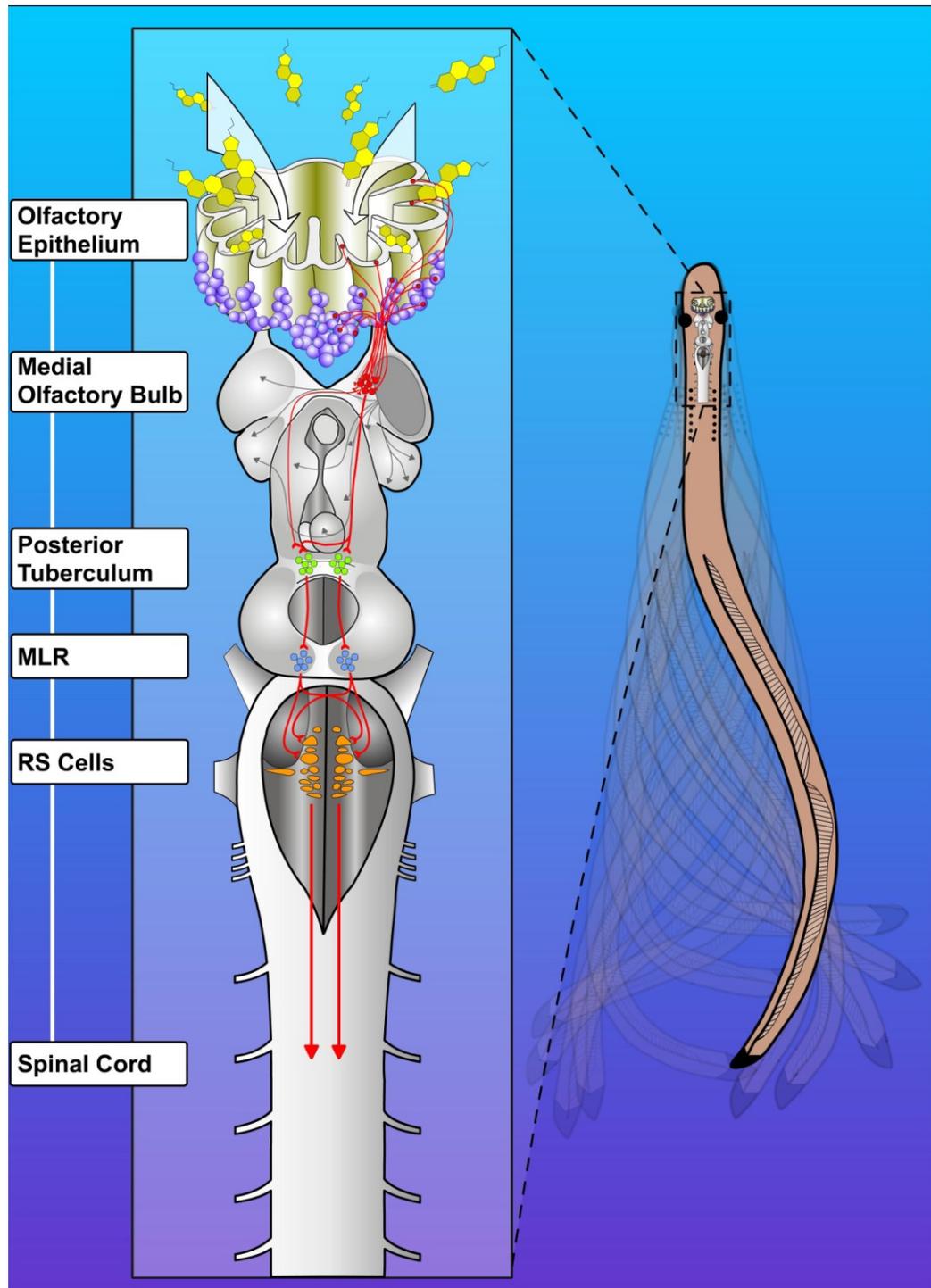


Figure 1: Schéma montrant la voie nerveuse de la transformation d'un signal olfactif en locomotion. Les informations olfactives passent par la région médiane du bulbe olfactif, et seront acheminées vers le tubercule postérieur, et de là vers la Région Locomotrice Mésencéphalique avant d'atteindre les neurones réticulospinaux et activer la locomotion.

RECENSION DES ÉCRITS

A- Le système olfactif:

Le système sensoriel olfactif est constitué par l'ensemble des neurones récepteurs sensoriels périphériques, les voies nerveuses, ainsi que les parties du cerveau responsables du traitement et de l'intégration de l'information olfactive.

Le système est dédié à la détection des odeurs provenant de l'environnement, qu'elles soient véhiculées par l'air pour les espèces terrestres, ou par l'eau pour les espèces aquatiques. Il a un rôle important dans la vie quotidienne des animaux comme lors de la recherche de nourriture, la détection puis la fuite face à un prédateur, mais également pour de nombreuses interactions sociales comme la délimitation du territoire, la reconnaissance des autres individus, ou lors des périodes d'accouplement.

Le neurone récepteur périphérique situé sur l'épithélium olfactif permet de détecter la présence de substances odorantes dans l'environnement, et de transformer ainsi un signal olfactif, en signal électrique, qui sera acheminé vers le cerveau. De la diversité des récepteurs au niveau de l'épithélium dépend ainsi la capacité de détecter efficacement les odeurs environnantes. Actuellement, deux systèmes olfactifs ont été décrits chez les vertébrés: 1) le système olfactif principal, qui est constitué de l'épithélium olfactif principal projetant vers le bulbe olfactif principal. Ce système serait dédié à la détection et à la perception des odeurs en général (Wyatt, 2003). 2) Le système olfactif accessoire, constitué de l'organe olfactif accessoire ou organe voméronasal, et projetant vers le bulbe olfactif accessoire. Ce système a été initialement décrit comme permettant la détection des phéromones (Wyatt, 2003).

1- Organisation de l'épithélium olfactif principal

1-1 Chez les mammifères:

L'épithélium nasal est composé de neurones récepteurs olfactifs, de cellules basales et de cellules de soutien. La morphologie des neurones récepteurs olfactifs a été étudiée depuis le milieu du 19^e siècle (Schultze 1856; 1863). Chez les vertébrés, ces neurones ont une forme bipolaire, avec un corps cellulaire de petite taille, un unique dendrite pourvu de cils et de microvillosités du côté apical, et un axone de petit calibre non-myélinisé qui projette vers le bulbe olfactif, du côté basal. Les cils et microvillosités apicaux sont situés dans une épaisse couche de mucus produite par les cellules glandulaires des glandes de Bowman. Cet environnement aqueux joue un rôle important dans le processus de captation et de diffusion des molécules olfactives par sa composition moléculaire et ionique stabilisatrice (pour revue, voir Getchell et al. 1984).

La détection des odorants débute par la liaison d'une molécule olfactive sur un récepteur spécifique ancré sur la membrane apicale des neurones récepteurs olfactifs. Chaque neurone exprime un seul type de récepteur olfactif, et les neurones olfactifs exprimant la même famille de récepteurs sont regroupés dans une même zone de l'épithélium nasal (Ressler et al., 1993; Vassar et al., 1993). Ces récepteurs olfactifs appartiennent à la famille des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G (pour revue, voir Su et al., 2009).

Le génome des mammifères contient environ 250 à 1200 gènes codant pour les récepteurs olfactifs (Niimura et Nei, 2007). De cette grande diversité de répertoire de récepteurs dépend la capacité de détection et de discrimination d'un grand nombre

d'odorants que rencontrent les animaux dans leur environnement. Lorsque les récepteurs olfactifs sont activés par leurs ligands, les neurones olfactifs transforment ce signal chimique en activité électrique.

Il existe une grande variation génétique des récepteurs olfactifs entre les différentes espèces des mammifères. Cette variation génétique lorsqu'elle est présente chez l'Homme, contribue aux différences de perception entre chaque individu, puisque la perception d'une odeur spécifique varie d'une personne à l'autre. Ainsi, un individu peut être totalement anosmique, ou bien, plus ou moins sensible à une odeur particulière (Hasin-Brumshtein et al., 2009). Une odeur peut également être perçue selon différents seuils de détections. Dans d'autre cas, une odeur peut acquérir une qualité perceptuelle altérée. Des études récentes ont montré les différences dans la sensibilité à l'androstérone, au stéroïde, et à l'acide isovalerique qui a une odeur sucrée, ces différences peuvent être attribuées au moins en partie au polymorphisme dans deux gènes codants pour des récepteurs olfactifs spécifiques (Keller et al., 2007; Menashe et al., 2007). Ces récepteurs olfactifs détectent les odeurs provenant de la nourriture et de l'environnement et ont comme fonction la reconnaissance et la discrimination des odeurs et l'attraction et la répulsion vers une odeur donnée.

Certains neurones récepteurs olfactifs expriment les *Trace Amino-associated Receptors* (TAARs), qui répondent à des amines volatiles provenant des urines, impliqués dans la détection des signaux sociaux (Fleischer et al., 2007; Liberles et Buck, 2006). Chez les souris, il existe à peu près 15 gènes pour les TAARs. On trouve aussi les TAARs dans le génome de tous les vertébrés examinés jusqu'à présent (Hashiguchi et Nishida, 2007).

1-2 Chez la lamproie:

Le système olfactif de la lamproie est fonctionnel tout au long du cycle de vie de l'animal. En effet, il a été montré que la perfusion de substances odorantes sur l'épithélium olfactif induit une augmentation de l'activité des neurones récepteurs olfactifs aussi bien chez la larve que chez les adultes (Kleerekoper et Mogensen, 1963; Teeter, 1980; Li et al., 1995; Zielinski et al., 1996).

Chez la lamproie au stade larvaire, la muqueuse olfactive contenant les neurones récepteurs olfactifs est localisée dans la surface latéro-caudale de la cavité nasale (VanDenbossche et al., 1995). Chez les spécimens adultes, une valve sépare le tube nasal de l'organe olfactif. La cavité nasale est une large structure capsulaire contenant plusieurs plis épithéliaux (Kleerekoper et van Erkel., 1960), et comprend une narine unique, un tube nasal où se situent l'épithélium olfactif et la poche nasopharyngienne (Hagelin et Johnels 1955; VanDenbossche et al., 1995).

Comme chez d'autres vertébrés, les neurones récepteurs olfactifs des lamproies sont bipolaires. Leurs axones baignent dans la muqueuse de la cavité nasale. Ces neurones récepteurs olfactifs sont ciliés (pour revue, voir VanDenbossche et al., 1997). Des études récentes de marquage rétrograde à partir du bulbe olfactif ont montré que les neurones récepteurs olfactifs de la lamproie sont polymorphes comme ceux des poissons téléostéens (Laframboise et al., 2007). Trois types de neurones récepteurs olfactifs ont ainsi été décrits en se basant sur la profondeur de leur corps cellulaire dans l'épithélium olfactif comme critère de classification (Laframboise et al., 2007): les longs, les courts, et les neurones de taille intermédiaire. Les longs neurones possèdent un corps cellulaire localisé en position basale dans l'épithélium,

ainsi que de longues dendrites. Ces neurones sont les morphotypes majoritaires et sont rencontrés sur l'ensemble de l'épithélium olfactif. Ils seraient l'équivalent des neurones ciliés observés chez les poissons téléostéens. Deux sous-types de longs neurones ont été décrits chez la lamproie: les neurones longs et fins qui possèdent des dendrites dont le diamètre correspond à environ la moitié de la largeur des corps cellulaires, et les neurones longs et épais qui ont des dendrites dont le diamètre est sensiblement identique à la largeur du soma.

Les neurones récepteurs olfactifs intermédiaires possèdent des corps cellulaires fusiformes, et sont localisés dans la région moyenne de l'épithélium. Ces neurones de taille intermédiaire ont des axones visibles, et des dendrites ayant un renflement apical avec de courtes projections qui ressemblent à des microvilli. De par leur localisation et leur forme, ces neurones pourraient correspondre aux neurones à microvillosités observés chez les autres espèces de poissons (Laframboise et al., 2007).

Les courts neurones récepteurs olfactifs ont un corps cellulaire de forme ovoïde et sont rencontrés dans la couche superficielle apicale de l'épithélium olfactif. Généralement, ces cellules ne possèdent pas de projection dendritique apicale, et leur surface membranaire apicale n'entre pas en contact avec le mucus nasal. Ils seraient l'équivalent des neurones récepteurs olfactifs cryptiques observés chez les poissons téléostéens (Laframboise et al., 2007). Ces trois types de neurones récepteurs olfactifs sont rencontrés aussi bien chez l'animal adulte que ceux en cours de transformation. L'ensemble de ces études anatomiques chez la lamproie montre que le caractère polymorphique des neurones récepteurs olfactifs semble être une particularité physiologique apparue très tôt chez les vertébrés.

2- Le bulbe olfactif:

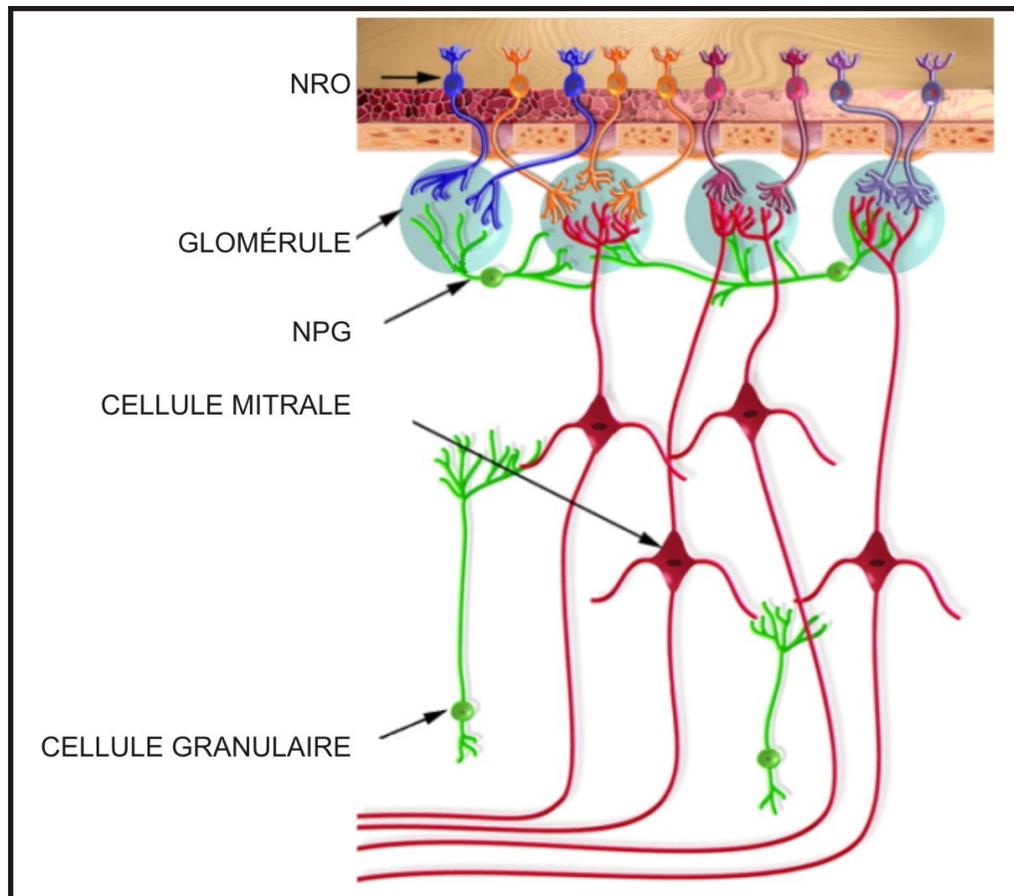


Figure 2: Schéma de l'organisation cellulaire de l'épithélium olfactif et du bulbe olfactif. Au sein de chaque glomérule (en bleu), les axones de neurones récepteurs olfactifs portant le même type de récepteur membranaire contactent les dendrites apicales de cellules mitrales. Les cellules mitrales vont ensuite projeter vers les centres nerveux de traitement de l'information olfactive grâce à leurs axones qui forment le tractus olfactif. Des interneurons inhibiteurs GABAergiques (en vert) permettent de mettre en place une inhibition latérale nécessaire à la discrimination des odeurs. NRO: Neurone Récepteur Olfactif; NPG: Neurone Périglomérulaire. (Modifié de Adam et Mizrahi, 2010).

Le bulbe olfactif représente le premier relai de projection des neurones récepteurs olfactifs (**Fig. 2**). Il s'agit d'une structure qui fait l'interface entre les neurones récepteurs et les centres nerveux traitant l'information sensorielle olfactive.

En quittant l'épithélium olfactif, les axones des neurones récepteurs olfactifs (NRO) se réunissent et forment le nerf olfactif (nerf I). Les neurones récepteurs olfactifs qui expriment les mêmes types de récepteurs convergent vers un ou deux glomérules du bulbe olfactif (Maresh et al., 2008). Cette particularité de projection entraîne donc une organisation topographique fonctionnelle des glomérules dans le bulbe olfactif (Klenoff et Van Erkel, 1998). Le ratio de convergence est de 5000 neurones récepteurs olfactifs par glomérule chez les rongeurs. Cette convergence élevée vers une structure glomérulaire permet d'augmenter la sensibilité de détection cellulaire dans le bulbe olfactif et garantir ainsi la détection des odeurs. Ce grand ratio de convergence permet une intégration et une amplification des signaux de faible amplitude. Il a aussi été proposé que ceci se traduirait aussi par un plus haut rapport signal/bruit (pour revue voir Su et al., 2009).

Au sein des glomérules, les axones des neurones récepteurs olfactifs entrent en contact avec les dendrites des cellules mitrales, qui sont les principaux neurones de relais du bulbe olfactif. Chaque cellule mitrale reçoit ainsi des afférences excitatrices d'un seul type de neurone récepteur olfactif, exprimant un seul type de récepteur. Les neurones récepteurs olfactifs qui expriment différents récepteurs projettent leurs axones vers des glomérules différents dans le bulbe olfactif. Les dendrites apicales des cellules mitrales sont généralement localisées dans un seul glomérule. L'activité de ces cellules mitrales est régulée par des interneurons locaux qui permettent la communication à l'intérieur du même glomérule, et entre chaque glomérule. Chez les

mammifères, il existe deux types d'interneurones localisés dans deux couches distinctes du bulbe olfactif:

1) Les cellules périglomérulaires de la couche glomérulaire : ces cellules reçoivent des afférences directes des axones des neurones récepteurs olfactifs et forment des synapses inhibitrices sur les axones des neurones récepteurs olfactifs dans le même glomérule (pour revue voir Shepherd et al., 2007 ; Wilson et Mainen, 2006), fournissant ainsi une rétro-inhibition intra-glomérulaire. La capacité d'inhibition de ces neurones n'est pas influencée par l'entrée sensorielle reçue par l'intermédiaire des neurones récepteurs olfactifs (Pirez et Wachowiak, 2008).

2) La couche des cellules granulaires (ou couche externe plexiforme): cette couche est plus profonde que la couche glomérulaire. À ce niveau, les cellules granulaires forment des synapses dendro-dendritiques inhibitrices sur les cellules mitrales de plusieurs glomérules et jouent un rôle d'intermédiaire dans le transfert d'informations entre les glomérules. Ces contacts dendro-dendritiques entre les cellules mitrales et les cellules granulaires sont réciproques. Localement, les cellules mitrales vont créer un signal excitateur glutamatergique qui va se propager vers les cellules granulaires. Réciproquement les cellules granulaires répliqueront par un signal inhibiteur GABAergique qui sera capté par les dendrites des cellules mitrales (pour revue, voir Shepherd et al., 2007; Wilson et Mainen, 2006; Schoppa et Westbrook, 1999).

Il est intéressant de noter que les cellules mitrales possèdent également des conductances intrinsèques permettant de moduler le signal acheminé par les neurones récepteurs olfactifs (Balu et al., 2004; Rubin et Cleland, 2006).

2-1 Neuromodulation dans le bulbe olfactif :

Le signal olfactif perçu par les neurones récepteurs olfactifs subit généralement plusieurs traitements au niveau du bulbe olfactif avant d'être acheminé vers les centres nerveux supérieurs. En premier lieu, les interneurones sont capables de moduler la transmission synaptique au niveau de la jonction entre les neurones récepteurs olfactifs et les cellules mitrales (Wachowiak et Cohen, 1999; Aroniadou-Anderjaska et al., 2000; Ennis et al., 2001; McGann et al., 2005; Vucinic et al., 2005; Wachowiak et al., 2005). En effet, ces interneurones inhibiteurs sont capables de supprimer la libération de neurotransmetteurs par les neurones récepteurs olfactifs, en inhibant le potentiel d'action provoqué par l'influx de calcium dans la terminaison présynaptique (Wachowiak et Cohen, 1999; Wachowiak et al., 2005). Ainsi, la modulation de la force des entrées sensorielles olfactives primaires au niveau présynaptique permet de façonner l'encodage des odeurs dans le cerveau.

Les propriétés fonctionnelles de base de l'inhibition présynaptique des neurones récepteurs olfactifs par l'intermédiaire des récepteurs GABA_B ont été caractérisées. Chez les mammifères, le GABA libéré par les interneurones périglomérulaires supprime les entrées des neurones récepteurs olfactifs en activant les récepteurs GABA_B situés sur les terminaisons axonales des neurones récepteur olfactifs (Nickell et al., 1994; Bonino et al., 1999; Kratskin et al., 2006). Dans des préparations de tranches du bulbe olfactif, cette voie semble être le principal médiateur de l'inhibition présynaptique provoquée par le stimulus (Aroniadou-Anderjaska et al., 2000; McGann et al., 2005; Wachowiak et al., 2005). *In vivo*, l'inhibition induite par les récepteurs GABA_B module la force des entrées olfactives

vers le bulbe olfactif (McGann et al., 2005). Pérez et Wachowiak (2008) ont montré que la régulation de la force des entrées au bulbe olfactif provoquée *in vivo* par les récepteurs GABA_B est indépendante de la distribution spatiale des glomérules activés, de la fréquence de reniflement utilisée pour échantillonner les molécules odorantes, et possède une magnitude similaire pour les fortes ou faibles entrées encodées par les neurones récepteurs olfactifs. L'inhibition tonique présynaptique joue un rôle important dans la régulation de la force des entrées des neurones récepteurs olfactifs. Cette inhibition présynaptique peut moduler l'intensité des entrées sensorielles vers le bulbe olfactif, en fonction de l'état comportemental de l'animal (Pérez et Wachowiak, 2008).

Le fonctionnement du bulbe olfactif est particulier dans la mesure où il existe un filtrage du signal entre chaque glomérule. Ainsi, une forte activation d'un glomérule, supprimera ou masquera les activités plus faibles des glomérules adjacents, grâce à une inhibition latérale (Mori et al., 1999 ; Urban, 2002 ; Shepherd et al., 2007 ; Arevian et al., 2008). Une telle fonction, analogue aux mécanismes de filtrage du signal observés dans d'autres systèmes sensoriels (Kuffler, 1953 ; Yang et al., 1992), pourrait être impliquée dans les mécanismes d'amplification du contraste olfactif (Yokoi et al., 1995).

Un mécanisme alternatif pour le filtrage des signaux olfactifs implique le traitement local synaptique au sein d'un même glomérule. Les cellules périglomérulaires GABAergiques pourraient être responsables de ce mécanisme (Panzanelli et al., 2007). Les cellules périglomérulaires peuvent être activées par plusieurs mécanismes excitateurs dans un glomérule, y compris les entrées directes à partir des neurones récepteurs olfactifs (Pinching et Powell, 1971; Hayar et al.,

2004b; Murphy et al., 2004). Elles fournissent généralement des afférences GABAergiques au sein du même glomérule qui reçoit des afférences des neurones récepteurs olfactifs. Ainsi, les cellules périglomérulaires peuvent faire partie d'un circuit local d'auto-inhibition, dans lequel les afférences des neurones récepteurs olfactifs déclenchent l'inhibition au sein du même glomérule. De plus les cellules périglomérulaires sont des petites cellules (5-8 μm : diamètre du corps cellulaire) avec une haute résistance aux afférences ($\sim 1 \text{ G}\Omega$) (Puopolo et Belluzzi, 1998; Smith et Jahr, 2002), suggérant qu'elles peuvent être activées par des faibles entrées des neurones récepteurs olfactifs. Cet effet pourrait être important pour le filtrage préférentiel des faibles signaux olfactifs. Des études sur des tranches de bulbe olfactif ont montré que les réponses des cellules mitrales à l'activation du nerf olfactif sont dominées par une dépolarisation de 10 mV de longue durée (Carlson et al., 2000; Schoppa et Westbrook, 2001). Cette dépolarisation étant initiée dans les glomérules, l'inhibition GABAergique fournie localement par les cellules périglomérulaires pourrait contrôler l'amplitude et la durée de ces dépolarisations.

La plupart des interactions synaptiques dans le bulbe olfactif surviennent sur des synapses dendrodendritiques. Les cellules mitrales font des contacts synaptiques dendrodendritiques avec les neurones périglomérulaires GABAergiques dans le glomérule. Des synapses dendrodendritiques réciproques lient les dendrites latérales des cellules mitrales et les cellules granulaires dans la couche externe plexiforme (Shepherd et Greer, 1998). Ces dernières synapses assurent une base pour l'inhibition latérale et l'auto-inhibition (Brennan et Keverne, 1997 ; Yokoi et al., 1995). De plus, l'auto-inhibition dendrodendritique contribue probablement à réguler le patron

temporel de l'activité des cellules mitrales provoquée par les odorants (Spors et Grinvald, 2002; Cang et Isaacson, 2003; Margrie et Schaefer, 2003).

Les récepteurs *N*-Methyl-D-aspartate (NMDARs) possèdent un rôle important dans la libération de GABA au sein des dendrites des cellules granulaires. (Isaacson et Strowbridge, 1998 ; Chen et al., 2000 ; Schoppa et al., 1998 ; Halabisky et al., 2000). Des études ont suggéré que l'influx de calcium à travers ces récepteurs provoque directement l'exocytose de GABA (Chen et al., 2000 ; Halabisky et al., 2000). Par ailleurs, il a été proposé que la cinétique lente des NMDARs est indispensable pour amener les dendrites au seuil d'activation des canaux calciques voltage-dépendants qui provoquent la libération synaptique du GABA (Isaacson et Strowbridge, 1998 ; Schoppa et al., 1998 ; Isaacson, 2001).

La relâche dendritique du GABA implique aussi les canaux calciques activés par un haut voltage (HVA) de type N ou P/Q et les canaux calciques activés par un bas voltage (LVA) de type T (Isaacson, 2001; Egger et al., 2003). Les canaux ioniques qui font rentrer du calcium dans la cellule sont directement responsables de la libération dendritique du GABA; la nécessité d'avoir un potentiel d'action n'est pas encore établie (Isaacson, 2001; Egger et al., 2003).

Les relations synaptiques entre les cellules mitrales et les cellules granulaires présentent des similarités avec celles existant entre les cellules mitrales et les cellules périglomérulaires. Anatomiquement, les synapses entre les dendrites des cellules mitrales et les épines dendritiques des cellules périglomérulaires (White, 1973 ; White, 1972 ; Pinching et Powell, 1971) semblent être pratiquement identiques aux contacts dendrodendritiques entre les cellules mitrales et les cellules granulaires (Price et Powell, 1970). De plus, l'excitation provoquée par les NMDARs des

cellules périglomérulaires provoque des inhibitions prolongées des cellules touffues externes à la synapse dendrodendritique dans les glomérules, comme c'est le cas des cellules mitrales et des cellules granulaires dans la couche plexiforme externe (Christie et al., 2001).

L'ensemble de ces données montre que le bulbe olfactif joue un rôle très important dans le traitement de l'information sensorielle provenant des neurones récepteurs olfactifs (Shepherd et Greer, 1998). A ce niveau, des processus importants de filtrage du signal ainsi que d'amplifications ont lieu afin de permettre une meilleure identification et discrimination d'une odeur.

2-2 Le bulbe olfactif chez la lamproie :

Chez la lamproie, le bulbe olfactif correspond à la partie saillante rostrale du lobe latéral. Il est séparé de la portion caudale, le pallium latéral, par un sillon peu profond qui correspondrait au pédoncule olfactif. Le bulbe olfactif présente une organisation laminaire. Ainsi, on distingue de la périphérie vers l'intérieur : i) la couche des fibres olfactives; ii) la couche des glomérules olfactifs contenant le corps cellulaire des cellules mitrales; iii) la couche des cellules granulaires; iv) la couche des cellules épendymaires (Iwahori et al., 1987).

La première couche est la plus périphérique. Elle est formée de fibres olfactives organisées en faisceaux. Ces fibres forment un plexus très dense autour du bulbe olfactif, et projettent vers les glomérules, en formant des varicosités libres.

La deuxième couche est composée de glomérules olfactifs entourés par plusieurs cellules mitrales. Un glomérule contient les arborisations terminales des

fibres olfactives, les dendrites de cellules mitrales, ainsi que les prolongements de cellules granulaires et épendymaires. En se basant sur des critères anatomiques, deux types de cellules mitrales ont été décrits (Iwahori et al., 1987): les cellules mitrales de type I qui sont fusiformes, et les cellules de type II dont le soma est en général triangulaire ou polygonal. Ces deux types de cellules ne possèdent pas de patrons de distribution particuliers. Les cellules mitrales reçoivent généralement les informations sensorielles en provenance d'un seul glomérule olfactif. Il peut cependant exister des cas exceptionnels où leurs dendrites sont connectées à deux, voir plusieurs glomérules à la fois.

La troisième couche, plus en profondeur dans le bulbe olfactif, correspond à la couche des cellules granulaires. Elle occupe environ les deux-tiers du rayon du bulbe olfactif. Ces cellules sont de petite taille et empaquées d'une façon assez dense. Leurs corps cellulaires sont fusiformes ou triangulaires et sont connectés à plusieurs glomérules olfactifs (6 à 9). Parfois, plusieurs cellules granulaires peuvent converger vers un seul glomérule.

La quatrième couche, comprenant les cellules épendymaires, tapisse le ventricule olfactif dans la partie la plus profonde du bulbe olfactif. Les cellules épendymaires possèdent un axone qui s'oriente perpendiculairement à la surface du ventricule, et projettent vers les glomérules, ou vers la surface du bulbe olfactif.

Frontini et ses collaborateurs (2003) ont observé qu'il existe une organisation spatiale des territoires glomérulaires chez la lamproie. Ces territoires comprennent le groupe dorsal, l'anneau dorsal, le plexus antérieur, la chaîne latérale, les glomeruli médians, l'anneau ventral, et le groupe ventral. Le groupe dorsal contient 6 à 10 glomérules. L'anneau dorsal, arrangé sous forme de patron circulaire le long du bord

médian, antérieur et latéral, contient approximativement 7 à 10 glomérules. L'anneau ventral est situé ventralement au nerf olfactif et contient 10 à 14 glomérules. Le groupe ventral englobe 7 à 10 glomérules. Trois glomérules médians sont localisés derrière la jonction du nerf et du bulbe olfactif. Ces trois glomérules sont : l'antérieur radial, le postérieur radial et un troisième qui fait face à la commissure antérieure (Frontini et al., 2003). Les glomeruli dorsaux, antérieurs, latéraux et ventraux, excluant les médians, contiennent des terminaisons issues des neurones olfactifs contenant une protéine typiquement associée aux fibres des neurones olfactifs chez les vertébrés (la protéine AMPc dépendante G_{olf}). Par ailleurs, certains glomérules situés dorsalement montrent une proximité avec des fibres sérotoninergiques. Ces différents territoires suggèrent qu'il existerait une organisation spatiale du transfert de l'information olfactive au sein du bulbe olfactif.

Chez la lamproie, le GABA est utilisé dans plusieurs régions du CNS. Menlédez-Ferro et ses collaborateurs (2001) ont étudié la distribution de ce neurotransmetteur dans le bulbe olfactif de la lamproie. Ils ont observé cinq types de cellules qui sont immunoréactives au GABA: les cellules de taille moyenne (cellules périglomérulaires) localisées autour et occasionnellement dans les glomérules olfactifs. Dans les couches plus profondes du bulbe et autour du ventricule se trouvent quelques cellules de taille moyenne et plusieurs petites cellules (granules). Autour du ventricule olfactif, se trouvent quelques cellules de taille moyenne. À l'entrée du nerf olfactif, des cellules de taille moyenne et bipolaires sont présentes entre le nerf olfactif et les couches glomérulaires ou proches des méninges, et quelques cellules dans la portion intra-crânienne du nerf olfactif. De plus, ils ont observé aussi des cellules GABAergiques dans la commissure dorsale interbulbaire.

Des études plus récentes ont montré que les neurones immunoréactifs au GABA les plus rostraux se trouvent au niveau de l'entrée du nerf olfactif dans le bulbe olfactif chez la lamproie (Robertson et al., 2007). La plupart des cellules GABAergiques identifiées dans la couche granulaire du bulbe olfactif correspondent vraisemblablement à des cellules granulaires. Elles constituent la majeure partie des interneurons GABAergiques locaux décrits chez plusieurs espèces de vertébrés tels que les poissons téléostéens (Martinoli et al., 1990; Médina et Reiner, 1994), les amphibiens (Hamilton, 1992; Hollis et Boyd, 2005), les oiseaux (Domenici et al., 1988; Veenman et Reiner, 1994), et les mammifères (Ribak et al., 1977; Mugnaini et al., 1984; Ottersen et Storm-Mathisen, 1984).

Des travaux d'anatomie préalablement effectués dans le laboratoire du professeur Dubuc ont montré que le neurotransmetteur GABA est présent dans le bulbe olfactif tout au long du cycle de vie de la lamproie. Cependant, la densité neuronale GABAergique diminue chez les lamproies reproductrices en fin de vie (Robertson et al., 2007). La distribution similaire de GABA chez la lamproie par rapport aux autres animaux nous permet de suggérer que ce neurotransmetteur pourrait également jouer un rôle modulateur important dans la transmission des informations olfactives au niveau du bulbe olfactif, et notamment, dans la transmission olfacto-locomotrice que nous avons récemment décrit chez la lamproie (Derjean et al., 2010).

3- Les centres supérieurs impliqués dans le traitement des informations olfactives :

3-1 Chez les mammifères :

Chez les mammifères, les neurones de deuxième ordre (cellules mitrales) innervent plusieurs régions cérébrales. Dans ces régions, l'information olfactive est intégrée avec des informations provenant d'autres modalités sensorielles, ou encore mémorisées lors d'événements antérieurs, ainsi que d'informations concernant l'état comportemental de l'animal. Tout cet ensemble façonne la perception olfactive à un moment donné et permet de conditionner la réponse physiologique adéquate.

Les axones des cellules mitrales conduisant les informations sensorielles olfactives sortent du bulbe olfactif par un faisceau nerveux, nommé tractus olfactif latéral. Ces fibres projettent directement vers les neurones pyramidaux du cortex olfactif. Ce cortex est composé par l'assemblage de plusieurs régions distinctes, dont le cortex piriforme, le tubercule olfactif, le noyau olfactif antérieur et certaines parties de l'amygdale et du cortex entorhinal (Polenova et Vesselkin, 1993; Balu et al., 2007). Ainsi, contrairement à la plupart des autres systèmes sensoriels, les signaux olfactifs ne transitent pas par le thalamus avant d'atteindre le cortex.

Le codage des odeurs a été analysé dans les neurones pyramidaux du cortex piriforme : un stimulus olfactif provoque des réponses à partir de seulement une petite fraction de neurones dispersés spatialement et ces réponses consistent en quelques potentiels d'action. En outre, chaque neurone du cortex olfactif répond à un nombre limité d'odeurs. Contrairement aux cellules mitrales dont l'activité est induite par un seul type de récepteur olfactif, les neurones du cortex olfactif reçoivent des

projections synaptiques de plusieurs cellules mitrales (Franks et Isaacson, 2006). Ainsi, il existe une convergence de l'information sensorielle olfactive au niveau du cortex, puisque les neurones du cortex olfactif reçoivent les afférences de plusieurs glomérules et donc de plusieurs récepteurs olfactifs. Les neurones pyramidaux du cortex olfactif agissent comme des détecteurs de coïncidences: ils ne s'activent que lorsqu'un certain nombre de cellules mitrales sont activées de façon synchrone. Cette synchronie d'activation des cellules mitrales est requise pour permettre de surmonter l'inhibition générée par les interneurones locaux également activés par les substances odorantes. Comme il est rare qu'une odeur individuelle puisse activer la combinaison précise de récepteurs olfactifs nécessaires à l'activation d'un seul neurone pyramidal, très peu de neurones pyramidaux sont activés *in fine*. Même si deux odorants différents peuvent activer en partie les mêmes glomérules dans le bulbe olfactif, leurs représentations dans les régions corticales sont distinctes (pour revue, voir Su et al., 2009).

3-2 Chez la lamproie :

Les structures cibles des projections caudales du bulbe olfactif de la lamproie n'ont été que très peu étudiées jusqu'à maintenant. Les études préliminaires de marquages antérogrades à la peroxydase de raifort ont permis d'identifier les structures cérébrales recevant des projections du bulbe olfactif chez cette espèce (Polenova et Vesselkin, 1993). Les injections ont été réalisées dans les régions dorsales, dorso-latérales et ventrales du bulbe olfactif. Les injections dorso-latérales ont marqué le pallium dorsal ipsilatéral et le pallium piriforme. Quelques fibres

projettent dans le neuropile de l'hippocampe primordial. Les injections dorsales ont marqué le pallium dorsal et piriforme. Les injections ventrales ont marqué le pallium piriforme uniquement. Les fibres olfactives secondaires arrivent jusqu'au pallium dorsal et piriforme, et à l'aire médioventrale de l'hémisphère cérébral. Les fibres sortant du bulbe olfactif arrivent au diencéphale et passent par la *stria medullaris* dorsale, le thalamus ventral et l'hypothalamus. D'autres fibres entrent dans la commissure et le noyau de l'habenula et après décussation, elles forment deux faisceaux : un premier qui projette vers l'aire palliale controlatérale et un second qui projette vers le thalamus ventral ainsi que l'hypothalamus. La plupart des fibres qui quittent le côté dorso-médial du bulbe arrivent dans l'hippocampe primordial. Une partie de ces fibres se termine là, et d'autres pourraient projeter à la *stria medullaris* ipsilatérale et rejoindre les fibres marquées de la partie latérale. Quelques fibres projettent également au bulbe controlatéral en passant par la commissure interbulbaire (Polenova et Vesselkin, 1993).

4- Le système voméronasal :

4-1 Historique :

La chémosensation est une des modalités sensorielles que les animaux ont développé afin de détecter, discriminer et analyser les substances chimiques du milieu environnant. Plusieurs de ces substances servent de messages chimiques entre les animaux, ou entre une plante et un animal, et sont appelées "substances sémiologiques". Les phéromones constituent une classe importante de ces substances sémiologiques. Les phéromones, dont l'étymologie signifie transporter

(*pheroin*) et exciter (*hormon*), ont été définies par Karlson et Luscher (1959) comme étant des substances sécrétées par un individu et perçues par un autre individu de la même espèce chez qui elles déclenchent des réactions spécifiques comme par exemple un comportement précis, une réponse métabolique, ou un processus développemental. Depuis cette période, l'utilisation de phéromones dans la communication chimique a été mise en évidence chez de nombreuses espèces d'insectes et de vertébrés (pour revue, voir Døving et Trotier, 1998). La plupart des travaux sur le système olfactif au cours du 20^e siècle ont soutenu l'idée que le système olfactif était divisé en deux parties: un système principal dédié à la détection des odeurs en général, et un système accessoire pour la détection des phéromones. Les travaux de Jacobson ont mis en évidence, chez plusieurs espèces de mammifères, la présence d'un organe dit de "Jacobson" ou "voméronasal" qui coexiste à côté de l'épithélium olfactif principal (Jacobson, 1813; pour revue, voir Døving et Trotier, 1998). Les travaux anatomiques de la fin du 19^e siècle ont montré que les cellules qui composent cet organe possèdent des similarités morphologiques avec les neurones récepteurs olfactifs (Retzius, 1894). Ils projettent vers le bulbe olfactif accessoire (BOA) dans la région du bulbe olfactif (pour revue, voir Døving et Trotier, 1998). Ainsi, il a été montré, puis couramment admis que l'organe voméronasal correspondait à la partie de l'épithélium olfactif spécifiquement dédiée à la détection des phéromones (pour revue, voir Døving et Trotier, 1998).

Les travaux de Planel (1953) étaient les premiers à montrer que l'organe voméronasal jouait un rôle important dans les mécanismes comportementaux entourant la reproduction chez les mammifères. En effet, l'ablation de cet organe chez les cochons d'Inde freine le désir d'accouplement chez les mâles, tandis que les

femelles perdent la plupart des signes comportementaux liés à la reproduction, tel que le "comportement de lordose" (Planel, 1953). Ces résultats ont été confirmés plus tard chez d'autres espèces comme le hamster, dont les déafférentations périphériques de l'organe voméronasal ont induit des déficits sévères du comportement sexuel, autant chez les mâles, que chez les femelles (Powers et Winans, 1975 ; Winans et Powers, 1977). Plus récemment, les mécanismes cellulaires responsables de la mise en place de ces comportements sexuels à partir de l'activation de l'organe voméronasal ont été mis en évidence chez la souris (Kimchi et al., 2007).

Les injections d'hormone gonadoliberine GnRH (gonadotropin-releasing hormone) chez les animaux dont l'organe voméronasal a été inactivé pouvaient rétablir le comportement sexuel déficient. Ainsi, l'activation de l'organe voméronasal pourrait être fonctionnellement responsable de la production de GnRH qui induira à son tour, une augmentation du niveau de l'hormone lutéinisante, et ainsi induire les comportements sexuels adaptés (Clancy et al., 1988 ; Coquelin et al., 1984 ; Meredith et Fernandez-Fewell, 1994).

4-2 Organisation générale du système voméronasal :

Chez les souris, l'organe voméronasal est une structure tubulaire bilatérale se trouvant dans une capsule cartilagineuse localisée dans la portion basale du septum nasal. La structure et les projections de l'épithélium sensoriel de l'organe voméronasal sont dichotomiques. Au moins deux populations de neurones sensoriels voméronasaux existent, et diffèrent par leur profil moléculaire ainsi que leur position anatomique (Halpern et Martinez-Marcos, 2003).

Les corps cellulaires des neurones de l'organe voméronasal localisés dans la zone apicale de l'épithélium co-expriment la famille des récepteurs voméronasaux de type 1 (V1R) liées à la protéine $G_{i2\alpha}$. Les neurones localisés dans la zone basale de l'épithélium expriment quant à eux les récepteurs voméronasaux de type 2 (V2R). Ils sont couplés à une protéine G de type $G_{o\alpha}$ (pour revue, voir Boehm 2006).

Chaque neurone du système voméronasal projette un seul axone vers le BOA situé à proximité de la partie dorso-caudale du bulbe olfactif principal (Halpern et Martinez-Marcos, 2003). Les neurones qui expriment les récepteurs V1R/ $G_{i2\alpha}$ projettent dans la partie antérieure du BOA, tandis que les neurones exprimant V2R/ $G_{o\alpha}$, projettent vers la partie postérieure. La ségrégation anatomique observée dans l'organe voméronasal est donc maintenue au niveau du BOA (Jia et Halpern 1996; Yoshihara et al., 1997). Puisque les parties antérieures et postérieures du BOA projettent ensuite vers des régions différentes du cerveau, ceci pourrait expliquer pourquoi le même ligand (phéromone) serait capable d'induire des réponses comportementales différentes, comme par exemple entre les individus mâles et femelles (Halem et al., 2001).

Il existe comme dans le système olfactif principal une convergence de l'information entre l'organe voméronasal et le BOA. En effet, les axones de 500 à 1000 neurones voméronasaux qui expriment les mêmes types de récepteurs convergent vers un petit nombre (6 à 30) de glomérules dans le BOA (Belluscio et al., 1999; Rodriguez et al., 1999; Del Punta et al., 2002). Ce patron de projection est sensiblement différent du système olfactif principal où les axones des neurones sensoriels olfactifs exprimant le même type de récepteur convergent vers un ou deux glomérules dans deux régions spécifiques du bulbe olfactif principal (pour revue, voir

Buck, 2000). Cependant, ce taux de convergence plus bas des projections des neurones du premier ordre se retrouve contrebalancé par une forte convergence dans l'organisation fonctionnelle des projections des cellules mitrales. Ces dernières innervent plusieurs glomeruli recevant des fibres issues des neurones olfactifs exprimant le même récepteur (i.e., V1R ou V2R) (Del Punta et al., 2002). Ainsi, l'organisation dendritique des cellules du deuxième ordre pourrait sous-tendre une grande convergence de l'information, peut-être aussi importante que celle observée dans le système olfactif principal (Del Punta et al., 2002).

En aval du BOA, les cellules mitrales font des connexions avec le noyau amygdalien médial, l'aire corticale amygdaloïde postéromédian (référé ensemble à l'amygdale voméronasale) et le noyau du lit de la strie terminale (BNST) (Halpern et Martinez-Marcos, 2003 ; Scalia et Winans, 1975 ; Alheid et al., 1995 ; Newman, 1999). Toutes ces connexions sont bidirectionnelles ce qui suggère la présence de boucles de rétrocontrôle (Halpern et Martinez-Marcos, 2003). Chez quelques espèces, on a observé des projections de plusieurs zones distinctes du BOA vers l'amygdale voméronasale, mais cette ségrégation n'est pas confirmée chez la souris (Von Campenhausen et Mori, 2000 ; Salazar et Brennan, 2001). Des études chez les rongeurs suggèrent une ségrégation fonctionnelle de l'amygdale voméronasale (Choi et al., 2005). Les parties dorsale et ventrale du noyau amygdalien médial postérieur sont respectivement activées par des stimuli reproductifs ou défensifs. Conformément à cela, les projections de ces deux sous-noyaux de l'amygdale médiane à l'hypothalamus sont anatomiquement distinctes (Swanson 2000). La partie dorsale du noyau amygdalien médial postérieur projette à trois noyaux interconnectés, localisés

dans la colonne de contrôle comportementale hypothalamique médiane, et qui induisent des comportements de reproduction. Ces trois noyaux sont : le noyau préoptique médian, la partie ventrolatérale du noyau hypothalamique ventromédian, et le noyau ventral prémamillaire. En parallèle, le noyau médial amygdaloïde ventral envoie des projections au noyau hypothalamique antérieur et à l'aspect dorsomédian du noyau hypothalamique ventromédian. Les informations transitent de l'amygdale voméronasale vers l'hypothalamus médian par des projections directes et via un relais dans le BNST. En conséquence, ce dernier reçoit des informations voméronasales par une innervation directe des cellules mitrales du BOA, et par un relais de l'amygdale voméronasale, suggérant un rôle majeur dans l'intégration des signaux du système voméronasal. Le BNST postéromédian de la *stria terminalis* fait partie du circuit sexuel dimorphique du proencéphale incluant le noyau amygdalien médial et plusieurs noyaux de l'hypothalamus (Guillamon et Segovia, 1997; Simerly, 2002; Gu et al., 2003 ; Shah et al., 2004 ; pour revue voir Boehm, 2006).

4-3 Cas particulier de la lamproie :

Il a été montré que la lamproie utilise des acides biliaires ou des alcools, ou les deux ensembles, comme phéromones durant les deux stades de son cycle de vie (Yun et al., 2003). Au stade larvaire, elle synthétise (Haslewood et Tokes, 1969) et relâche (Li et al., 1995 ; Polkinghorne et al., 2001) dans l'eau le pétromyzonol sulfate (PZS ; 3 α -7 α , 12 α , 24-tetrahydroxy-5 α -cholan-24-sulfate) et l'acide allocholique (ACA ; 3 α -7 α , 12 α -trihydroxy-5 α -cholan-24-oic-acid), qui sont détectés par les adultes. Il a été proposé que le PZS et l'ACA sont des phéromones qui attirent des adultes vers les ruisseaux. En support à cette hypothèse, il a été montré dans une

chambre à deux choix qu'un mélange des deux types de phéromone attire préférentiellement les adultes en phase de reproduction (Bjerselius et al., 2000).

Lorsque les mâles matures sexuellement sont dans la zone de reproduction, ils relâchent à leur tour dans l'eau le 3-keto pétromyzonol sulfate (3kPZS ; 7α , 12α , 24-trihydroxy- 5α -cholan-3-one-24-sulfate) et le 3-keto acide allocholique (3kACA; 7α , 12α -dihydroxy- 5α -cholan-3-one-24-oic-acid) (Li et al., 2002 ; Yun et al., 2002). Il a été montré que les mâles utilisent le 3kPZS pour augmenter l'activité locomotrice des femelles en ovulation et les attirer vers leurs sites de reproduction. (Li et al., 2002 ; Yun et al., 2003). Il diffère seulement des phéromones larvaires PZS, par la présence d'un radical 3-keto, au lieu du groupe 3α -hydroxyle. La fonction du 3kACA n'est pas encore bien définie et on croit qu'elle est une composante mineure des phéromones mâles (Yun et al., 2003). Le 3kACA diffère des phéromones larvaires ACA, par la présence d'un groupe hydroxyle sur le carbone 24.

Les acides biliaires sécrétés par les lamproies mâles adultes sont rapidement dilués dans l'eau des lacs et rivières. Pour déterminer si les femelles peuvent faire la distinction entre les phéromones des mâles et les phéromones larvaires, Siefkes et Li (2004) ont cherché à déterminer la capacité de l'épithélium olfactif des femelles à discriminer ces quatre acides biliaires. Ils ont comparé les réponses électrophysiologiques générées par le 3kPZS, le 3kACA, l'ACA et le PZS dans les organes olfactifs des lamproies adultes femelles. Ils ont montré que l'épithélium olfactif des lamproies adultes femelles est très sensible au 3kPZS, un acide biliaire mâle spécifique (Li et al., 2002).

Chez la lamproie, un organe olfactif accessoire (OOA) a été décrit pour la première fois par Scott (1887). Il est situé dans la région caudo-ventrale de

l'épithélium olfactif de la lamproie. Chez plusieurs espèces (*Lampetra fluviatilis*, *Lampetra planeri*, *Petromyzon marinus*) l'OOA ressemble à une multitude de sacs épithéliaux vascularisés et entourés de fibres nerveuses (Scott, 1887 ; de Beer, 1923 ; Leach, 1951 ; Hagelin et Johnels, 1955 ; VanDenbossche et al., 1995). Il est relié à la cavité de l'organe olfactif principal par un conduit (Hagelin et Johnels, 1955). La présence de neurones sensoriels ciliés dans la structure tubulaire a mené Scott (1887) et Hagelin et Johnels (1955) à proposer que l'OOA serait l'homologue de l'organe voméronasal des mammifères. Plusieurs similarités anatomiques existent entre l'OOA de la lamproie et l'organe voméronasal. Ils sont tous les deux, de forme tubulaire, et reliés à la cavité nasale par des conduits étroits. Les conduits de l'OOA sont localisés dans l'épithélium olfactif principal (Lubosch, 1905), et les conduits voméronasaux débouchent dans la cavité nasale, à la base du septum nasal (Meredith et al., 1980). Les deux structures sont abondamment vascularisées. La constriction et la dilatation de ces vaisseaux sanguins environnants régulent le mouvement de fluides dans l'organe voméronasal des mammifères (Meredith et al., 1980) et pourraient aussi avoir la même fonction dans l'OOA des lamproies.

Une étude anatomique récente a montré que les neurones sensoriels olfactifs de l'OOA projettent vers le glomérule médian du bulbe olfactif chez la lamproie (Ren et al., 2009). Cette région médiane est également décrite comme étant l'équivalent du BOA, et permet la détection des phéromones chez plusieurs espèces de poissons (Ren et al., 2009). Il est intéressant de noter que l'OOA projette exclusivement au glomérule médian du bulbe olfactif, tandis que l'ensemble de l'épithélium olfactif principal projette vers l'OOA et le glomérule médian (Ren et al., 2009). Le glomérule médian qui reçoit donc des afférences en provenance de l'OOA et de l'épithélium

olfactif principal, semble être également différent du reste du bulbe olfactif, puisque la protéine G olfactive (G_{Olf}) dépendante de l'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) n'y est pas exprimée (Frontini et al., 2003). Une voie nerveuse prend naissance dans le bulbe olfactif médian et projette vers une structure diencephalique, le tubercule postérieur. Nous avons montré que cette voie, distincte anatomiquement et biochimiquement, l'est également sur le plan fonctionnel (Derjean et al., 2010). En effet, elle est spécifiquement dédiée à la transformation de l'information sensorielle olfactive en commande motrice. Il semble donc que l'OOA chez la lamproie soit un organe dont la fonction principale serait d'activer le glomérule médian du bulbe olfactif et ainsi, induire une réponse comportementale de type motrice. Les efférences du BOA des mammifères sont considérées depuis longtemps comme séparées des connexions efférentes du bulbe olfactif principal, mais des nouvelles études ont révélé des convergences entre ces deux voies (Pro-Sistiaga et al., 2007).

5- Le tubercule postérieur :

Le tubercule postérieur est une structure bilatérale, situé ventralement entre le plancher du troisième ventricule et les corps mamillaires, et limité de part et d'autre par l'hypothalamus. Il s'agit d'une structure riche en catécholamines chez la lamproie (Baumgarten, 1972, Pierre et al., 1997). Des expériences d'immunohistochimie du tubercule postérieur ont révélé la présence de cellules dopaminergiques. Ainsi, on pourrait s'attendre à ce que ce noyau possède des projections plus importantes dirigées vers le striatum. On a aussi identifié des cellules catécholaminergiques dans la région du tubercule postérieur des amphibiens (Bartels, 1971; Wilczynsky et Northcutt, 1983; Wicht et Himstedt, 1988; González and Smeets, 1991; González et

al., 1993, 1994a-c). Cette région, avec la partie médiane du tegmentum mésencéphalique, forment l'origine de l'innervation dopaminergique du striatum chez les amphibiens (González et al., 1994c; Marin et al., 1997).

Baumgarten (1972) a considéré que les cellules catécholaminergiques du tubercule postérieur chez la lamproie, font partie d'une structure qui migre dans la base du mésencéphale chez les tétrapodes. Une telle migration de cellules n'est pas clairement démontrée. Cette hypothèse est soutenue par le gradient rostrocaudal qui existe durant l'apparition des cellules immunoréactives à la dopamine et à la tyrosine hydroxylase dans le tubercule postérieur durant le développement (González et al., 1994a et b, 1995).

Puisque le tubercule postérieur est une source importante de cellules dopaminergiques chez la lamproie, il pourrait s'agir d'une structure analogue à l'aire ventrale tegmentale (VTA) et/ou de la substance noire (SN) observées chez les mammifères (Baumgarten, 1972; Pierre et al., 1997). Il est probable que le tubercule postérieur soit un précurseur des compartiments dopaminergiques mésencéphaliques de la formation réticulée des vertébrés supérieurs, mais qu'au cours de l'évolution, deux structures anatomiques distinctes (i.e., la VTA et la SN) se soient différenciées à partir du même tissu original (Fallon et Loughlin, 1985).

Des travaux antérieurs ont déjà souligné l'importance de la projection du système olfactif vers le tubercule postérieur (Northcutt et Puzdrowski, 1988). Nos travaux ont montré que ce noyau joue un rôle clef dans la transmission de l'information sensorielle olfactive en réponse motrice (Derjean et al., 2010). En effet, il s'agit d'une structure qui fait l'interface entre la partie médiane du bulbe olfactif et la MLR qui est sa principale cible de projection (Ménard et al., 2007).

Les neurones dopaminergiques du tubercule postérieur sont de petite taille (Brodin et al., 1990; Pierre et al., 1994). Le tubercule postérieur contient également des neurones catécholaminergiques non marqués par les anticorps contre la dopamine, dans sa région paratuberculaire. Il s'agit de neurones de plus grande taille, dont la nature pharmacologique exacte n'est pas connue (Brodin et al., 1990; Pierre et al., 1994)

Les groupes de cellules dopaminergiques mésencéphaliques, incluant l'aire rétro-rubrale (A8), la SN (A9) et la VTA (A10) ne sont pas observées chez les cyclostomes (Kadota et al., 1993; Pierre et al., 1994), ni chez les holocéphales, ni chez les actinoptérygiens (Smeets et Reiner, 1994).

B- La locomotion :

Tous les vertébrés sont capables de se déplacer dans leur environnement. Ces mouvements dépendent de l'exécution d'un comportement moteur complexe et coordonné: la locomotion. La bonne exécution de la locomotion dépend de plusieurs structures et noyaux, à différents niveaux du CNS. Elle implique la coordination d'un grand nombre de muscles dont chacun est synchronisé avec un patron moteur spécifique, dans chaque cycle locomoteur. En principe, trois types de systèmes de contrôle sont nécessaires : 1) Le système moteur propulsif, qui produit par exemple le mouvement des jambes des tétrapodes et des bipèdes; le mouvement des ailes des oiseaux; ou encore, le mouvement ondulatoire des poissons et des serpents; 2) Le système moteur postural qui maintient la position appropriée du corps au cours de la locomotion; 3) Et enfin, le système moteur responsable de l'orientation vers un but

donné, qui dirige l'animal vers un objectif précis lors du mouvement, tout en évitant les objets et obstacles sur son chemin.

Malgré de nombreuses différences au niveau de l'organisation anatomique de leurs systèmes nerveux respectifs, la plupart des espèces de vertébrés et invertébrés possèdent une organisation assez semblable des structures neuronales permettant de générer les différents patrons locomoteurs (Grillner al., 1997). Ainsi, la locomotion est due à des séquences appropriées de contractions des muscles chez les vertébrés. Ces muscles sont activés par les motoneurones spinaux qui eux-mêmes, reçoivent leur programmation de réseaux de neurones excitateurs et inhibiteurs qui composent les générateurs centraux de patrons (CPG) au niveau de la moelle épinière. L'activation de ces CPGs spinaux provient des neurones de commandes réticulospinaux du tronc cérébral, qui eux-mêmes sont activés par les centres locomoteurs supra-spinaux, qui sont capables d'activer la locomotion lorsqu'ils sont stimulés. Une de ces régions est située sur la bordure méso-pontique est appelée la région locomotrice mésencéphalique (MLR; Shik et Orlovsky, 1976; Jordan, 1986). Une autre région connue, nommée région locomotrice diencephalique (DLR, El Manira et al., 1997) est localisée au niveau du diencephale, dans la région ventrale du thalamus chez la lamproie (pour revue voir Parker et al., 1998; Sinnamon 1993; Dubuc et al., 2008).

1- Les Générateurs Centraux de Patrons :

1-1 Description:

La plupart des activités rythmiques nécessite que certains muscles soient activés tandis que d'autres sont inhibés à un moment donné. L'organisation temporelle

de ces activations et inactivations dépend de réseaux de neurones localisés dans la moelle épinière, et regroupés dans une unité fonctionnelle, le CPG. Les CPGs sont des circuits spinaux qui activent les neurones moteurs selon un patron organisé pour générer un mouvement rythmique (Delcomyn, 1987 ; Grillner et Wallen, 2002). Ils sont responsables de coordonner les activités rythmiques telles que la respiration (von Euler, 1981 ; Remmers, 1999), la mastication (Dellow et Lund, 1971 ; Nozaki et Nakamura, 1986) ou la locomotion (Grillner, 1975 ; Grillner, 1985 ; Grillner, 1996). Les générateurs de mouvements rythmiques comme le CPG de la respiration sont actifs durant toute la vie, mais sont sujets à modulations selon les besoins métaboliques (von Euler, 1981). D'autres, comme les CPGs de la locomotion, sont inactifs au repos, mais peuvent être activés par des signaux des centres de commandes moteurs (Grillner, 1996 ; Grillner, 1985 ; Grillner, 1975).

À la fin du 19^e siècle, des expériences de lésion de la moelle épinière ont montré que les animaux ayant subi une section spinale complète pouvaient continuer à exécuter des mouvements de type locomoteurs (Freusberg, 1874; pour revue, voir Clarac, 2008). Les premières analyses avaient conclu que la moelle épinière utilisait aussi bien des mécanismes de réflexe que des mécanismes centraux pour contrôler la locomotion (Philippon, 1905).

Les théories de Sherrington (1910) proposaient que le patron locomoteur de base responsable de la marche était une résultante de l'action des entrées proprioceptives sur les centres spinaux. La section complète de la moelle épinière chez le chat ou le chien n'avait pas empêché l'exécution de mouvements très similaires à la marche normale. Ceci était décrit par Sherrington comme étant des "reflex stepping",

au niveau des membres postérieurs. Puisque la locomotion pouvait être déclenchée par des stimulations cutanées ou spinales, Sherrington a suggéré l'existence de neurones spinaux responsables de la transformation d'une entrée tonique périphérique en commande motrice centrale pour la locomotion (pour revue voir, Guertin, 2009).

1-2 Localisation anatomique des CPGs :

L'organisation cellulaire des CPGs est encore mal connue. Cependant, durant les 25 dernières années, les recherches effectuées sur des modèles tels que lamproies et xénopes, ont fourni une structure détaillée des circuits de CPGs contrôlant la nage, des mécanismes cellulaires et synaptiques des CPGs de la nage et de leurs modulations (Grillner, 2003; McLean et al., 2000; Roberts et al., 1998). En comparaison avec ces données, beaucoup moins d'informations sont disponibles concernant le fonctionnement des CPGs locomoteurs chez les mammifères (Clarac et al., 2004; Hultborn et al., 1998, Kiehn et Butt 2003; McCrea 1998), même si les CPGs de la marche chez les mammifères ont été étudiés pour la première fois il y a à peu près 100 ans (Brown, 1911).

Les CPGs contrôlant la locomotion sont localisés dans la moelle épinière et sont rencontrés chez tous les vertébrés, incluant l'humain (Dimitrijevic et al., 1998). Des études antérieures ont montré que la partie lombaire de la moelle épinière contient des éléments neuronaux importants pour produire une coordination précise et une activation d'un grand nombre de muscles des membres postérieurs (Grillner, 1981). Grillner et Zangger (1979) étaient les premiers à montrer chez le chat spinalisé l'existence d'un CPG locomoteur spinal possédant la capacité de générer des séquences

de mouvements rythmiques coordonnées des membres postérieurs. D'autres études utilisant une préparation de moelle épinière isolée de rongeurs nouveaux-nés, confirment cette même idée (Bonnot et Morin, 1998; Bonnot et al., 2002; Bracci et al., 1996; Christie et Whelan, 2005; Cowley et Schmidt, 1995; Gabbay et al., 2002; Kjaerulff et Kiehn, 1996; Kremer et Lev-Tov, 1997; Kudo et Yamada, 1987). Cependant, il existe une différence entre les segments rostraux et caudaux dans leur capacité rythmogénique. Les segments lombaires rostraux en isolation (L1-L3 chez les rongeurs, L3-L5 chez les chats, et D7-D10 chez les tortues) possèdent une meilleure capacité que les segments caudaux (L4-L6, L6-S1, et S1-S2, respectivement) pour générer un patron moteur rythmique.

Plusieurs études ont montré que les neurones locomoteurs sont concentrés dans la partie ventrale de la moelle épinière (Couches VII, VIII, et X de Rexed), suggérant que tous les éléments essentiels du circuit locomoteur chez les mammifères sont localisés dans cette partie ventrale (Cina et Hochman, 2000; Dai et al., 2005; Kjaerulff et al., 1994; Tresch et Kiehn, 1999).

Chez les mammifères, les données disponibles au sujet de la capacité rythmogénique des CPGs des membres postérieurs indiquent que cette dernière est localisée dans la moelle épinière thoracique inférieure. Cette organisation est également retrouvée chez d'autres vertébrés tel que les oiseaux ou les tortues.

2- CPGs chez la lamproie :

Tout au long de la phylogénie, le CNS des vertébrés est organisé de façon similaire, même si le niveau de complexité augmente. De la lamproie à l'homme, la partie antérieure du cerveau, le tronc cérébral, ainsi que la moelle épinière possèdent les mêmes caractéristiques physiologiques générales.

Le CNS de la lamproie est un bon modèle pour étudier les mécanismes cellulaires de l'intégration sensori-motrice en général. En effet, il présente beaucoup d'avantages, puisque son organisation globale est similaire à celle des autres vertébrés, mais de plus, il possède beaucoup moins de neurones, simplifiant ainsi son étude. Le patron moteur qui sous-tend la locomotion peut être maintenu intact pendant quelques jours dans une préparation cerveau-isolé de lamproie (Grillner et Wallén, 2002).

Dans toutes les classes de vertébrés, la moelle épinière contient les réseaux de base qui coordonnent l'activité locomotrice, que ce soit la nage, le vol ou la marche (Grillner, 1985 ; Grillner, 1981; Grillner, 1975; Orlovsky et al., 1999; Fedirchuk et al., 1998). Dans la moelle épinière de la lamproie, l'activité locomotrice alternée gauche-droite est produite dans chaque segment tout le long de la moelle épinière à une fréquence qui varie entre 0.1 à 8-10 Hz durant la nage normale. L'activité locomotrice peut être produite non seulement par la stimulation du tronc cérébral mais aussi par la perfusion d'agonistes glutamatergiques sur une préparation de moelle épinière isolée (Grillner et Wallén, 2002). Chez la lamproie, le réseau moteur qui produit de l'activité alternée est composé d'interneurones excitateurs glutamatergiques, d'interneurones inhibiteurs glycinergiques et de motoneurones (Buchanan et Grillner, 1987; Krieger et al., 1996). Les interneurones glutamatergiques s'excitent les uns les autres par

l'intermédiaire des récepteurs ionotropiques NMDA et AMPA, et des récepteurs métabotropiques du glutamate. Les interneurones inhibiteurs bloquent l'action des interneurones et motoneurones controlatéraux en produisant des potentiels post-synaptiques inhibiteurs de grande amplitude (Buchanan, 1982; Ohta et al., 1991; Parker et Grillner, 2000).

Il existe deux types de neurones inhibiteurs commissuraux: les larges neurones possédant des longs axones descendants, et les petits interneurones ayant des axones plus courts (Ohta et al., 1991). Ces derniers fournissent des potentiels post-synaptiques inhibiteurs plus larges que ceux produits par les larges neurones (Parker et Grillner, 2000). En plus, il y a aussi quelques interneurones glycinergiques projetant ipsilatéralement qui sont co-activés avec les motoneurones ipsilatéraux, probablement par des interneurones excitateurs, et produisent une inhibition monosynaptique sur les motoneurones et les interneurones commissuraux inhibiteurs (Parker et Grillner, 2000 ; Buchanan et Grillner, 1988).

Le réseau locomoteur spinal chez la lamproie est constitué de neurones glutamatergiques projetant ipsilatéralement et de neurones glycinergiques ayant des projections controlatérales (Grillner et Wallén, 1980; Buchanan, 1982; Buchanan et Grillner, 1987). Les axones descendants réticulospinaux contrôlent le réseau spinal en activant les récepteurs AMPA et NMDA des interneurones excitateurs, des interneurones commissuraux inhibiteurs et des motoneurones (Ohta et Grillner, 1989). Les récepteurs NMDA sont particulièrement importants en raison de leur dépendance au voltage, et contribuent à la dépolarisation maintenue. Les réseaux locomoteurs spinaux chez les autres vertébrés adultes et en développement, sont aussi constitués de

neurones glycinergiques et glutamatergiques (Stein et al., 2000 ; Kiehn et Kjaerulff, 1998; Stein, 1999; O'Donovan et al., 1998; Drapeau et al 2002; Rossignol et al., 1998).

De plus, chez les têtards de Xénope et les lamproies, les collatérales issues des motoneurones produiraient des excitations périodiques sur d'autres motoneurones et interneurones excitateurs (Perrins et Roberts, 1995 ; Placas et Buchanan, 2002). Chez les têtards de Xénope, les épisodes locomoteurs sont prolongés quand la neurotransmission cholinergique est potentialisée (Perrins et Roberts, 1995). L'activité du réseau continue même durant le blocage des récepteurs GABA_A, mais la fréquence locomotrice augmente, indiquant que les interneurones GABAergiques contribuent à ralentir l'activité locomotrice (Tegner et Grillner, 1999 ; Tegner et al., 1993 ; Schmitt et al., 2002 ; Reith et Sillar, 1999).

3- La formation réticulée chez les mammifères :

La formation réticulée médullaire médiane (MRF) est une région du tronc cérébral impliquée dans l'initiation de la locomotion (Shefchyk et al., 1984). Des stimulations électriques et chimiques de la MRF peuvent induire la locomotion chez le chat décérébré, mais le rythme obtenu est moins fiable et régulier que celui évoqué par la stimulation de la MLR (Mori et al., 1978; Garcia-Rill et Skinner, 1987a-b; Noga et al., 1988; Garcia-Rill et al., 1985). L'utilisation de plusieurs techniques expérimentales (électrophysiologiques, de refroidissement et de lésions), a permis de montrer que la MRF recevait des afférences de la MLR chez les mammifères. Les neurones de cette région réticulaire, envoient des axones vers la substance grise des aires intermédiaire et ventrale de la moelle épinière et descend dans le funiculus ventrolatéral (VLF). La

MRF reçoit des afférences en provenance du cervelet, du cortex, des ganglions de la base, ainsi que de la MLR (Armstrong, 1986). Puisqu'elle projette directement vers la moelle épinière et les CPGs, elle constitue le dernier centre d'intégration, avant que les commandes locomotrices descendantes passent par le VLF vers les interneurons de la moelle épinière (Noga et al., 1991). Chez le chat, la région de la MRF inclut les noyaux *gigantocellularis* et *tegmenti reticularis* (Noga et al., 1988). Les neurones de la MRF impliqués dans l'initiation de la locomotion reçoivent également des projections d'autres structures que la MLR, comme le "Dorsal Tegmental Field" et le "Ventral Tegmental Field" impliquées dans le contrôle de la posture (Garcia-Rill et Skinner, 1987a-b; Mori et al., 1992; Mori, 1987).

L'application de substances chimiques comme l'acide glutamique, l'acétylcholine, et la substance P sur la MRF peut induire la locomotion chez le chat mésencéphalique (Noga et al., 1988; Garcia-Rill et Skinner, 1987a). L'application d'antagoniste des récepteurs GABA_A sur la MRF, réduit le seuil de déclenchement de la locomotion par la stimulation électrique, mais n'est pas capable de déclencher la locomotion. Ces résultats pharmacologiques démontrent que les neurones de la MRF sont directement impliqués dans l'initiation de la locomotion.

Les zones locomotrices de la MRF existent aussi chez d'autres espèces comme la lamproie (McClellan et Grillner, 1984; McClellan, 1988), les poissons (Livingston et Leonard, 1990; Bernau et al., 1991), les oiseaux (Steeves et al., 1987 ; Sholomenko et al., 1991) et les mammifères (Kinyo et al., 1990).

4- Les cellules réticulospinales chez la lamproie :

Le CNS de la lamproie possède plusieurs caractéristiques communes avec ceux des vertébrés supérieurs, dont les mammifères, mais il est plus simple, et contient moins de neurones. La formation réticulée occupe la région médiane du tronc cérébral et s'étend du mésencéphale vers la partie caudale du rhombencéphale. Chez la lamproie, le tronc cérébral contient des cellules réticulospinales (RS) qui sont des neurones projetant directement vers la moelle épinière, et transmettant les commandes motrices reçues des centres locomoteurs supérieurs. Il s'agit donc de neurones de commande équivalents de la MRF chez les mammifères. De ce fait, ils constituent la dernière portion de la voie descendante permettant d'activer les réseaux spinaux de la locomotion dans la moelle épinière (Buchanan et Cohen, 1982 ; McClellan, 1987 ; McClellan, 1988; Ohta et Grillner, 1989; Rovainen, 1978 ; Rovainen, 1979b ; Viana Di Prisco et al., 1997 ; Viana Di Prisco et al., 2000). Les travaux de Rovainen (Rovainen, 1967 ; Rovainen, 1974 ; Rovainen, 1978 ; Rovainen, 1979a-b; Rovainen, 1982) ont été les premiers à décrire l'organisation anatomique du CNS, incluant le système réticulospinal chez la lamproie. Ils ont servi de base pour établir l'organisation ainsi que la physiologie des cellules RS. Les cellules RS sont regroupées dans quatre noyaux réticulaires distincts et distribuées de façon symétrique de chaque côté de la ligne médiane dans le tronc cérébral. Le groupe le plus rostral est localisé dans le mésencéphale, et est appelé noyau réticulaire mésencéphalique (MRN). Il est composé d'environ 90 cellules RS de chaque côté du tronc cérébral. Chaque noyau projette vers la partie ipsilatérale de la moelle épinière (pour revue, voir Brodin et al., 1988). Les cellules du MRN les plus volumineuses projettent jusqu'à l'extrémité caudale de la

moelle épinière. Trois autres noyaux réticulaires sont localisés dans le rhombencéphale. Le groupe le plus rostral est le noyau réticulaire rhombencéphalique antérieur (ARRN). Il contient environ 90 cellules chez la lamproie adulte, dont environ 30% projettent du côté controlatéral. Vers le milieu du rhombencéphale, on trouve le noyau réticulaire rhombencéphalique moyen (MRRN). Ce noyau contient environ 330 cellules dont 20% projettent du côté controlatéral. Cette région contient également les cellules de Mauthner qui reçoivent les afférences vestibulaires et envoient des axones vers la partie dorsolatérale de la moelle épinière. Dans la partie caudale du rhombencéphale se trouve le noyau réticulaire rhombencéphalique postérieur (PRRN). Il est composé d'environ 730 cellules chez les spécimens adultes, et environ 16 % projettent vers la portion controlatérale de la moelle épinière (Rovainen, 1967).

Les cellules RS constituent plus de 90 % des projections descendantes vers la moelle épinière de la lamproie. Ainsi, elles jouent un rôle essentiel dans l'initiation et la modulation de la locomotion. Il a été récemment montré par exemple, que la durée des épisodes de nage pouvait être fortement augmentée par les actions des afférences sensorielles spinales combinées aux propriétés endogènes des cellules RS (Antri et al., 2009). Les autres projections descendantes vers la moelle épinière de la lamproie prennent origine au niveau des cellules vestibulaires dont les corps cellulaires sont localisés dans la partie latérale du rhombencéphale et leur axones projettent ipsi- et contro-latéralement vers la moelle épinière. Ces cellules vestibulaires possèdent une activité rythmique durant la locomotion chez la lamproie (Bussièrès et Dubuc, 1992a). Leur rôle exact dans l'activité locomotrice n'est pas encore bien connu. Des nouvelles études montrent qu'elles pourraient avoir des actions préférentielles sur la partie rostrale de la moelle épinière à l'opposé des cellules RS qui agissent tout le long de la

moelle épinière. Grâce aux afférences vestibulaires, ces cellules servent également pour les ajustements posturaux. (Zelenin et al., 2003 ; Deliagina et al., 1992 ; Bussières et Dubuc, 1992b ; Deliagina et Orlovsky, 2002 ; Grillner et al., 1995).

Bien plus que de simples relais, les neurones RS jouent également un rôle important dans le traitement de la commande locomotrice à destination de la moelle épinière. Ainsi par exemple, la durée de la réponse locomotrice après la stimulation de la MLR est encod e au niveau des neurones RS. Ces neurones RS expriment en effet des propriétés membranaires endogènes telles que les propriétés de plateaux, sous-tendus par des canaux ioniques de type NMDA et I_{CAN} . Leur activation permet aux neurones RS de répondre de façon prolong e, à une courte stimulation de la MLR (Antri et al., 2009). En effet, il a été montré que la durée de l'épisode de nage est fortement corr l e à la durée d'activation des cellules RS. Les différents noyaux RS sont également capables de traduire l'encodage de l'intensité de stimulation. En effet, il a été montré que les noyaux MRRN et PRRN étaient recrutés de façon graduelle par la stimulation de la MLR (Brocard et Dubuc, 2003). Ainsi, les cellules du MRRN sont les premières à être activ es lors de stimulations électriques de faibles intensités induisant une nage lente. Les neurones RS du PRRN ne sont recrutés que lors de stimulations plus intenses et des épisodes de nage rapides (Brocard et Dubuc, 2003; pour revue, voir Dubuc et al., 2008).

Les cellules RS font partie de la boucle spino-bulbo-spinale qui joue un rôle important dans le contrôle de la locomotion (Dubuc et Grillner, 1989 ; Vinay et Grillner, 1993). Les cellules RS activent les interneurones spinaux et les motoneurones (Rovainen, 1974; Buchanan, 1982; Buchanan et Cohen, 1982; Buchanan et Grillner, 1987; Ohta et Grillner, 1989), et reçoivent des entrées provenant des réseaux

locomoteurs de la moelle épinière (Dubuc et Grillner, 1989; Vinay et Grillner, 1993 ; Einum et Buchanan, 2004, 2005, 2006). Une étude récente suggère que les entrées spinales vers les cellules RS sont aussi impliquées dans le maintien des dépolarisations soutenues dans les cellules RS. En absence des entrées provenant de la moelle épinière, les cellules RS sont activées pour une période de temps beaucoup plus courte (<25 s) (Antri et al., 2009). La dépolarisation des cellules RS pour une longue période de temps permet à la réponse de fuite de la lamproie d'avoir suffisamment le temps pour échapper loin du stimulus. Des mécanismes similaires peuvent se produire chez d'autres vertébrés, y compris les poissons rouges et les poissons zèbres. Ces espèces montrent une forte réaction de fuite en réponse à une stimulation sensorielle impliquant le système RS (Eaton et al., 1988 ; Fetcho et Faber, 1988 ; Gahtan et al., 2002). Ceci indique que les entrées spinales ne sont pas juste partiellement impliquées, mais elles semblent être les seules contributrices dans la modulation rythmique de l'activité des cellules RS durant la locomotion (Antri et al., 2009).

Les cellules RS reçoivent des projections monosynaptiques excitatrices cholinergiques nicotiques provenant de la MLR. L'application locale d'acétylcholine ou de la nicotine provoque une excitation concentration-dépendante dans les neurones RS, de plus, elle induit et accélère la locomotion fictive (Le Ray et al., 2003).

L'application locale d'un agoniste muscarinique sur les cellules RS provoque une diminution de leur réponse à la stimulation du nerf trijumeau. Alors que l'application d'un antagoniste muscarinique augmente cette réponse. Ceci suggère qu'il existe une dépression muscarinique tonique sur les cellules RS. Cette modulation muscarinique affecte les récepteur NMDA des cellules RS (Le Ray et al., 2004).

Une autre étude a permis d'identifier un groupe de cellules localisées rostralement au PRRN qui avait une immunoréactivité aux récepteurs muscariniques et qui reçoivent un input direct de la MLR. L'activation unilatérale de ce groupe spécifique de cellules muscariniques, active le circuit qui génère une dépolarisation synchrone et soutenue des populations bilatérales de neurones RS (Smetana et al., 2007 ; 2010). Leur activation amplifie la décharge des neurones RS, et augmente ainsi l'intensité des commandes locomotrices descendantes permettant de déclencher la nage.

Les résultats de ces quatre études (Le Ray et al., 2003, 2004; Smetana et al., 2007, 2010) proposent que la MLR pourrait envoyer une triple commande cholinergique vers les cellules RS. En premier lieu, il y aurait une commande excitatrice par l'intermédiaire des récepteurs nicotiques qui activera le système RS et déclenchera des comportements moteurs complexes. Par la suite, il y aurait une commande inhibitrice par l'intermédiaire des récepteurs muscariniques qui va réduire la transmission sensorielle au niveau des cellules RS. Parallèlement, la MLR fournit une commande excitatrice additionnelle permettant d'amplifier l'intensité de l'activité des RS via une population de cellules muscarinoceptives, qui projettent vers la formation réticulée. Globalement, les entrées cholinergiques vers les cellules RS seront alors responsables du changement de l'état des cellules RS d'un réflexe de commande locomotrice à une commande locomotrice orientée vers un but.

5- La région locomotrice mésencéphalique chez les mammifères:

Chez le chat décérébré, la locomotion peut être initiée en stimulant électriquement une région du tronc cérébral, connue sous le nom de MLR (Shik et al.,

1966a-b). La MLR est un centre intégratif important qui reçoit des informations de plusieurs régions du cerveau, incluant les ganglions de la base (Mogenson, 1990), le système limbique (Garcia-Rill, 1986) et le cortex frontal (Divac et al., 1978). La stimulation électrique de la MLR induit une augmentation du tonus extenseur, suivie d'un épisode de marche, après un délai de quelques secondes (Shik et al., 1966a-b). Quel que soit le type de locomotion (marche, vol ou nage), la stimulation de la MLR est capable d'activer de façon graduelle le patron locomoteur. Par exemple, une augmentation de l'intensité de stimulation de la MLR augmente la vitesse de marche chez le chat et fait basculer le mode de marche du pas normal, vers le trot, puis le galop (Shik et al., 1966a-b).

Chez les mammifères, la MLR est constituée de deux noyaux : le noyau cunéiforme (CN) et le noyau pédonculopontin (PPN). La stimulation électrique et chimique de la MLR induit des épisodes de locomotion (Garcia-Rill et al., 1985; Shik et al., 1966a-b) en activant les neurones RS (Garcia-Rill et Skinner, 1987a,b; Orlovsky, 1970; Steeves et Jordan, 1984). Les mécanismes qui sous-tendent l'activation de la MLR suite à l'activation des ganglions de la base sont encore mal connus. Il a été proposé que le pallidum ventral et la substance noire réticulaire (SNr) peuvent agir d'une façon similaire en inhibant la MLR (Grillner et al., 1998; Takakusaki, 2008). Ainsi la locomotion pourrait être le résultat d'une désinhibition de la MLR par le pallidum ventral ou la SNr.

Dans le tronc cérébral du chat, la région responsable de déclencher de manière optimale la locomotion après une stimulation électrique est une région de 2 mm² localisée en dessous du colliculus inférieur et qui entoure le PPN, l'extrémité caudale du CN, et le *brachium conjunctivum* (Inglis et Winn, 1995; Reese et al., 1995).

L'activation du CN chez un chat en marche, augmente la vitesse de la locomotion (Serman et Fairshild, 1966). Chez le rat, l'activation chimique du PPN provoque de brefs épisodes de locomotion en comparaison à ceux déclenchés suite à l'activation du CN (Garcia-Rill et al., 1985, 1990). Ainsi le CN était considéré comme étant le site le plus efficace pour déclencher la locomotion (pour revue, voir Grillner et al., 1997).

Plusieurs études ont essayé de connaître le rôle spécifique du CN et du PPN dans le contrôle de la locomotion. Puisque la locomotion est fortement modulée par son contexte comportemental, il a été suggéré que la MLR pourrait être subdivisée en différents modules qui seront activés d'une manière dépendante du contexte (Sinnamon, 1993). Des études proposent que la MLR provoque la locomotion dans trois contextes différents, et de là elle pourrait être divisée en trois régions fonctionnelles : le système exploratoire, le système appétitif, et le système défensif (Sinnamon, 1993). Ce concept organisationnel était supporté par plusieurs expériences. Par exemple, la stimulation du CN chez le chat et le rat provoque un comportement locomoteur de fuite (Depoortere et al., 1990a,b; Mori et al., 1989; Sirota et Shik, 1973). L'injection d'un antagoniste GABAergique dans la MLR induit une locomotion reliée à l'effarouchement (Ebert et Ostwald, 1991; Garcia-Rill et al., 1990). Il a été proposé que le PPN est subdivisé en deux compartiments, ventral et dorsal (Milner et Mogensen, 1988). La partie dorsale du PPN ferait partie de la MLR comme étant une région de contrôle locomoteur, alors que la partie ventrale comprendrait un système de tonus musculaire inhibiteur (Takakusaki, 2003).

La MLR ne projette pas directement vers la moelle épinière, elle active les cellules RS du rhombencéphale, qui à leur tour vont activer les réseaux locomoteurs dans la moelle épinière (Garcia-Rill, 1991; Garcia-Rill et Skinner, 1987a,b; Grillner,

1981; pour revue, voir Rossignol, 1996). Après sa première découverte chez le chat (Shik et al. 1966a-b), la MLR a aussi été découverte chez d'autres vertébrés comme le rat (Skinner et Garcia-Rill, 1984), la pastenague (Berneau et al., 1991), le cochon d'inde (Marlinsky et Voitenko, 1991), la lamproie (Sirota et al., 2000), la salamandre (Cabelguen et al., 2003) et le lapin (Musienko et al., 2008).

La MLR peut également contrôler plusieurs modes de locomotion chez le même animal. Chez la salamandre une stimulation électrique de la MLR déclenche la locomotion de type marche, par des mouvements rythmiques des membres accompagnés d'ondulations rythmiques du corps. En augmentant l'intensité de la stimulation, la fréquence de la marche augmente, jusqu'à un certain seuil où les quatre membres seront plaqués le long du corps, tandis que les ondulations du corps seront de plus en plus amples. Ceci correspond au patron locomoteur de nage chez cet animal. Ces résultats montrent que la salamandre possède une MLR qui contrôle deux patrons de locomotion distincts, et le changement d'un mode vers l'autre dépend de l'intensité de son activation (Frolich et Biewener, 1992 ; Delvolvé et al., 1997 ; Cabelguen et al., 2003). Des études computationnelles en utilisant un robot salamandre appuient ces résultats, en prédisant que les centres oscillatoires contrôlant les membres possèdent une fréquence intrinsèque plus basse que les centres oscillatoires contrôlant les mouvements axiaux (Ijspeert et al., 2007).

6- La région locomotrice mésencéphalique chez la lamproie :

Les travaux effectués dans le laboratoire du Dr. Dubuc depuis une décennie ont permis de bien localiser et caractériser les fonctions de la MLR chez la lamproie (Sirota

et al., 2000). Il s'agit d'une région située sur la bordure méso-pontine, proche du ventricule mésencéphalique, dont la stimulation électrique ou chimique induit la nage (Brocard et Dubuc, 2003; Brocard et al., 2005, 2010; Le Ray et al., 2003; Sirota et al., 2000; Smetana et al., 2010). L'intensité de la nage, exprimée par la force des contractions musculaires, la fréquence ainsi que l'amplitude du déplacement latéral de la queue augmentent avec l'intensité et la fréquence de stimulation de la MLR.

La région la plus optimale pour provoquer la locomotion contient un groupe de cellules cholinergiques proches d'une grande cellule RS, II. Cette région correspond au pôle caudal du noyau tegmental latérodorsal (LDT). L'augmentation de l'intensité de la stimulation de la MLR provoque une nage de plus en plus rapide avec des plus grandes amplitudes (Sirota et al., 2000).

Il existe une importante composante cholinergique de la MLR vers les neurones RS. En effet, la MLR contient des neurones immunoréactifs à l'enzyme de synthèse de l'acétylcholine (Choline Acétyltransférase). L'application locale sur la MLR d'acétylcholine ou de nicotine produit une excitation directe concentration-dépendante dans les neurones RS et induit des épisodes de locomotion active ou fictive, et accélère également la locomotion fictive en cours (Le Ray et al., 2003). L'application d'un antagoniste nicotinique sur la MLR réduit l'amplitude des réponses synaptiques excitatrices dans les cellules RS déclenchées par la stimulation de la MLR, alors que les agonistes nicotiniques et muscariniques ont un effet inverse. La connexion cholinergique de la MLR vers les neurones RS est monosynaptique. Ainsi, les projections cholinergiques de la MLR vers les cellules RS jouent un rôle important dans l'initiation et la modulation de la locomotion chez la lamproie (Le Ray et al., 2003).

La symétrie de la réponse des cellules RS de la MLR a été récemment étudiée dans le laboratoire du Dr. Dubuc (Brocard et al., 2010). Ces expériences montrent que chaque MLR projette aux cellules RS d'une façon monosynaptique, et fonctionnellement symétrique vers ces cellules. Pendant une période de locomotion, le patron de décharge est similaire entre deux cellules RS homologues situées de part et d'autre de la ligne médiane. Ces résultats sont soutenus par des données anatomiques qui confirment que les projections de la MLR vers les cellules RS sont bilatérales, et s'entremêlent.

Des cellules muscariniques sont aussi impliquées dans cette activation de la locomotion. L'application d'un agoniste ou d'un antagoniste muscarinique sur les cellules RS ou sur la région de relais trigéminal, provoque la suppression ou la potentialisation, respectivement, de la transmission à ce niveau (Le Ray et al., 2004).

Les neuromodulateurs, comme les amines et les peptides, jouent un rôle important dans l'adaptation des mouvements locomoteurs. Au niveau de la moelle épinière, la substance P (une tachykinine qui régule la locomotion en agissant sur différents niveaux du CNS (Harris-Warrick and Marder 1991; Katz 1995; Marder and Thirumalai 2002), augmente et stabilise le rythme locomoteur chez les rats (Barthe and Clarac 1997). Les mêmes observations ont été faites chez les lamproies (Parker et al. 1998). Par ailleurs, la substance P peut initier la locomotion lorsqu'elle est injectée sur le tronc cérébral des mammifères. Chez les lamproies, l'injection de la substance P sur le tronc cérébral provoque des épisodes de locomotion. En injectant cette substance sur la MLR, le seuil qui déclenche la locomotion suite à la stimulation de cette région diminue, et la réponse post-synaptique des cellules RS augmente aussi. Ces résultats

montrent que la substance P joue un rôle de neuromodulateur sur le réseau locomoteur du tronc cérébral de la lamproie (Brocard et al., 2005).

L'injection d'un antagoniste GABAergique, la gabazine, sur la MLR, provoque aussi la locomotion dans une préparation semi-intacte de lamproie, suggérant que la MLR des lamproies est sous un contrôle inhibiteur tonique. Des neurones doublement marqués, ont été trouvés dans les régions du cerveau antérieur incluant les ganglions de la base. Les résultats physiologiques indiquent que les neurones GABAergiques qui projettent vers la MLR modulent l'activité des neurones de cette région, qui pourront être inhibés par la GABA au repos (Ménard et al., 2007).

7- La région locomotrice diencéphalique chez la lamproie:

En plus de la MLR, il existe chez la lamproie, une région du diencéphale qui initie l'activité locomotrice, et contrôle son intensité. Elle a été nommée la région locomotrice diencéphalique (DLR; El Manira et al., 1997). Localisée dans la partie ventrale du thalamus, la DLR envoie des projections directes aux neurones RS dans le rhombencéphale. Ces projections impliquent principalement des synapses glutamatergiques monosynaptiques. La stimulation de la DLR induit une activation rythmique des cellules RS et des bouffées rythmiques dans les racines ventrales de la moelle épinière. La DLR reçoit des projections de diverses origines, dont le bulbe olfactif, les régions palliales, le striatum, la région du noyau préoptique, l'hypothalamus, le thalamus dorsal, ainsi que le tectum optique (El Manira et al., 1997). Cependant, le patron de recrutement des neurones RS en réponse à la stimulation de la

DLR reste inconnu, on ne sait pas exactement dans quels contextes comportementaux la MLR ou la DLR sont spécifiquement activées.

OBJECTIFS

L'objectif de cette étude était de déterminer si l'ensemble des cellules des quatre noyaux réticulospinaux répondent à la stimulation des différents relais olfacto-locomoteurs préalablement identifiés.

Le cerveau de lamproie permet aussi la réalisation d'expériences de marquage calcique grâce à la capacité de migration relativement rapide des marqueurs dans ses structures cérébrales (pour revue, voir Buchanan 2001). De plus, la préparation de cerveau isolé de lamproie, développée dans le laboratoire, possède une capacité de survie d'une journée ou deux. Nous avons utilisé cet avantage pour réaliser des expériences d'imagerie calcique nécessitant une période de migration des marqueurs de plusieurs heures.

Sur une préparation *in vitro* de cerveau de lamproie, nous avons étudié par la technique d'imagerie calcique, la réponse de l'ensemble des populations de neurones RS à une stimulation du système olfactif. Cette approche expérimentale permet de mesurer les variations du niveau de calcium intracellulaire de façon générale en lien avec l'activation cellulaire. Ainsi nous avons pu observer simultanément l'activité de l'ensemble des populations de neurones RS qui se retrouvent dans les quatre noyaux réticulaires.

Durant les expériences d'électrophysiologie et d'imagerie calcique, les cellules RS avaient un faible taux de réponses aux stimulations olfactives. Ceci pourrait être expliqué par l'existence d'un mécanisme de dépression modulatrice de la voie olfacto-locomotrice. Par conséquent, l'identification des territoires du bulbe olfactif par des techniques d'électrophysiologie était essentielle pour connaître la

région précise par laquelle les informations olfactives passent avant d'être transmises aux cellules RS. Par la suite, l'utilisation d'un antagoniste des récepteurs GABA_A a été nécessaire pour étudier l'effet du GABA, le principal neurotransmetteur dans le bulbe olfactif, sur la transmission des signaux olfactifs de type phéromonal sur l'ensemble des populations de neurones RS.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les expériences ont été réalisées sur des lamproies marines *Petromyzon marinus* au stade larvaire. Toutes les manipulations expérimentales sont conformes aux directives du Conseil Canadien de Protection des Animaux (CCPA) et sont approuvées par le Comité d'Éthique de l'Utilisation des animaux de l'Université de Montréal. Les animaux principalement pêchés dans les ruisseaux du Québec, sont conservés dans des aquariums à une température de 8°C. Les lamproies ont été anesthésiées au méthanesulphonate de tricaine (MS-222, 100 mg/L), puis rapidement décapitées au niveau de la cinquième paire de pores branchiaux. Elles sont ensuite disséquées de façon à garder une préparation avec la muqueuse olfactive intacte, attachée au système nerveux central. La partie dorsale de la muqueuse olfactive était enlevée de façon à exposer la cavité nasale, et faciliter le flux de la solution de Ringer au dessus de l'épithélium olfactif. L'appareil branchial et la musculature myotomale ont été enlevés, avec l'ensemble des tissus mous attachés à la partie ventrale du crâne. Une incision dorsale a été faite pour exposer la moelle épinière rostrale, le tronc cérébral, et le cerveau antérieur. La chirurgie est réalisée dans une solution de Ringer oxygénée, maintenue à une température de 4°C. La composition du Ringer est la suivante : 30 mM NaCl, 2,1 mM KCl, 2,6 mM CaCl₂, 1,8 mM MgCl₂, 4 mM HEPES, 4 mM dextrose et 1 mM NaHCO₃, et le pH est ajusté à 7,4 avec une solution de NaOH (5M).

Imagerie calcique:

Ce marquage a pour but de marquer de manière rétrograde les corps cellulaires des neurones RS, qui projettent dans la moelle épinière. Une technique d'imagerie calcique est par la suite réalisée sur les neurones RS rétro-marqués. La préparation fraîchement disséquée est fixée, face dorsale vers haut, sur un bloc de sylgard. La moelle épinière est ensuite sectionnée au niveau du premier ou deuxième segment à l'aide de ciseaux fins. Des cristaux de marqueurs fluorescents (Calcium Green 3000 MW) sont ensuite placés au niveau de la lésion pendant 20 minutes afin de marquer les axones des cellules RS. Ces cristaux fluorescents vont ainsi migrer rétrogradement le long des axones, et remplir l'ensemble des corps cellulaires des neurones RS correspondants. L'excédant de marqueur est rincé puis la préparation est placée dans un bain d'incubation perfusé, oxygéné et refroidi pendant 24 à 48 heures. Les préparations sont observées 12 heures après le marquage afin de contrôler la progression de la migration. Les cerveaux non marqués ou trop faiblement marqués à ce stade ont été exclus des expériences.

Après 24 à 48 heures, les préparations sont transférées et fixées dans une cuve d'enregistrement perfusée avec une solution de Ringer oxygénée et refroidie. Une électrode de stimulation en tungstène est placée sur le nerf olfactif, le bulbe olfactif ou le tubercule postérieur.

En présence du Calcium Green, une activation électrique des cellules marquées, provoque une augmentation du calcium intracellulaire qui à son tour, augmentera l'intensité de la fluorescence avec un pic s'approchant de 532 nm. Le

signal optique produit par le calcium green possède une résolution adéquate pour enregistrer l'activité rythmique en cours (McPherson et al., 1997).

L'enregistrement de la fluorescence est réalisé grâce à un microscope Nikon à une fréquence d'acquisition de 2 images par seconde, en utilisant le logiciel Métafluor. Les sites d'enregistrement (corps cellulaires des neurones RS) sont identifiés à l'écran puis les réponses calciques sont enregistrées comme étant le rapport de la variation de la fluorescence sur la fluorescence basale $\Delta F/F$ (%). L'analyse des résultats a été réalisée avec les logiciels Métafluor Analyst et Clampfit. Les préparations qui ne répondaient à aucune stimulation du tubercule postérieur, de la MLR ou en réponse à la perfusion de glutamate (10-15 μM) dans la cuve d'enregistrement, étaient exclus de l'étude.

Électrophysiologie:

La préparation a été mise en place tout en exposant la face dorsale du cerveau dans une cuve d'enregistrement perfusée par une solution de Ringer froide oxygénée à un taux d'environ 4ml/min. Cette préparation a été mise au repos pour une récupération post- opérationnelle pour un minimum d'une heure avant l'enregistrement physiologique.

Des microélectrodes de verre, remplies d'une solution d'acétate de potassium 4M (80-130 $\text{M}\Omega$) ont été utilisées pour l'enregistrement intracellulaire des neurones RS du MRRN et du PRRN. Ces neurones étaient visualisés à l'aide d'un microscope binoculaire. L'acquisition du signal électrique a été réalisée à l'aide d'un système Digidata 1200 couplé à un amplificateur de type Axoclamp 2A et stocké sur un

ordinateur à l'aide du logiciel Clampex. Seuls les neurones RS qui avaient un potentiel membranaire stable et en dessous de -70mV pendant au moins 15 min ont été considérés pour cette étude.

Le nerf ou le bulbe olfactif et le tubercule postérieur ont été stimulés électriquement par une microélectrode de tungstène enrobée de verre commandée par un micro-stimulateur programmable. La stimulation était appliquée chaque 10 s par train de 1 à 3 pulses d'une durée de 1-2 ms et d'intensités variant 1 à $100\ \mu\text{A}$. Les réponses synaptiques des neurones RS ont été représentées sous la forme de la moyenne de 8 réponses consécutives pour la même stimulation.

Analyse des données et analyse statistique:

Les tracés électrophysiologiques ont été analysés avec Clampfit v9. L'aire des cellules enregistrées en imagerie calcique a été calculée à l'aide du logiciel imageJ. L'ensemble des résultats a été stocké sur un tableur (Excel). Les études statistiques ont été réalisées avec le logiciel Sigmapstat 3.5. Les échantillons dépendants ont été analysés avec le *paired t-test* (paramétrique) ou le *Wilcoxon signed rank test* (non paramétrique). Parfois, un test de corrélation (*Spearman rank order correlation test*) a été utilisé pour déterminer des relations entre les variables mesurées. Le critère de significativité a été fixé arbitrairement à $p < 0.05$. Les résultats représentent la moyenne \pm erreur standard à la moyenne.

Pharmacologie:

Pour les éjections locales de drogues comme le glutamate, les antagonistes des récepteurs glutamatergiques (AP5 et CNQX) et GABAergiques (Gabazine), le colorant inactif Fast Green a été ajouté à la solution pour surveiller l'étendue des injections. Ces drogues ont été appliquées à l'aide d'un micro-injecteur de type Picospritzer (Parker instruments, NJ, USA), en utilisant des micropipettes en verre. Une autre solution contenant un mélange de Ringer et de colorant Fast Green a été injectée au même endroit que les drogues utilisées dans cette étude. Ces injections ont été utilisées comme contrôle durant chaque expérience. Tous les produits chimiques ont été obtenus chez Sigma-Aldrich (Oakville, ON, Canada).

RÉSULTATS

Dans un premier temps, nous avons marqué de façon rétrograde les neurones RS au Calcium Green. Ensuite nous avons enregistré la variation de la fluorescence dans les cellules RS du MRRN, lors de la stimulation du nerf olfactif. Le marquage au Calcium Green nous a permis d'enregistrer simultanément l'activité de 20 à 50 cellules du MRRN, dont les corps cellulaires étaient de petit ou de gros diamètre. La réponse des cellules RS du MRRN a été observée sur 4 préparations. La stimulation du nerf olfactif (10 à 20 μA) a induit une augmentation simultanée de la fluorescence au niveau de l'ensemble des cellules RS enregistrées dans le MRRN (**Fig. 3**).

Dans la figure 3A, un schéma du dispositif expérimental montre une préparation de cerveau isolé de lamproie ainsi que la région enregistrée (les cellules du MRRN). Les neurones identifiés sont montrés dans la photo en pseudocouleur sur la figure 3B. Le graphique de l'augmentation de la fluorescence (**Fig. 3C**) montre la réponse de 44 cellules identifiables du MRRN, incluant des cellules de gros et de petits diamètres. Cette augmentation est généralement comprise entre 10 et 20% de $\Delta F/F$.

Nous avons observé que l'intensité de la réponse variait d'une cellule à l'autre ainsi que d'une préparation à l'autre. Nous avons analysé les relations entre l'intensité de la réponse en fluorescence et l'aire des neurones RS, et nous n'avons trouvé aucune corrélation significative (100 cellules, réparties sur deux préparations $p > 0.05$, *Spearman rank order correlation test*). Ceci signifie donc que l'intensité de la réponse induite n'était pas dépendante de la taille du neurone enregistré.

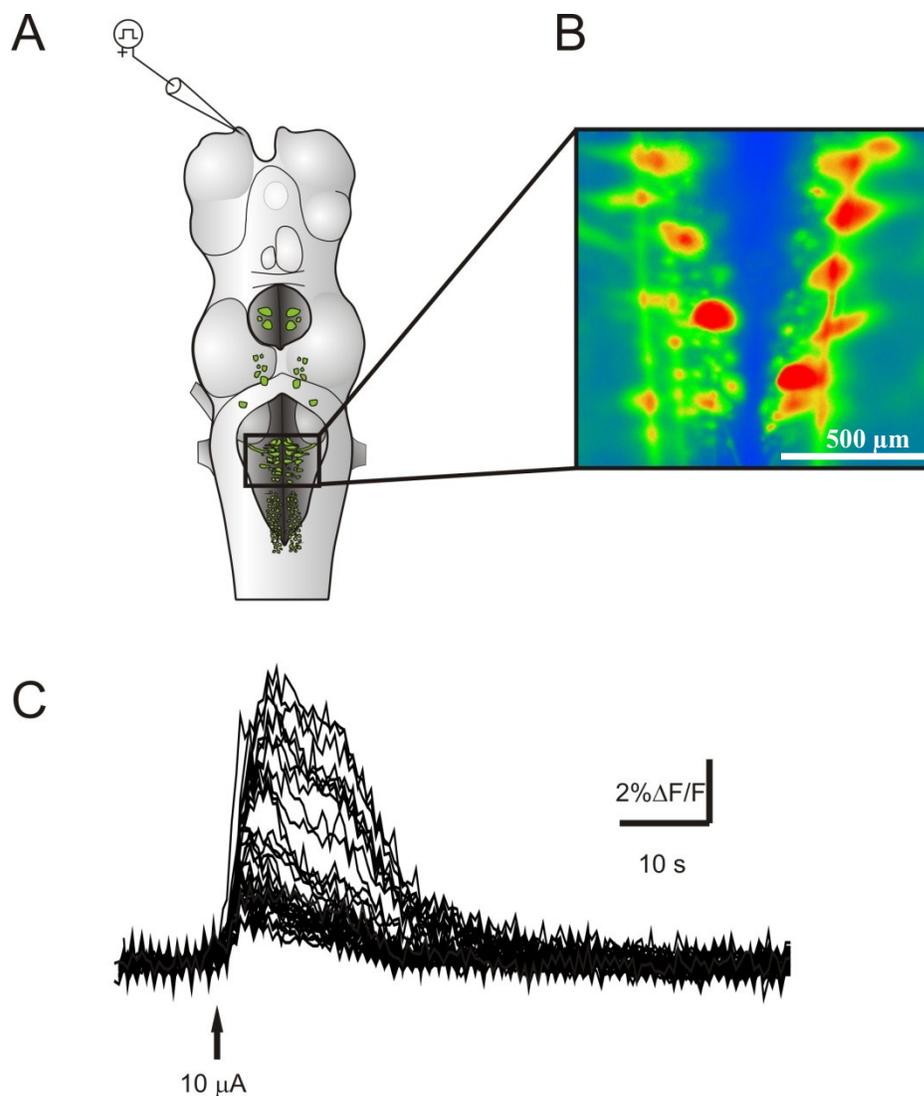


Figure 3: Réponse calcique bilatérale des cellules réticulospinales du MRRN à la stimulation unilatérale du nerf olfactif. La stimulation du nerf olfactif (10-20 μA , 10 Hz) induit des réponses calciques dans toutes les cellules RS identifiables du MRRN. **A** : Illustration de la préparation cerveau/moelle épinière isolés. La position de l'électrode de stimulation sur le nerf olfactif est indiquée. Les réponses calciques de 44 neurones RS du MRRN obtenues sur le même cerveau ont été mesurées. **B** : Photomicrographie en pseudocouleur montrant la fluorescence au niveau du MRRN avant la stimulation. **C** : Tracés illustrant les réponses des neurones RS identifiés sur la photomicrographie en B.

Nous avons ensuite voulu savoir si l'activation d'un seul nerf olfactif activait préférentiellement les cellules du MRRN du côté ipsilatéral à la stimulation. Nous avons analysé et comparé l'intensité de la réponse de 3 types de neurones identifiés visuellement : les cellules B1, B3 et B4 de Müller du côté ipsilatéral à la stimulation, ainsi que leurs homologues controlatéraux. Deux paramètres ont été étudiés : l'intensité maximale de la réponse en variation de la fluorescence (en $\% \Delta F/F$), et la valeur de la surface sous la courbe de la réponse (en $\% \Delta F/F.s$) qui intègre une

L'intensité de la réponse varie d'une cellule à l'autre ainsi que d'une préparation à l'autre. Ainsi les neurones B1 ipsilatéraux ont une amplitude moyenne de $17.6 \pm 0.8 \% \Delta F/F$, tandis que l'aire sous la courbe en $\% \Delta F/F.s$ est de 7.2 ± 5.2 . Pour les cellules B3 ipsilatérales l'amplitude moyenne est de $10.7 \pm 6.7 \% \Delta F/F$ alors que l'aire sous la courbe est de $2.5 \pm 0.2 \% \Delta F/F.s$. Les cellules B4 du même côté ont une amplitude moyenne de $14.9 \pm 1.3 \% \Delta F/F$ et l'aire sous la courbe est de $6.4 \pm 4.5 \% \Delta F/F.s$. Les neurones B1, B3 et B4 controlatéraux ont respectivement des amplitudes moyennes de 12.1 ± 8.8 , 10.4 ± 6.6 , et $10.2 \pm 4.4 \% \Delta F/F$ et des surfaces sous la courbe de 2.6 ± 0.2 , 2.4 ± 0.3 et $2.2 \pm 0.7 \% \Delta F/F.s$. Ainsi, il n'y a pas de différence significative de l'intensité de la réponse des cellules RS du MRRN, entre les côtés ipsi- et contro-latéraux lorsqu'on stimule le nerf olfactif unilatéralement, tant au niveau de l'amplitude maximale de la réponse ($p = 0.6$, *Wilcoxon signed rank test*, $n = 6$ cellules provenant de 2 animaux) que pour l'aire sous la courbe de la réponse ($p = 0.3$, *Wilcoxon signed rank test*, $n = 6$ cellules provenant de 2 animaux).

Les travaux préalablement menés au laboratoire avaient montré que le premier relai de la voie olfacto-locomotrice était situé dans la partie médiane du bulbe olfactif. Nous avons ensuite voulu savoir si la stimulation de cette partie du bulbe

olfactif était capable d'activer l'ensemble des neurones du MRRN (**Fig. 4**). Nous avons donc utilisé la même technique d'approche par imagerie calcique par fluorescence précédemment décrite. Nous avons observé que la stimulation de la partie médiane du bulbe olfactif, induisait une augmentation de la fluorescence sur l'ensemble des neurones du MRRN identifiés ($n = 5$ préparations). L'amplitude maximale des réponses enregistrées fluctuait entre 6 et 9 % $\Delta F/F$ pour des intensités de stimulation comprises entre 10 et 20 μA . Le schéma de la figure 4A illustre le dispositif expérimental d'une préparation de cerveau isolé de lamproie ainsi que la région enregistrée (les cellules du MRRN). Les neurones identifiés sont montrés dans la photo en pseudocouleur sur la figure 4B. Le graphique de l'augmentation de la fluorescence (**Fig. 4C**), montre 9 neurones RS du MRRN d'un même cerveau. Comme lors de la stimulation du nerf olfactif, nous avons observé une relative synchronisation dans l'activité de l'ensemble des neurones RS du MRRN en réponse à une stimulation unilatérale du bulbe olfactif.

Nous avons ensuite comparé les réponses de quelques neurones RS entre les côtés ipsi- et contro-latéraux afin de déterminer si la stimulation unilatérale du bulbe olfactif activait préférentiellement les neurones RS du côté ipsilatéral à la stimulation. Ainsi les cellules B1 expriment une augmentation maximale de fluorescence de 7.2 ± 2.8 % $\Delta F/F$ du côté ipsilatéral et la surface sous la courbe de leur réponse est de 1.3 ± 0.5 % $\Delta F/F.s$. Du côté controlatéral l'augmentation maximale de la fluorescence est de 9.0 ± 2.2 % $\Delta F/F$ avec une surface sous la courbe de 1.6 ± 0.2 % $\Delta F/F.s$. Les cellules B3 expriment une augmentation de fluorescence de $6.7 \pm 2.7\%$ de % $\Delta F/F$ du coté ipsilatéral et une surface sous la courbe de 1.3 ± 0.5 % $\Delta F/F.s$.

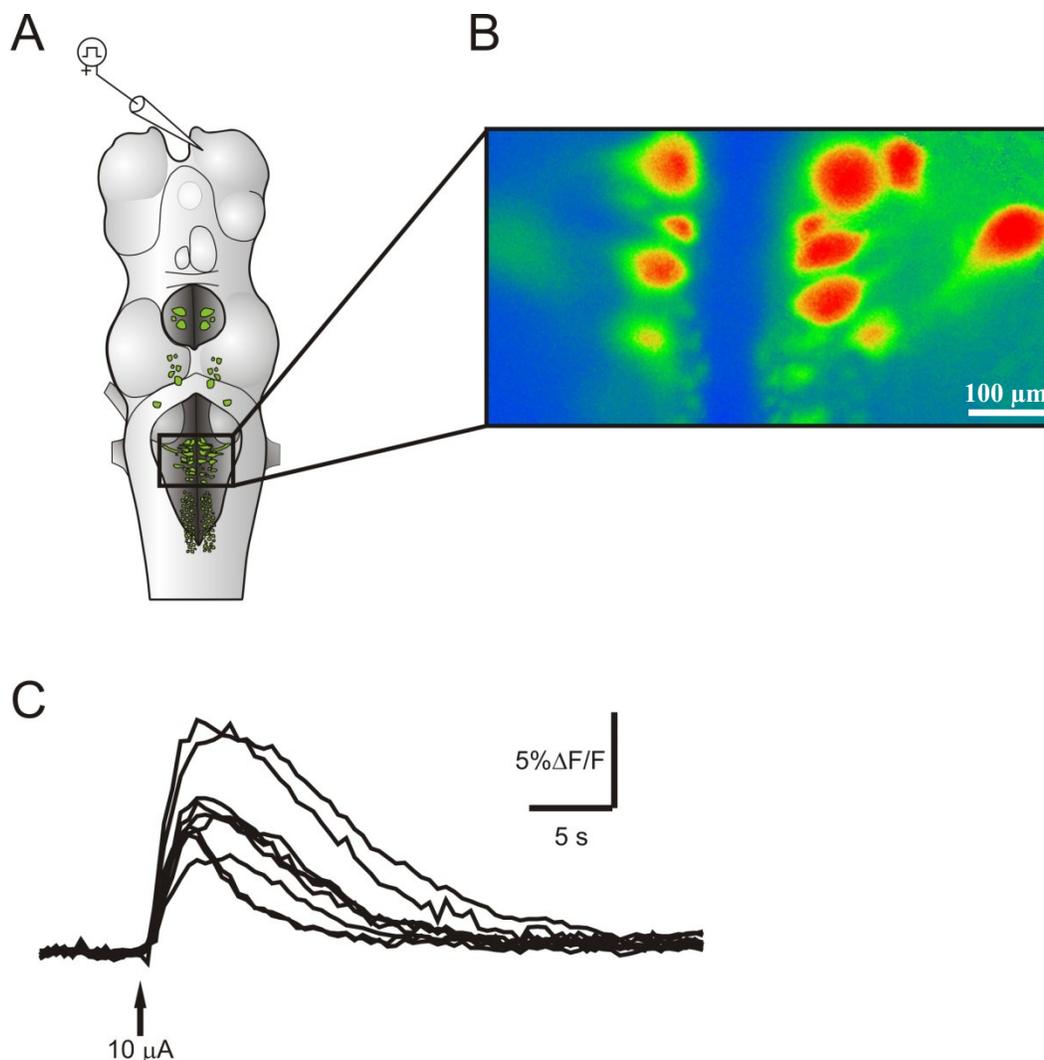


Figure 4: Réponse calcique bilatérale des cellules réticulospinales du MRRN à la stimulation unilatérale du bulbe olfactif. La stimulation du bulbe olfactif (10 μ A, 10 Hz) induit des réponses calciques dans les cellules RS du MRRN. La stimulation de la partie médiane du bulbe olfactif produit un patron d'activation des cellules RS similaire à celui induit par la stimulation du nerf olfactif. **A** : La position de l'électrode de stimulation dans le bulbe olfactif est indiquée sur cette représentation de la préparation cerveau/moelle-épineière isolés. Les réponses calciques ont été mesurées dans 9 neurones RS du MRRN dans un même cerveau. **B** : Photomicrographie en pseudocouleur montrant la fluorescence au niveau du MRRN avant la stimulation électrique. **C** : Tracés illustrant les réponses des neurones RS identifiés sur la photomicrographie en B.

Du côté controlatéral l'augmentation de la fluorescence est de 7.3 ± 1.7 $\% \Delta F/F$ et une surface sous la courbe de 1.2 ± 0.1 $\% \Delta F/F.s$. Les cellules B4 expriment une augmentation maximale de fluorescence de 6.7 ± 2.6 $\% \Delta F/F$ du côté ipsilatéral et une surface sous la courbe de 1.3 ± 0.6 $\% \Delta F/F.s$. Du côté controlatéral l'augmentation de la fluorescence est de 6.7 ± 1.2 $\% \Delta F/F$ et une surface sous la courbe de 1.1 ± 0.1 $\% \Delta F/F.s$. Lorsqu'elles sont comparées entre le côté ipsilatéral et controlatéral à la stimulation, les réponses des cellules RS du MRRN ne sont pas significativement différentes tant pour l'amplitude maximale ($p = 0.7$, *paired t-test*, $n = 15$ cellules provenant de 5 préparations) que pour l'aire sous la courbe de la réponse ($p = 0.9$, *paired t-test*, $n = 15$ cellules). Ces résultats montrent que la stimulation de la partie médiane du bulbe olfactif induit des réponses bilatérales, symétriques dans le MRRN et que l'ensemble des cellules du MRRN pouvait répondre à la stimulation du bulbe olfactif.

Nous avons ensuite cherché à déterminer dans la structure en amont du tubercule postérieur (la partie médiane du bulbe olfactif) une cartographie ainsi qu'une caractérisation plus précise du glomérule qui projette vers le tubercule postérieur. Nous avons utilisé une approche électrophysiologique en enregistrant, en intracellulaire, les neurones RS du MRRN pendant la stimulation des différentes régions du bulbe olfactif (**Fig. 5**), et comparé les réponses observées par rapport à celles induites par la stimulation du nerf olfactif chez le même animal.

Nous avons subdivisé le bulbe olfactif en plusieurs secteurs. La stimulation de la partie médiane (**Fig. 5A, 5B-2**) était capable d'induire une réponse synaptique similaire à celle induite par la stimulation du nerf olfactif (**Fig. 5A, 5B-1**) dans les neurones RS du MRRN. Généralement, les stimulations des autres régions du bulbe

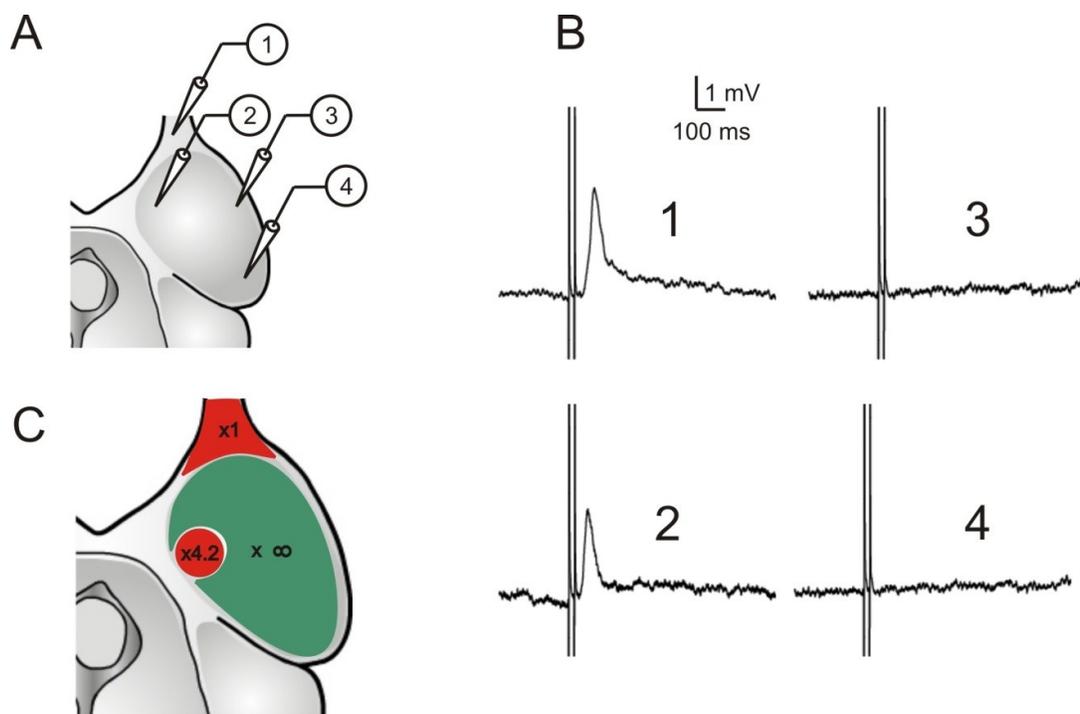


Figure 5 : Identification des territoires du bulbe olfactif impliqués dans la transmission des entrées olfactives aux cellules RS du MRRN. **A** : Représentation des différentes positions de la microélectrode de stimulation sur le bulbe olfactif. **B1** : Réponse intracellulaire d'une cellule du MRRN à une stimulation de 15 μ A du nerf olfactif. **B2-4** : Réponse intracellulaire de la même cellule à la stimulation des différentes régions du bulbe olfactif. Notez que les réponses sont absentes lors la stimulation de la partie latérale du bulbe olfactif. **C** : Cartographie du seuil de l'intensité relative de la stimulation nécessaire pour évoquer des réponses synaptiques dans les cellules RS du MRRN. Les valeurs de seuil sont exprimées par rapport à l'intensité seuil qui provoque une réponse dans ces mêmes cellules suite à la stimulation du nerf olfactif (n = 5). Notez que seule la partie médiane du bulbe olfactif induit des réponses dans les cellules RS.

olfactif ne produisaient aucune réponse dans les neurones RS enregistrés. Si une réponse synaptique était présente, son amplitude n'excédait jamais 1 mV.

Pour confirmer que la partie médiane du bulbe olfactif est un relai important des informations olfactives vers le système locomoteur, nous avons mesuré l'intensité relative du courant nécessaire pour déclencher une réponse RS en stimulant le bulbe olfactif, par rapport à celle du nerf olfactif chez le même animal. La stimulation du nerf olfactif induit en effet une réponse détectable dans les RS pour des valeurs seuils de $4.2 \pm 1.0 \mu\text{A}$, tandis que la stimulation de la partie médiane du bulbe déclenche une réponse synaptique dans les RS à partir de $12.4 \pm 5.0 \mu\text{A}$. Le rapport moyen entre les intensités seuils du nerf olfactif et de la région médiane du bulbe olfactif est d'environ 4 ($n = 5$ préparations). La stimulation des régions plus latérales du bulbe olfactif (**Fig. 5A, 5B-3 et 5B-4**) n'induisait qu'une réponse synaptique très faible, ou absente dans les cellules RS. A titre de comparaison, une stimulation de $30 \mu\text{A}$ dans la partie médiane du bulbe olfactif induit des PPSEs d'environ $2.1 \pm 0.3 \text{ mV}$ dans les neurones RS, alors que la même intensité appliquée dans la partie latérale induisait une réponse très significativement plus faible ($0.6 \pm 0.2 \text{ mV}$; $p < 0.001$; *paired t-test*, $n = 13$ animaux). Dans la plupart des cas, même une stimulation de $50 \mu\text{A}$ (12 fois l'intensité seuil de stimulation du nerf olfactif déclenchant une réponse dans les RS) n'induisait pas de réponse dans les neurones RS du MRRN (**Fig. 5C**). Nous avons ensuite voulu déterminer si les informations olfactives issues du nerf olfactif transitaient par un relai synaptique au niveau de la partie médiane du bulbe olfactif. Il avait été démontré au sein du laboratoire que l'injection de glutamate au niveau du bulbe olfactif déclenchait un épisode locomoteur, et que l'injection d'antagonistes des

récepteurs glutamatergiques sur l'ensemble du bulbe bloquait les réponses des cellules RS à la stimulation du nerf olfactif (Derjean et al., 2010).

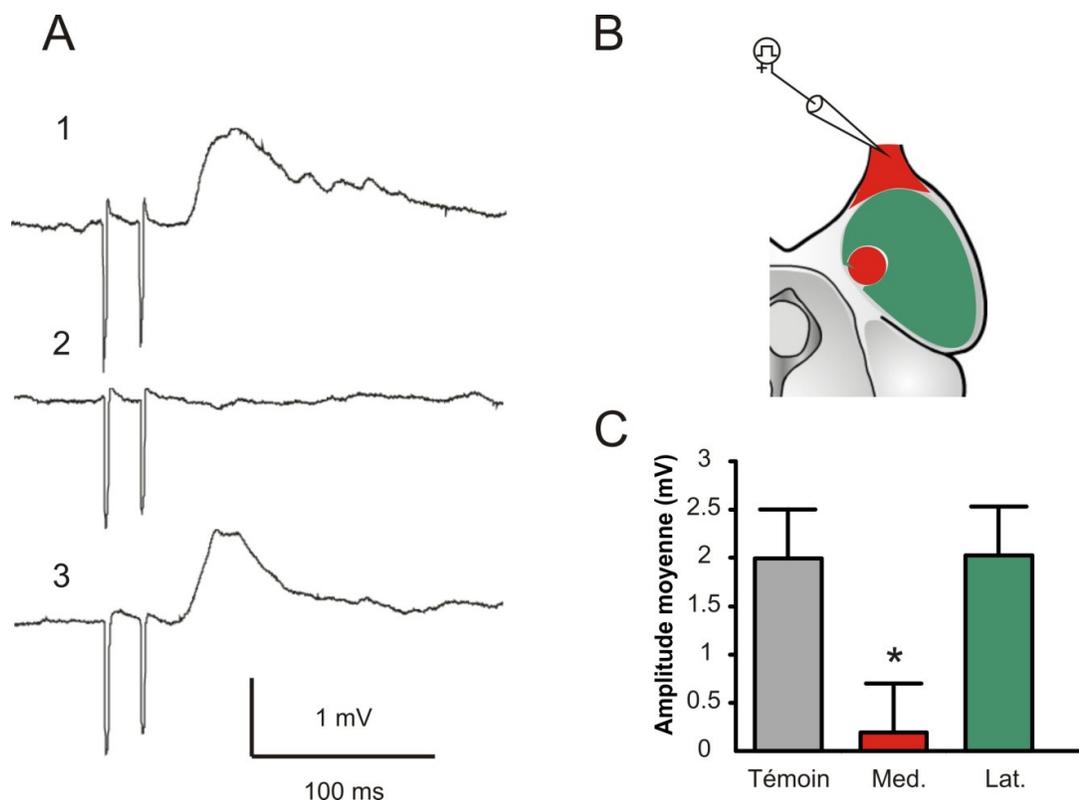


Figure 6 : La partie médiane du bulbe olfactif relaie les réponses dans les cellules RS du MRRN. **A :** Exemple d'enregistrement de la réponse d'un neurone RS du MRRN à la stimulation du nerf olfactif (30 μ A, 10 Hz) avant (**A1**) et après une injection locale d'un mélange d'AP5 et de CNQX de la partie médiane du bulbe olfactif (**A2**). Les réponses excitatrices réapparaissent après lavage du cocktail pharmacologique (**A3**). **B :** Représentation schématique de la stimulation du nerf olfactif et des sites d'injections locales du mélange d'AP5 et de CNQX dans le bulbe olfactif. **C :** Amplitude moyenne des réponses des neurones RS suite à la stimulation du nerf olfactif avant (*gris*) et après injections locales du mélange d'AP5 et de CNQX dans la partie médiane (*rouge*), et la partie latérale (*vert*) du bulbe olfactif (* $p < 0.05$ versus témoin, *paired t-test*).

Nous avons donc caractérisé les effets de l'injection d'un mélange d'antagonistes des récepteurs glutamatergiques dans les différentes régions du bulbe olfactif sur la réponse électrophysiologique des cellules RS à la stimulation du nerf olfactif. Nous avons trouvé que le mélange d'AP5 (10 mM) et de CNQX (1 mM) était capable d'inhiber la réponse RS à la stimulation du nerf olfactif uniquement lorsque l'injection est réalisée dans la partie médiane du bulbe olfactif (**Fig. 6**). Ainsi une injection dans le bulbe olfactif médian diminue la réponse des neurones RS à une stimulation de 30 μ A du nerf olfactif de 2.0 ± 0.4 mV à 0.2 ± 0.07 mV ($n = 4$; $p = 0.0027$, *paired t-test*; **Fig. 6-1 et A-2, 6C**). Par contre, une injection d'antagonistes glutamatergiques dans les parties latérales du bulbe olfactif ne modifie pas de façon significative la réponse synaptique des RS à la stimulation du nerf olfactif (1.9 ± 0.3 mV; $n = 4$; $p = 0.8526$, *paired t-test*, **Fig. 6C**). L'ensemble de ces résultats confirment donc le rôle essentiel de la partie médiane du bulbe olfactif dans la transformation d'une information olfactive en commande motrice.

Le tubercule postérieur est la principale cible de projection des cellules mitrales du bulbe olfactif médian (Derjean et al., 2010). Il s'agit d'une structure projetant vers la MLR (Ménard et al., 2007). Cette structure est indispensable dans la transformation olfacto-locomotrice, dans la mesure où son inhibition par des antagonistes glutamatergiques bloque les réponses RS à la stimulation du nerf olfactif (Derjean et al., 2010). Au cours de ma maîtrise, nous avons voulu savoir si la stimulation du tubercule postérieur était capable d'activer les neurones du MRRN. Nous avons placé une électrode de stimulation sur le tubercule postérieur, puis enregistré la réponse électrophysiologique des neurones du MRRN à des stimulations

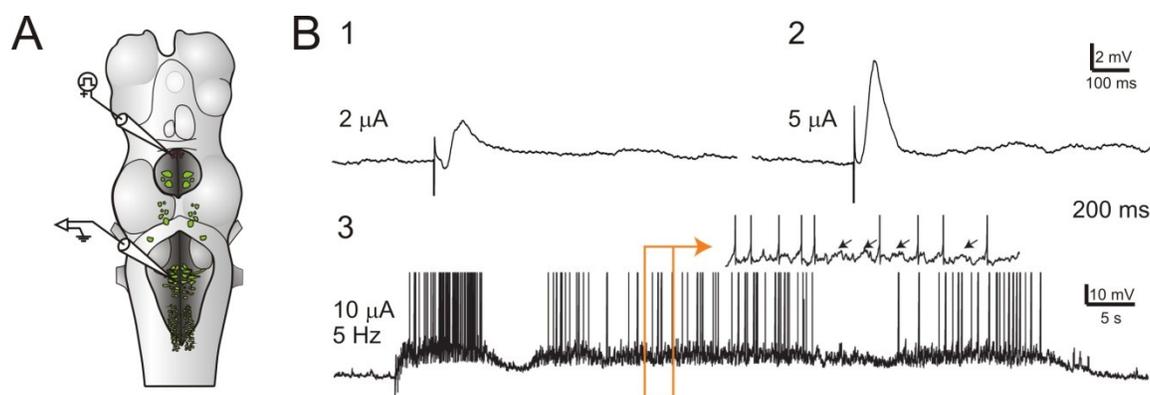


Figure 7 : Réponse électrique d'un neurone du MRRN à la stimulation du tubercule postérieur. A : Représentation de la préparation cerveau/moelle épinière isolés, incluant la position de l'électrode de stimulation dans le tubercule postérieur et une électrode d'enregistrement intracellulaire au niveau du MRRN. B : Réponse électrique d'un neurone du MRRN induite par la stimulation électrique du tubercule postérieur [choc unique de 2 μA (B1), choc unique de 5 μA (B2), et train de 10 μA à 5 Hz (B3)].

uniques ou à des trains de stimulation (**Fig. 7**). L'enregistrement intracellulaire de l'activité d'une cellule RS du MRRN en réponse à la stimulation du tubercule postérieur (**Fig. 7B**), montre que cette région induit des réponses excitatrices dans les neurones RS. De plus, lorsqu'on augmente l'intensité de stimulations en choc unique de 2 à 5 μA , l'amplitude du PPSE dans le neurone RS est accrue (**Fig. 7B-1 et 7B-2**). Un train de 7 stimulations de 10 μA à 5 Hz provoque des longues dépolarisations soutenues d'environ 70 secondes dans la même cellule RS (**Fig. 7B-3**). Cette activité soutenue a été préalablement montrée comme étant nécessaire pour produire la nage (Viana Di Prisco et al., 1997). L'amplitude de la réponse intracellulaire des neurones RS était proportionnelle à l'intensité de la stimulation du tubercule postérieur.

Nous avons voulu déterminer ensuite si l'activation du tubercule postérieur était capable d'activer une population de neurones, et si les quatre noyaux RS peuvent être activés par la stimulation du tubercule postérieur. L'utilisation de la technique d'imagerie calcique a permis de montrer que la stimulation du tubercule postérieur (10 à 20 μA à 10 Hz) déclenche une réponse dans toutes les populations de neurones des quatre noyaux RS : MRN, ARRN, MRRN et PRRN (**Fig. 8**).

Dans le MRN, la stimulation du tubercule postérieur induit une réponse dont l'amplitude maximale est de $2.8 \pm 0.3 \text{ \%}\Delta\text{F}/\text{F}$ et la moyenne de la surface mesurée est de $28.7 \pm 4.8 \text{ \%}\Delta\text{F}/\text{F.s}$ pour 24 cellules enregistrées sur 5 animaux différents (**Fig. 8-1**).

Dans les cellules de l'ARRN, les réponses observées ont une amplitude maximale moyenne de $5.9 \pm 5.3 \text{ \%}\Delta\text{F}/\text{F}$ et une surface moyenne sous la courbe de leur réponse en $\text{ \%}\Delta\text{F}/\text{F.s}$ de 87.5 ± 5.3 pour 156 cellules enregistrées dans 5 préparations (**Fig. 8-2**).

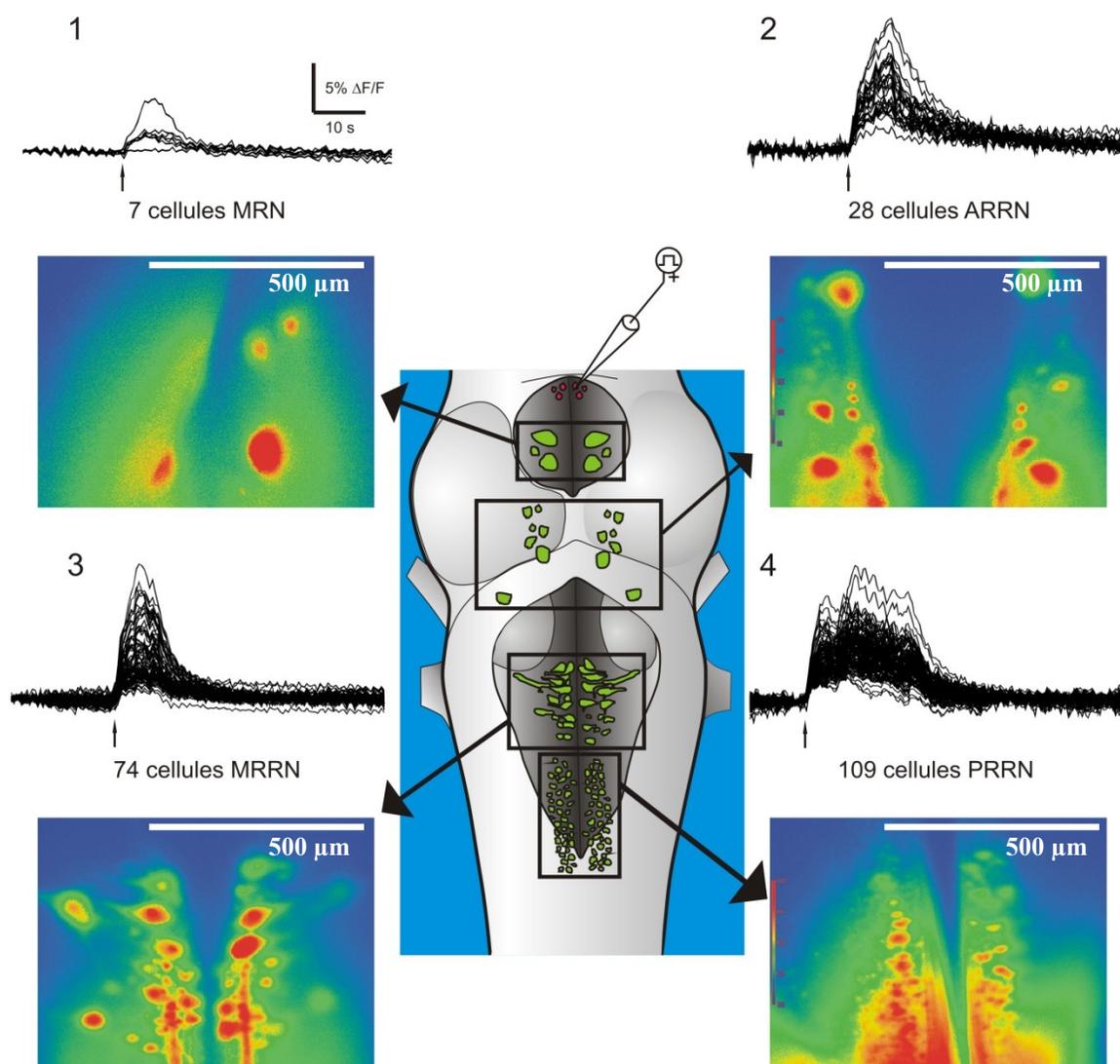


Figure 8 : Réponse calcique induite dans les quatre noyaux réticulaires suite à la stimulation du tubercule postérieur. Les noyaux réticulaires de la lamproie sont illustrés sur le schéma du tronc cérébral au centre. La position de l'électrode de stimulation dans le tubercule postérieur est illustrée. Toutes les cellules RS identifiables dans les quatre noyaux réticulaires du MRN (1), de l'ARRN (2), du MRRN (3) et du PRRN (4) montrent des réponses calciques suite à la stimulation du tubercule postérieur (train de 10 s à 10 μ A à 10 Hz).

Les neurones du MRRN ont également été activés massivement par la stimulation du tubercule postérieur. En effet les 74 cellules identifiées ont toutes été activées par la stimulation du tubercule postérieur (**Fig. 8-3**). L'amplitude maximale moyenne de la réponse calcique était de $11.2 \pm 0.5 \% \Delta F/F$ et l'aire moyenne sous la courbe de $159.2 \pm 8.1 \% \Delta F/F.s$ ($n = 266$ cellules identifiées chez 5 animaux).

En dernier lieu, la stimulation du tubercule postérieur active également l'ensemble des neurones du PRRN. La moyenne de l'amplitude maximale de la réponse est de $8.8 \pm 0.2 \% \Delta F/F$ et la valeur moyenne de la surface mesurée en $\% \Delta F/F.s$ est de 170.9 ± 5.5 pour les 396 cellules du PRRN identifiées sur 5 cerveaux de lamproies (**Fig. 8-4**). Ces résultats confirment que le tubercule postérieur est une région locomotrice dont la stimulation induit un épisode de nage chez la lamproie.

Cependant, nous avons pu observer que la stimulation du tubercule postérieur était beaucoup plus efficace pour induire la réponse des neurones RS que les stimulations plus en amont. En effet, lorsqu'il est stimulé, le tubercule postérieur induit une activation du MRRN chez 63.6 % de cas testés. Ce taux descend à 25 % pour la stimulation du bulbe olfactif et à 16.7 % pour une stimulation du nerf olfactif. Ceci est particulièrement vrai pour des animaux maintenus en captivité pendant une longue période dans un aquarium en chambre froide au laboratoire, puisque le taux d'échec à la stimulation du nerf olfactif peut augmenter à 100 % au-delà de quatre mois de captivité. Ces observations suggèrent que dans la voie olfacto-locomotrice, la partie en amont du tubercule postérieur pourrait être inhibée lorsque les animaux sont dans un milieu aseptique et différent de leur environnement naturel.

Par la suite, nous avons voulu déterminer si la partie médiane du bulbe olfactif était soumise à une modulation inhibitrice qui pourrait expliquer l'absence de réponse

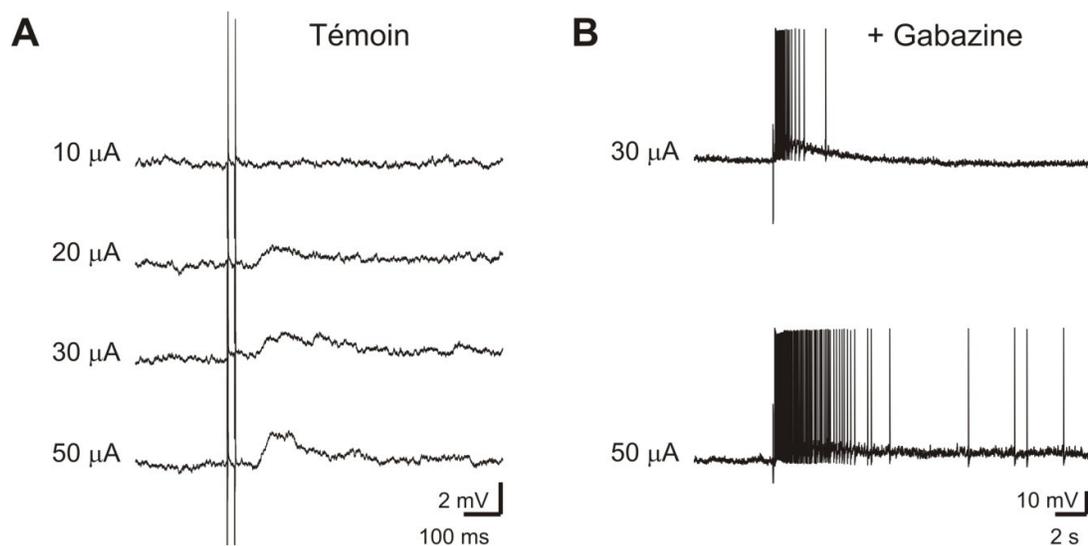


Figure 9 : Amplification de la réponses des cellules RS du MRRN par la gabazine. **A** : La stimulation du nerf olfactif entraîne des réponses synaptiques sous le seuil de déclenchement des potentiels dans les neurones RS. **B** : L'injection de gabazine (1mM) dans le bulbe olfactif amplifie fortement la réponse des neurones RS du MRRN (n = 5 animaux). Notez que des intensités de stimulation produisant une réponse infraliminaire en condition contrôle déclenchent des potentiels d'action lorsque l'antagoniste GABAergique est injecté dans le bulbe olfactif.

chez certains animaux maintenus en captivité depuis plusieurs mois. Puisque le bulbe olfactif médian est une structure qui projette directement au tubercule postérieur, et que le bulbe olfactif contient une importante innervation inhibitrice GABAergique, nous avons cherché à savoir si la neurotransmission GABAergique pouvait moduler la transformation olfacto-locomotrice chez la lamproie au niveau du bulbe olfactif.

Pour cela, nous avons comparé la réponse électrophysiologique des neurones RS à la stimulation électrique du nerf olfactif, avant et après blocage des récepteurs GABA_A dans le bulbe olfactif.

Chez les animaux présentant une réponse à la stimulation du nerf olfactif, nous avons observé que l'injection locale de l'antagoniste des récepteurs GABA_A gabazine (1 mM) dans le bulbe olfactif amplifie la réponse des cellules RS du MRRN (n = 5 animaux). Dans l'exemple montré sur la figure 9, des stimulations de nerf olfactif allant de 10 à 50 μ A induisaient des réponses synaptiques dans la cellule RS mais pas de potentiel d'action (**Fig. 9-A**). L'amplitude de ces PPSEs semble proportionnelle à l'intensité de stimulation. Après injection de gabazine dans le bulbe olfactif, ces mêmes intensités de stimulation induisaient une plus forte réponse de la même cellule RS qui déchargeait alors une bouffée de potentiels d'actions (**Fig. 9-B**). La durée de la décharge et le nombre de potentiels d'actions semblent proportionnels à l'intensité de la stimulation (**Fig. 9B**).

Chez certains animaux maintenus en captivité depuis plusieurs mois, la stimulation du nerf olfactif n'induisait aucune réponse synaptique dans les cellules RS. Nous avons observé qu'une injection de gabazine dans le bulbe olfactif révélait également chez ces animaux une réponse en bouffée de potentiels d'action dans les cellules RS du MRRN (n = 6). La figure 10 illustre l'exemple d'un animal dont les

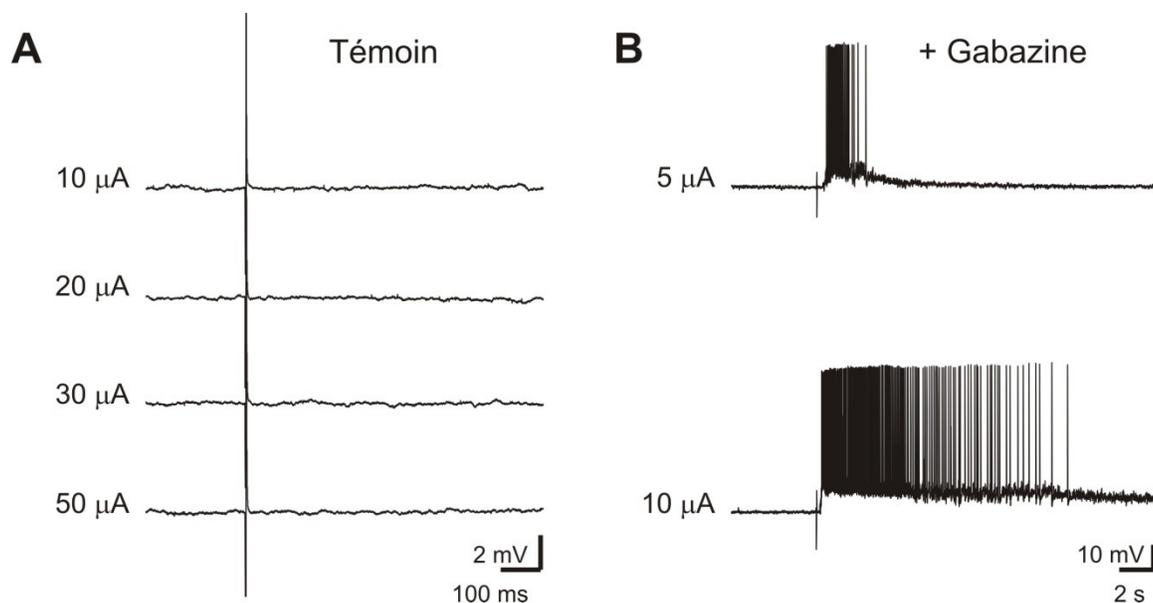


Figure 10 : Apparition d'une réponse dans les cellules RS du MRRN sous gabazine. L'activité électrique des neurones RS a été enregistrée tandis que des stimulations électriques ont été appliquées au niveau du nerf olfactif. Dans les préparations ($n = 6$) où il n'y avait pas de réponse dans les neurones RS du MRRN suite à la stimulation du nerf olfactif, l'injection de gabazine (1mM) a provoqué des réponses en bouffées de potentiels d'action (A-B).

neurones RS ne montrent aucune réponse à des stimulations électriques du nerf olfactif allant de 10 à 50 μA (**Fig. 10A**). Après injection de gabazine dans le bulbe olfactif, des bouffées de potentiels d'action ont été déclenchées par des stimulations à des intensités ne produisant aucune réponse en condition contrôle (**Fig. 10B**). De la même manière, la durée de la décharge et le nombre de potentiels d'actions semblent dépendre de l'intensité de stimulation (**Fig. 10B**).

Nous avons ensuite voulu déterminer si le même phénomène pouvait être observé dans un autre noyau réticulaire. Nous avons étudié la réponse électrique des neurones RS du noyau PRRN en réponse à la stimulation du nerf olfactif (**Fig. 11A**), avant et après injection d'un antagoniste GABA_A (**Fig. 11B**) au sein du bulbe olfactif. Le PRRN est le noyau le plus caudal des quatre noyaux RS. Son activation est nécessaire lors de l'induction de nage rapide (Brocard et Dubuc, 2003; pour revue voir Dubuc et al., 2008). Nous avons montré que l'injection de gabazine dans le bulbe olfactif active la réponse des neurones du PRRN à une stimulation du nerf olfactif ($n = 7$ animaux). Tout comme au niveau du MRRN, nous avons observé que les intensités de stimulation du nerf olfactif sont capables d'induire une réponse synaptique sous-liminaire dans les cellules RS du PRRN (5-30 μA), induisent des potentiels d'actions dans les mêmes cellules lorsque de la gabazine est injectée dans la partie médiane du bulbe olfactif (**Fig. 11B**). Pris dans leur ensemble, ces résultats électrophysiologiques suggèrent qu'il existe au sein du bulbe olfactif un tonus GABA_A ergique inhibant à travers les récepteurs GABA_A la transmission des inputs olfactifs aux neurones RS des noyaux MRRN et PRRN.

Nous avons cherché à confirmer cette hypothèse en réalisant des expériences complémentaires sur les cellules des 4 noyaux réticulaires en utilisant l'imagerie

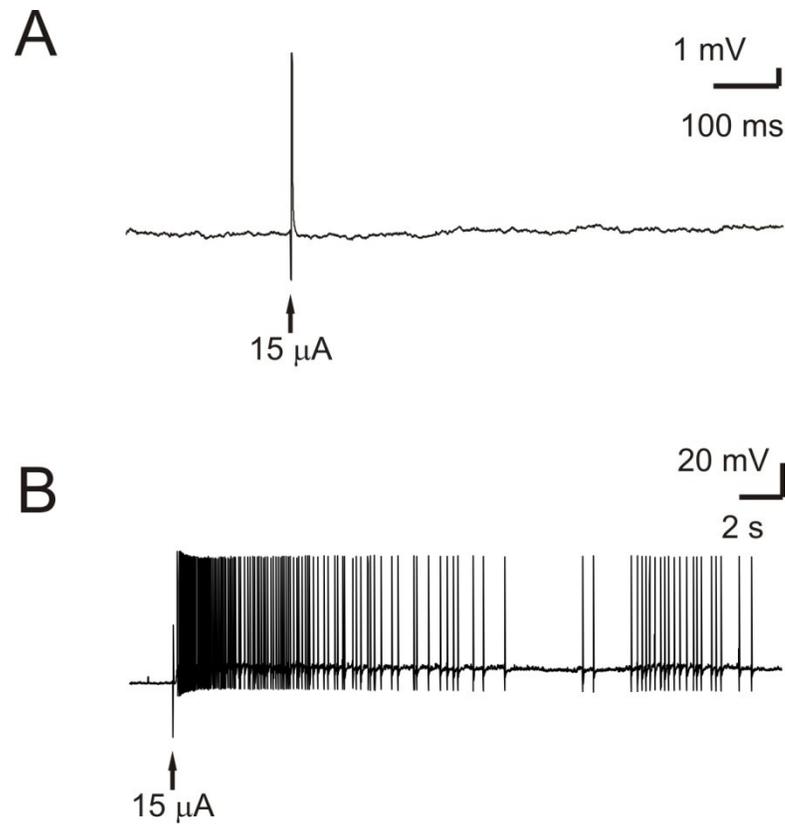


Figure 11: Apparition d'une réponse dans les cellules RS du PRRN sous gabazine. A : Tracé montrant la réponse intracellulaire d'un neurone du PRRN, suite à la stimulation du nerf olfactif (15 µA) en contrôle. B : Tracé représentant l'augmentation de la réponse de la même cellule du PRRN en réponse à la même stimulation du nerf olfactif suite à l'injection de la gabazine dans la partie médiane du bulbe olfactif (n = 7 animaux).

calcique. Nous avons évalué l'effet du blocage des récepteurs GABA_A dans le bulbe olfactif sur les réponses calciques enregistrées dans les populations de neurones appartenant aux quatre noyaux RS. La stimulation répétitive du nerf olfactif (10 μ A, 10Hz, 10 s) n'induisait de réponse dans aucun des noyaux RS (**Fig. 12-B et 13**). Une injection de gabazine dans le bulbe olfactif augmentait très significativement les réponses calciques des cellules RS en réponse à la stimulation du nerf olfactif aussi bien dans les noyaux MRN, ARRN, MRRN, et PRRN. En effet, la moyenne de l'amplitude maximale de la réponse calcique a été augmentée de 0.4 ± 0.1 à 5.3 ± 0.8 % Δ F/F dans le MRN ($p < 0.01$, *Wilcoxon signed rank test*, $n = 9$ provenant de 3 animaux, **Fig. 12-C1 et Fig. 13**), de 0.6 ± 0.03 à 6.1 ± 0.5 % Δ F/F dans le noyau ARRN ($p < 0.001$, *Wilcoxon signed rank test*, $n = 44$ cellules provenant de 3 animaux, **Fig. 12-C2 et Fig. 13**), de 1.6 ± 0.2 à 8.5 ± 0.3 % Δ F/F dans le noyau MRRN ($p < 0.001$, *Wilcoxon signed rank test*, $n = 134$ cellules provenant de 6 animaux, **Fig. 12-C3 et Fig. 13**), et de 0.6 ± 0.02 à 4.5 ± 0.2 % Δ F/F dans le noyau PRRN ($n = 58$ cellules provenant de 3 animaux, **Fig. 12-C4 et Fig. 13**).

L'ensemble de ces résultats montre donc que l'inhibition de la transmission GABAergique dans le bulbe olfactif amplifie fortement les commandes motrices déclenchées dans l'ensemble des quatre noyaux RS lors d'une stimulation de la voie olfacto-locomotrice.

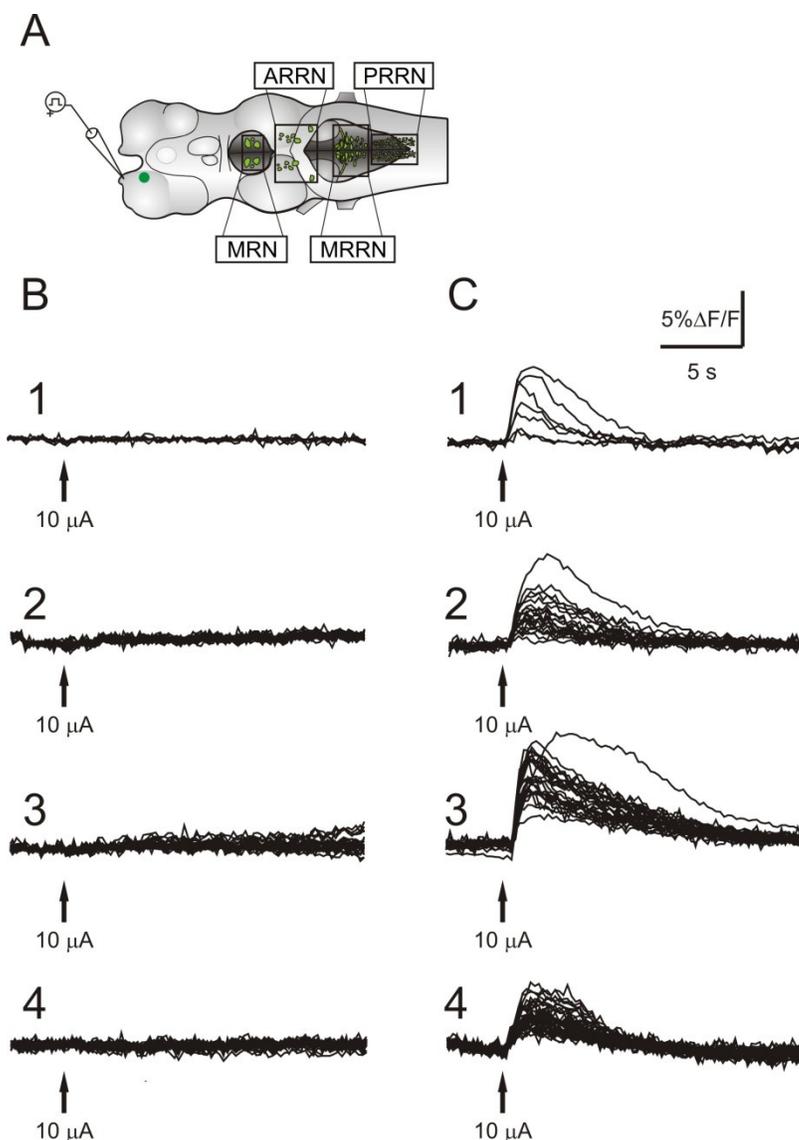


Figure 12: Potentialisation de la réponse calcique de l'ensemble des cellules RS à la stimulation du nerf olfactif après injection de gabazine dans le bulbe olfactif.

A : Représentation de la préparation cerveau/moelle épinière isolés. La stimulation est effectuée sur le nerf olfactif, l'injection de la gabazine est effectuée dans la partie médiane du bulbe olfactif, et l'enregistrement des réponses calciques (variation de la fluorescence) est fait dans les quatre noyaux RS : MRN, ARRN, MRRN et PRRN. **B et C** : L'amplitude des réponses calciques des cellules RS du MRN, de l'ARRN, du MRRN et du PRRN à la stimulation du nerf olfactif (B1-B4) augmente après injection de gabazine (1 mM) dans la partie médiane du bulbe olfactif.

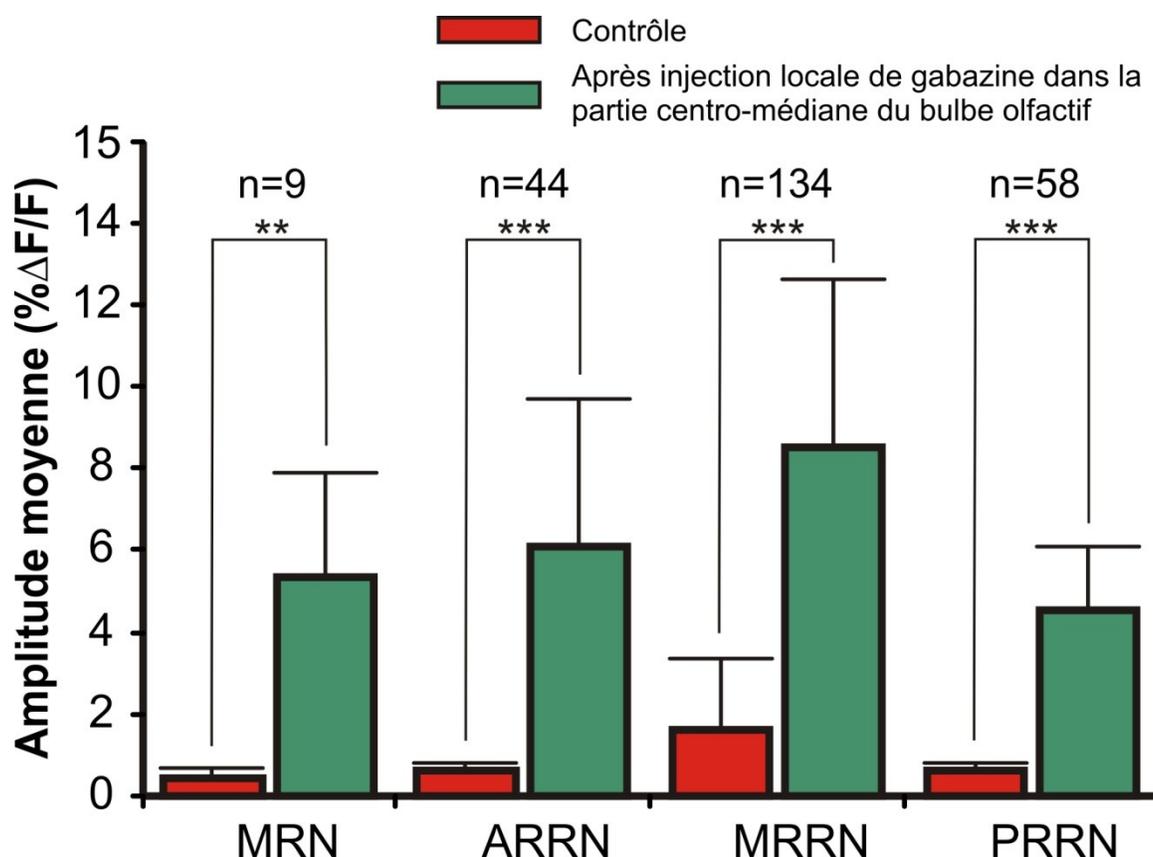


Figure 13: Quantification de l'augmentation de la réponse calcique des cellules RS à la stimulation du nerf olfactif, suite à une injection de gabazine dans la partie médiane du bulbe olfactif. Ce graphique montre la moyenne des amplitudes maximales des réponses en $\% \Delta F/F$ ($n = 6$) pour les quatre noyaux RS en réponse à la stimulation du nerf olfactif avant et après injection de la gabazine (** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$, *Wilcoxon signed rank test*). Le nombre de cellules testées est indiqué pour chaque noyau.

DISCUSSION

Nos résultats montrent que la stimulation des voies olfactives induit une réponse excitatrice dans l'ensemble des neurones RS. De plus, une stimulation unilatérale du nerf ou du bulbe olfactif produit des réponses bilatérales et similaires. La stimulation du tubercule postérieur, situé en aval du bulbe olfactif dans la voie olfacto-locomotrice, évoque des réponses dans l'ensemble des populations de neurones qui constituent les quatre noyaux RS. Nous avons également montré que la neurotransmission GABAergique inhibe de manière tonique la voie olfacto-locomotrice au niveau du bulbe olfactif.

Considérations méthodologiques

L'activation globale des cellules RS au niveau des quatre noyaux RS (MRN, ARRN, MRRN et PRRN) se traduit par une augmentation de la fluorescence dans ces noyaux due à l'élévation de la concentration de calcium intracellulaire. L'augmentation de calcium intracellulaire pourrait être due à plusieurs mécanismes. Soit un mécanisme permettant au calcium extracellulaire d'entrer dans le cytoplasme grâce à l'ouverture de canaux calciques membranaires ou alors une libération du stock interne de calcium par les réticulums endoplasmiques. Deux types de canaux ioniques ont été préalablement identifiés dans les cellules RS comme étant capables de faire entrer les ions de calcium extracellulaire. Les récepteurs NMDA sont des récepteurs ionotropiques du glutamate. Ils laissent passer des cations, de façon non sélective (le sodium, le potassium et le calcium). L'activation de ces récepteurs produit toujours des réponses post-synaptiques excitatrices. La plus importante

propriété des récepteurs NMDA est qu'ils laissent entrer le calcium et en conséquence, les PPSEs produits par les récepteurs NMDA peuvent faire augmenter la concentration du calcium dans les neurones post-synaptiques. Le changement de concentration du calcium peut alors agir comme second messenger pour activer des cascades de signaux intracellulaires. Le potentiel de plateau est dû à l'activation des récepteurs au glutamate de type NMDA qui fait entrer du calcium dans les cellules. Ce calcium va activer à son tour le courant cationique non sélectif calcium-dépendant (I_{CAN} ; Viana Di Prisco et al., 2000). Ces canaux sensibles au calcium (I_{CAN}) vont faciliter les mécanismes de dépolarisation soutenue, l'entrée subséquente de calcium dans la cellule et donc l'activation des neurones (Rekling et Feldman, 1997; pour revue, voir Dubuc et al., 2008). Le potentiel de plateau dans les cellules RS permet ainsi l'envoi d'une activation soutenue vers la moelle épinière qui se traduit par le déclenchement de la locomotion. L'entrée de calcium et l'expression des plateaux de dépolarisation sont deux conditions nécessaires pour le déclenchement de la locomotion (Viana Di Prisco et al., 1997)

L'augmentation du calcium intracellulaire pourrait également impliquer la libération de calcium à partir de réserves intracellulaires qui jouent un rôle important dans l'excitabilité neuronale (Turrigiano et al., 1994). Suite à l'entrée du calcium à l'intérieur de la cellule, la variation du calcium intracellulaire serait régulée par des protéines cytoplasmiques ainsi que par des organelles. Le réticulum endoplasmique lisse (REL) est une organelle qui joue un rôle de réserve pour le calcium intracellulaire. L'ouverture des récepteurs canaux situés sur la membrane du REL provoque la relâche des réserves intracellulaires de calcium. Les récepteurs de la ryanodine sont des canaux de libération de calcium qui se trouvent sur les REL. La

nomenclature de ces récepteurs est due à leur sensibilité à la ryanodine, un alcaloïde tiré de la plante *Ryania speciosa* (Bezprozvanny et al., 1991; Berridge, 1993; pour revue voir Berridge, 1998). L'entrée de calcium extracellulaire active les récepteurs de la ryanodine et induit une libération de calcium des réserves intracellulaires (revue Berridge, 1997). La diminution de la concentration interne de calcium qui paraît aussi dans les graphiques du $\% \Delta F/F$ pourrait ainsi être due à la sortie de calcium intracellulaire vers l'extérieur des cellules grâce aux pompes à calcium ou à la recapture du calcium par le réticulum endoplasmique.

Les travaux d'électrophysiologie dans le laboratoire ont montré l'expression de potentiel de plateau en réponse à la stimulation de structures olfactives telles que l'épithélium, le bulbe olfactif et le tubercule postérieur. Notre travail a permis de confirmer que ces réponses soutenues existent dans toutes les cellules RS des quatre noyaux, et qu'elles pourraient impliquer un mécanisme d'augmentation de la concentration de calcium intracellulaire.

Nos expériences d'imagerie calcique nous ont permis d'étudier l'activité de l'ensemble des cellules RS en réponse à la stimulation du système olfactif. Une des limitations de cette technique était l'étude temporelle de l'activité des cellules étudiées. Mais cette limitation pourrait être résolue par des expériences d'enregistrement électrophysiologique des cellules RS, couplées simultanément avec la technique d'imagerie calcique. Cette approche permettrait de donner une meilleure idée de l'activité de l'ensemble de la population de cellules enregistrées et permettrait de suivre au même moment l'activité temporelle pour analyser les délais de réponses des cellules RS enregistrées.

Une autre limitation de notre technique était la viabilité des préparations examinées durant les expériences. La technique d'imagerie calcique requiert une période d'incubation allant de 24 à 48 heures, pour pouvoir marquer et visualiser les cellules que nous voulions étudier. Cette longue période d'incubation a pu influencer la viabilité de la préparation, et pourrait expliquer l'échec de l'obtention de réponses dans les cellules RS suite à la stimulation du système olfactif.

Activation de populations de cellules RS

Des enregistrements électrophysiologiques réalisés au sein du laboratoire ont permis de montrer que la stimulation des voies olfactives induisait une réponse synaptique sous forme de PPSE dans les cellules RS. Or les enregistrements électrophysiologiques ne permettent que l'étude d'un nombre restreint de neurones RS de gros calibre (cellules de Müller B1-B6 et cellules de Mauthner), qui sont les plus faciles à enregistrer. L'utilisation de la technique d'imagerie calcique nous a ici permis de montrer pour la première fois que l'ensemble des neurones RS, y compris les cellules de petits diamètres, est recruté par la stimulation des voies olfactives. Ces données montrent également une relative synchronisation de l'activation des neurones RS en réponse à la stimulation du nerf olfactif, même si l'intensité varie d'une cellule à l'autre.

La stimulation de la région médiane du bulbe olfactif induit également une augmentation de la fluorescence dans l'ensemble des cellules du MRRN. Comme pour le nerf, cette réponse est présente et symétrique des deux côtés du tronc cérébral. Ces données sont compatibles avec les résultats de marquages anatomiques (Derjean

et al., 2010) qui ont montré que chaque glomérule médian du bulbe olfactif projette vers les noyaux du tubercule postérieur ipsi- et contro-latéraux.

Le tubercule postérieur est une région possédant des neurones dopaminergiques. Il est considéré comme un équivalent entre autres des neurones dopaminergiques de la VTA (A10) chez les mammifères (Pombal et al., 1997). La VTA est une structure clé du système mésolimbique (Oades et Halliday, 1987), impliqué dans les aspects émotionnel et motivationnel de plusieurs comportements, comme la prise de nourriture, la reproduction ou l'exploration (Le Moal et Simon, 1991). Les neurones de la VTA sont la source des projections dopaminergiques vers le système limbique, et sont impliqués dans l'attention, la mémoire, la récompense et la motivation (Chudasama et Robbins, 2004; Wise, 2004; Nicola et al., 2005). La VTA est aussi impliquée dans le contrôle locomoteur (Mogenson et al., 1979; Kalivas et al., 1983). Des études ont montré que les lésions électrolytiques et l'inactivation par la procaine, un inhibiteur des canaux sodiques (Wagner et Ulbricht, 1976), dans la VTA bloque l'initiation de la marche par la stimulation de l'hypothalamus (Levy et Sinnamon, 1990; Sinnamon et al., 1984). D'autres études ont montré que les neurones dopaminergiques qui projettent de la VTA vers le noyau accumbens contribuent à l'activité locomotrice, et suggèrent que le blocage des récepteurs GABAergiques désinhibe les neurones dopaminergiques dans la VTA, pour provoquer une activité motrice (Mogenson et al., 1979). L'implication de la VTA dans les activités motrices et les similarités qu'elle présente avec le tubercule postérieur chez la lamproie (expliqué dans la partie revue de littérature) suggèrent que cette région diencephalique chez la lamproie est un centre de relai important impliqué dans la locomotion.

Les observations anatomiques sur les projections partant de la partie médiane du bulbe olfactif vers le tubercule postérieur, nous ont amené à tester l'effet de la stimulation électrique du tubercule postérieur sur l'activité des cellules RS. La stimulation par choc unique du tubercule postérieur a provoqué des PPSEs dans toutes les cellules RS testées, suggérant des connexions puissantes. Derjean et coll. (2010) ont montré que ces connexions passent par la MLR. En utilisant des trains de stimulation (5Hz), les cellules RS montrent une décharge soutenue ou des potentiels de plateau qui seraient associés à l'initiation d'un comportement locomoteur. L'activité des neurones RS est à l'origine d'une augmentation du niveau d'excitabilité des réseaux neuronaux de la moelle épinière et conduit à l'initiation de la locomotion (Viana Di Prisco et al., 1997). De plus, les expériences d'imagerie calcique de cette étude ont montré que la stimulation du tubercule postérieur induit bilatéralement une dépolarisation synchrone et soutenue dans les populations de neurones des quatre noyaux RS (MRN, ARRN, MRRN et PRRN).

Les réponses observées dans les cellules RS suite à la stimulation des différents relais de cette voie olfacto-locomotrice, étaient très semblables à celles décrites précédemment lors de la stimulation d'autres entrées sensorielles, comme les fibres ascendantes de la colonne dorsale (Viana Di Prisco et al., 1995), les afférences du trijumeau (Bussièrès et Dubuc, 1992b) et les afférences vestibulaires (Polenova et Vesselkin, 1993).

La réponse des cellules RS à la stimulation olfactive tend à disparaître rapidement lorsque les lamproies sont gardées en captivité, dans un environnement de laboratoire dépourvu de tous contaminants. Cette disparition de la réponse olfacto-locomotrice peut survenir après quelques jours ou semaines pour les substances

odorantes, et après trois à quatre mois pour les réponses aux stimulations électriques du système olfactif. De plus nous avons remarqué que le taux de réussite pour avoir une réponse dans les cellules RS était beaucoup plus élevé pour la stimulation du tubercule postérieur en le comparant à la stimulation du nerf ou du bulbe olfactif. Cette perte de la réponse pourrait être expliquée par une désensibilisation des neurones récepteurs olfactifs dans la muqueuse olfactive, ou bien par un mécanisme de dépression qui survient dans la voie olfacto-locomotrice. Cette deuxième hypothèse suggère que le bulbe olfactif serait influencé par un tonus inhibiteur.

L'étude des territoires du bulbe olfactif responsables de la transmission des signaux olfactifs vers les cellules RS était nécessaire pour savoir par où cette information transite avant d'activer les cellules de commande de la locomotion. En plus l'étude physiologique des territoires du bulbe olfactif était primordiale pour confirmer les expériences de marquage anatomique menées au laboratoire. L'étude anatomique a montré que ce trajet entre le système olfactif et le système locomoteur existe, et qu'il est extrêmement spécifique. Les expériences d'anatomie ont permis d'identifier les projections nerveuses du bulbe olfactif de la lamproie, pouvant être impliquées dans la transformation des signaux olfactifs de type phéromonal, en signal pouvant déclencher la nage chez la lamproie.

L'analyse de la réponse des cellules RS aux stimulations des différentes régions du bulbe olfactif, nous a permis de montrer que seule la région médiane du bulbe olfactif est capable de transmettre les signaux olfactif vers les centres locomoteurs. Nous avons étudié le seuil de l'intensité relative de la stimulation, nécessaire pour évoquer des réponses synaptiques dans les cellules RS du MRRN.

L'analyse a montré que seule la partie médiane du bulbe olfactif est impliquée dans cette transformation olfacto-locomotrice.

Les expériences de blocage local des différentes parties du bulbe olfactif, par des antagonistes glutamatergiques (AP5 et CNQX), ont donné des preuves supplémentaires que seulement la partie médiane du bulbe olfactif est capable de transmettre les informations olfactives vers les centres locomoteurs. En effet, seule l'injection dans la partie médiane du bulbe olfactif a empêché la stimulation du nerf olfactif d'activer les cellules du MRRN qui sont responsables de l'initiation de la locomotion. En plus de confirmer les données anatomiques, les résultats de ces deux expériences montrent que seule la partie médiane du bulbe olfactif est responsable de la transmission du signal olfactif vers les cellules RS.

Des études sur d'autres espèces, comme les poissons rouges, avaient démontré que l'activation des récepteurs aux phéromones produit des influx nerveux qui sont transmis spécifiquement par la partie médiane du bulbe olfactif, et que la transmission d'un signal en réponse à une molécule odorante, tel que la L-arginine, se ferait par les deux parties médianes et latérales du bulbe (Sorensen et al., 1991). Cet exemple est en accord avec nos résultats et suggère qu'il est possible que les différentes activités que nous avons observées entre la partie médiane et la partie latérale du bulbe olfactif correspondent à l'activation de différentes voies olfactives.

Modulation GABAergique

En plus de montrer que la voie olfacto-locomotrice implique une large population de neurones RS, cette étude nous a permis de mieux comprendre un

mécanisme régulateur qui influence cette voie. L'étude physiologique des territoires du bulbe olfactif a montré que seule la région médiane permet la transmission des informations olfactives vers les cellules RS (Derjean et al., 2010). Au niveau du bulbe olfactif, le GABA, qui est le principal neurotransmetteur inhibiteur du CNS, provoque une dépression de la transmission des signaux olfactifs vers les cellules RS. L'injection d'un antagoniste des récepteurs GABA_A dans la partie médiane du bulbe olfactif a provoqué la suppression d'un tonus inhibiteur sur la voie olfacto-locomotrice. Et par conséquent, la stimulation du nerf olfactif a induit une réponse calcique dans l'ensemble des populations de neurones des quatre noyaux RS : le MRN, l'ARRN, le MRRN et le PRRN. Prises dans leur ensemble, ces expériences suggèrent qu'il pourrait exister une balance entre la transmission glutamatergique excitatrice et la modulation GABAergique inhibitrice au niveau du bulbe olfactif. La transmission GABAergique pourrait filtrer la transmission permettant qu'un plus grand nombre de cellules RS soient activées.

Dans le bulbe olfactif, les cellules périglomérulaires reçoivent des entrées glutamatergiques des dendrites des cellules mitrales et fournissent des entrées dendritiques GABAergiques vers les cellules mitrales via les récepteurs GABA_A (Shepherd et al., 2004). Les cellules granulaires reçoivent des entrées glutamatergiques des cellules mitrales via des synapses dendrodendritiques et axo-dendritiques qui contiennent les récepteurs AMPA et NMDA, et fournissent des entrées aux dendrites des cellules mitrales via les récepteurs GABA_A (Shepherd et al., 2004). Les interneurons GABAergiques provoquent des interactions inhibitrices entre les cellules mitrales par de multiples voies synaptiques (Wachowiak et Shipley, 2006).

Une étude a montré que le blocage des récepteurs GABA_A augmente le taux d'activation spontanée et induit des dépolarisations soutenues dans les cellules mitrales, (Vicini et Ortinski, 2004). En présence de gabazine, les cellules mitrales répondent à des odeurs avec un plateau de haute fréquence, suivi par une hyperpolarisation prolongée. La forte excitation initiale pourrait être due au blocage du mécanisme de rétroaction inhibiteur des interneurons. Un effet semblable, mais moins prononcé, peut être causé par le blocage des récepteurs AMPA (Tabor et Friedrich, 2008). Chez le poisson zèbre, Tabor et Friedrich (2008) suggèrent que dans le bulbe olfactif, les circuits contenant des récepteurs GABA_A participent à la balance d'excitation et d'inhibition.

Une étude a montré que le tonus inhibiteur pré-synaptique joue un rôle important dans la régulation de la force des entrées provenant des neurones récepteurs olfactifs. Cette inhibition pré-synaptique jouerait un rôle de modulation de l'amplitude des entrées sensorielles au bulbe olfactif en fonction du stade comportemental de l'animal (Pirez et Washowiak, 2008). Dans le CNS, l'inhibition pré-synaptique peut contrôler la force des entrées sensorielles primaires. Des études ont montré qu'au niveau du bulbe olfactif, les interneurons inhibiteurs peuvent bloquer la relâche des neurotransmetteurs par les neurones récepteurs olfactifs en bloquant le potentiel d'action provoqué par l'influx de calcium dans la terminaison pré-synaptique (Wachowiak et Cohen, 1999; Wachowiak et al., 2005).

Dans la couche granulaire du bulbe olfactif, une sous-population de neurones appelés « larges neurones stellaires », innervent les cellules granulaires. Ces cellules utilisent le GABA comme neurotransmetteur pour inhiber les cellules granulaires. Une étude suggère que ces larges neurones stellaires modulent l'inhibition tonique

sur les cellules granulaires. En conséquence, ces neurones stellaires sont bien positionnés pour contrôler la force de l'inhibition latérale et périodique sur les cellules mitrales et touffues dans le bulbe olfactif (Pressier et Stowbridge, 2006).

Nos résultats ont montré que chez la lamproie, il existe un fort tonus inhibiteur qui provoque une modulation de la transmission de l'information dans le bulbe olfactif. Cette modulation inhibitrice pourrait résulter d'une durée de captivité des lamproies dans le laboratoire qui ferait en sorte que le tonus inhibiteur sur la voie olfacto-locomotrice serait renforcé.

Cette modulation inhibitrice pourrait impliquer d'autres régions ou projections neurales comme les projections du striatum et du pallium vers la partie médiane du bulbe olfactif (St-Pierre et al., 2007). Ces projections possèdent beaucoup de neurones GABAergiques (Robertson et al., 2007). Le striatum pourrait fournir une source externe de modulation GABAergique dans le bulbe olfactif qui jouerait un rôle complémentaire aux mécanismes internes de modulations GABAergiques dans la voie olfacto-locomotrice. Des futures expériences seront nécessaires pour voir si ces projections GABAergiques du striatum pourront jouer un rôle de tonus GABAergique inhibiteur dans le bulbe olfactif.

Perspectives

D'autres expériences seront nécessaires pour étudier l'effet de l'injection de la gabazine dans différentes parties du bulbe olfactif. Ces injections seront nécessaires pour confirmer que seule l'injection d'antagonistes des récepteurs GABA_A dans la partie médiane du bulbe olfactif amplifie la réponse des cellules RS suite à la

stimulation du nerf olfactif. En plus, il faudra compléter les approches neuropharmacologiques pour déterminer si les récepteurs GABA_B contribuent à la modulation de la voie olfacto-locomotrice.

L'étude de la plasticité dans la voie olfacto-locomotrice serait indispensable pour comprendre l'effet de la stimulation phéromonale sur l'activité des cellules RS. Vu que la voie olfacto-locomotrice existe chez les lamproies dès le stade larvaire, il y aurait des mécanismes de modulation qui affectent la neurotransmission de cette voie. Le but de ces expériences serait d'examiner l'activité neuromodulatrice à différents niveaux de la voie olfacto-locomotrice et à différents stades développementaux chez la lamproie.

CONCLUSION

Les résultats de mon projet ont montré pour la première fois, que la stimulation du système olfactif active une large population de neurones du système de commande moteur chez la lamproie. La locomotion peut être initiée par un stimulus olfactif par une voie qui prend son origine dans la partie médiane du bulbe olfactif et projette en premier lieu au tubercule postérieur. Par la suite, le signal est acheminé vers le système de contrôle locomoteur de la lamproie et active bilatéralement la population des cellules RS pour initier la locomotion. Le blocage physiologique des neurotransmissions glutamatergiques et GABAergiques dans le bulbe olfactif indique qu'il existe un mécanisme de modulation du signal à ce niveau, avant qu'il soit transmis vers l'ensemble des cellules RS. Cette voie est hautement spécifique et modulée à la source, mais elle implique une activation d'une large population de cellules RS qui provoquent la locomotion.

BIBLIOGRAPHIE

Adam Y., Mizrahi A. (2010). Circuit formation and maintenance-perspectives from the mammalian olfactory bulb. *Curr Opin Neurobiol* 20: 134-140.

Alheid G.F., de Olmos J.S., Betramino C.A. (1995). Amygdala and extended amygdala. In: Paxinos G, editor. *The Rat Nervous System*. San Diego: Academic Press, pp. 495-578.

Antri M., Fénelon K., Dubuc R. (2009). The contribution of synaptic inputs to sustained depolarizations in reticulospinal neurons. *J Neurosci* 29: 1140-1151.

Applegate V.C. (1950). Natural history of the sea lamprey (*Petromyzon marinus*) in Michigan. United States Fish and Wildlife Service Special Scientific Report. Fisheries Serv. 55: 1-237.

Arevian A.C., Kapoor V., Urban N.N. (2008). Activity-dependent gating of lateral inhibition in the mouse olfactory bulb. *Nat Neurosci* 11: 80-87.

Armstrong D.M. (1986). Supraspinal contributions to the initiation and control of locomotion in the cat. *Prog Neurobiol* 26: 273-361.

Aroniadou-Anderjaska V., Zhou F.M., Priest C.A., Ennis M., Shipley M.T. (2000). Tonic and synaptically evoked presynaptic inhibition of sensory input to rat olfactory bulb via GABAB heteroreceptors. *J Neurophysiol* 84: 1194-1203.

Balu R., Larimer P., Strowbridge B.W. (2004). Phasic stimuli evoke precisely timed spikes in intermittently discharging mitral cells. *J Neurophysiol* 92: 743-753.

Balu R., Pressler R.T., Strowbridge B.W. (2007). Multiple modes of synaptic excitation of olfactory bulb granule cells. *J Neurosci* 27: 5621-5632.

Bartels W. (1971). Die ontogenese der aminhaltigen neuronensystems im gehirn von Rana. *Z Zellforsch* 116: 94-118.

Barthe J.Y., Clarac F. (1997). Modulation of the spinal network for locomotion by substance P in the neonatal rat. *Exp Brain Res* 115: 485-492.

Baumgarten H.G. (1972). Biogenic monoaminnes in the cyclostome and lower vertebrate brain. *Prog Histochem Cytochem* 4: 1-90.

Beamish F.W.H. (1980). Biology of the North American anadromous sea lamprey, *Petromyzon marinus*. *Can J Fish Aquat Sci* 37: 1924-1943.

Belluscio L., Koentges G., Axel R., Dulac C. (1999). A map of pheromone receptor activation in the mammalian brain. *Cell* 97: 209-220.

Bernau N.A., Puzdrowski R.L., Leonard R.B. (1991). Identification of the midbrain locomotor region and its relation to descending locomotor pathways in the atlantic stingray, *dasyatis Sabina*. *Brain Res* 557: 83-94.

Berridge M.J. (1993). Cell signalling. A tale of two messengers. *Nature* 365: 388-389.

Berridge M.J. (1997). Elementary and global aspects of calcium signalling. *J Physiol* 499 (Pt 2): 291-306.

Berridge M.J. (1998). Neuronal calcium signaling. *Neuron* 21: 13-26.

Bezprozvanny I., Watras J., Ehrlich B.E. (1991). Bell-shaped calcium-response curves of Ins(1,4,5)P₃- and calcium-gated channels from endoplasmic reticulum of cerebellum. *Nature* 351: 751-754.

Bjerselius R., Li W., Teeter J.H., Johnsen P.B., Maniak P.J., Grant G.C., Polkinghorne C.N., Sorensen P.W. (2000). Direct behavioural evidence that unique bile acids released by larval sea lamprey (*Petromyzon marinus*) function as a migratory pheromone. *Can J Fish Aquat Sci* 57: 557-569.

Boehm U. (2006). The vomeronasal system in mice: from the nose to the hypothalamus- and back. *Semin Cell Dev Biol* 17: 471-479.

Bonino M., Cantino D., Sassoe-Pognetto M. (1999). Cellular and subcellular localization of gamma-aminobutyric acidB receptors in the rat olfactory bulb. *Neurosci Lett* 274: 195-198.

Bonnot A., Morin D. (1998). Hemisegmental localisation of rhythmic networks in the lumbosacral spinal cord of neonate mouse. *Brain Res* 793: 136-148.

Bonnot A., Whelan P.J., Mentis G.Z., O'Donovan M.J. (2002). Locomotor-like activity generated by the neonatal mouse spinal cord. *Brain Res Brain Res Rev* 40: 141-151.

Bracci E., Ballerini L., Nistri A. (1996). Localization of rhythmogenic networks responsible for spontaneous bursts induced by strychnine and bicuculline in the rat isolated spinal cord. *J Neurosci* 16: 7063-7076.

Brennan P.A., Keverne E.B. (1997). Neural mechanisms of mammalian olfactory learning. *Prog Neurobiol* 51: 457-481.

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

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

Brocard F., Ryczko D., Fénelon K., Hatem R., Gonzales D., Auclair F., Dubuc R. (2010). The transformation of a unilateral locomotor command into a symmetrical bilateral activation in the brainstem. *J Neurosci* 30: 523-533.

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

Brodin L., Theodorsson E., Christenson J., Cullheim S., Hokfelt T., Brown J.C., Buchan A., Panula P., Verhofstad A.A.J., Goldstein M. (1990). Neurotensin-like peptides in the CNS of lampreys: Chromatographic characterization and immunohistochemical localization with reference to aminergic markers. *Eur J Neurosci* 2: 1095-1109.

Brown G. (1911). The intrinsic factors in the act of progression in the mammal. *Proc R Soc London. Series B Biol* 84: 309-319.

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

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

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

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

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

Buck L.B. (2000). The molecular architecture of odor and pheromone sensing in mammals. *Cell* 100: 611-618.

Bussi eres N., Dubuc R. (1992a). Phasic modulation of vestibulospinal neuron activity during fictive locomotion in lampreys. *Brain Res* 575: 174-179.

Bussi eres N., Dubuc R., (1992b). Phasic modulation of transmission from vestibular inputs to reticulospinal neurons during fictive locomotion in lampreys. *Brain Res* 582: 147-153.

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

Cang J., Isaacson J.S. (2003). *In vivo* whole-cell recording of odor-evoked synaptic transmission in the rat olfactory bulb. *J Neurosci* 23: 4108-4116.

Carlson G.C., Shipley M.T., Keller A. (2000). Long-lasting depolarizations in mitral cells of the rat olfactory bulb. *J Neurosci* 20: 2011-2021.

Chen W.R., Xiong W., Shepherd G.M. (2000). Analysis of relations between NMDA receptors and GABA release at olfactory bulb reciprocal synapses. *Neuron* 25: 625-633.

Choi G.B., Dong H.W., Murphy A.J., Valenzuela D.M., Yancopoulos G.D., Swanson L.W., Anderson D.J. (2005). Lhx6 delineates a pathway mediating innate reproductive behaviors from the amygdala to the hypothalamus. *Neuron* 46: 647-660.

Christie J.M., Schoppa N.E., Westbrook G.L. (2001). Tufted cell dendrodendritic inhibition in the olfactory bulb is dependent on NMDA receptor activity. *J Neurophysiol* 85: 169-173.

Christie K.J., Whelan P.J. (2005). Monoaminergic establishment of rostrocaudal gradients of rhythmicity in the neonatal mouse spinal cord. *J Neurophysiol* 94: 1554-1564.

Chudasama Y., Robbins T.W. (2004). Psychopharmacological approaches to modulating attention in the five-choice serial reaction time task: implications for schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)* 174: 86-98.

Cina C., Hochman S. (2000). Diffuse distribution of sulforhodamine-labeled neurons during serotonin-evoked locomotion in the neonatal rat thoracolumbar spinal cord. *J Comp Neurol* 423: 590-602.

Clancy A.N., Singer A.G., Macrides F., Bronsin F.H., Osta W.C. (1988). Experiential and endocrine dependence of gonadotropin responses in male mice to conspecific urine. *Biol Reprod* 38: 183-191.

Clarac F. (2008). Some historical reflections on the neural control of locomotion. *Brain Res Rev* 57: 13-21.

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

Coquelin A., Clancy A.N., Macrides F., Noble E.P., Orski R.A. (1984). Pheromonally induced release of luteinizing hormone in male mice: involvement of the vomeronasal system. *J Neurosci* 4: 2230-2236.

Cowley K.C., Schmidt B.J. (1995). Effects of inhibitory amino acid antagonists on reciprocal inhibitory interactions during rhythmic motor activity in the *in vitro* neonatal rat spinal cord. *J Neurophysiol* 74: 1109-1117.

Dai X, Noga B.R., Douglas J.R., Jordan L.M. (2005). Localization of spinal neurons activated during locomotion using the c-fos immunohistochemical method. *J Neurophysiol* 93: 3442-3452.

de Beer G.R. (1923). On a problematical organ in the lamprey. *J Anat* 59: 7-108.

Del Punta K., Puche A., Adams N.C., Rodriguez I., Mombaerts P. (2002). A divergent pattern of sensory axonal projections is rendered convergent by second-order neurons in the accessory olfactory bulb. *Neuron* 35: 1057-1066.

Delcomyn F. (1987). Motor activity during searching and walking movements of cockroach legs. *J Exp Biol* 133: 111-120.

Deliagina, T.G., Orlovsky, G.N. (2002). Comparative neurobiology of postural control. *Curr Opin Neurobiol* 12: 652-657.

Deliagina T.G., Orlovsky G.N., Grillner S., Wallén P. (1992). Vestibular control of swimming in lamprey. III. Activity of vestibular afferents: convergence of vestibular inputs on reticulospinal neurons. *Exp Brain Res* 90: 499-507.

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

Delvolvé I., Bem T., Cabelguen J.M. (1997). Epaxial and limb muscle activity during swimming and terrestrial stepping in the adult newt, *Pleurodeles waltl*. *J Neurophysiol* 78: 638-650.

Depoortere R., Di Scala G., Angst M.J., Sandner G. (1990a). Differential pharmacological reactivity of aversion induced by stimulation of periaqueductal gray or mesencephalic locomotor region. *Pharmacol Biochem Behav* 37: 311-316.

Depoortere R., Di Scala G., Sandner G. (1990b). Treadmill locomotion and aversive effects induced by electrical stimulation of the mesencephalic locomotor region in the rat. *Brain Res Bull* 25: 723-727.

Derjean D., Moussaddy A., Atallah E., St-Pierre M., Auclair F., Chang S., Ren X., Zielinski B., Dubuc R. (2010). A novel neural substrate for the transformation of olfactory inputs into motor output. *PLoS Biology* 8(12): e1000567.

Dimitrijevic M.R., Gerasimenko Y., Pinter M.M. (1998). Evidence for a spinal central pattern generator in humans. *Ann N Y Acad Sci* 860: 360-376.

Divac I., Kosmal A., Bjorklund A., Lindvall O. (1978). Subcortical projections to the prefrontal cortex in the rat as revealed by the horseradish peroxidase technique. *Neuroscience* 3: 785-796.

Domenici L., Waldvogel H.J., Matute C., Streit P. (1988). Distribution of GABA-like immunoreactivity in the pigeon brain. *Neuroscience* 25: 931-950.

Døving K.B., Trotier D. (1998). Structure and function of the vomeronasal organ. *J Exp Biol* 201: 2913-2925. Review.

Drapeau P., Saint-Amant L., Buss R.R., Chong M., McDearmid J.R., Brusteian E. (2002). Development of the locomotor network in zebrafish. *Prog Neurobiol* 68: 85-111.

Dubuc R., Brocard F., Antri M., Fénelon K., Gariépy J.F., Smetana R., Ménard A., Le Ray D., Viana Di Prisco G., Pearlstein E., Sirota M.G., Derjean D., St-Pierre M., Zielinski B., Auclair F., Veilleux D. (2008). Initiation of locomotion in lampreys. *Brain Res Rev* 57: 172-182.

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

Eaton R.C., DiDomenico R., Nissanov J. (1988). Flexible body dynamics of the goldfish C-start: implications for reticulospinal command mechanisms. *J Neurosci* 8: 2758-2768.

Ebert U., Ostwald J. (1991). The mesencephalic locomotor region is activated during the auditory startle response of the unrestrained rat. *Brain Res* 565: 209-217.

Egger V., Svoboda K., Mainen Z.F. (2003). Mechanisms of lateral inhibition in the olfactory bulb: efficiency and modulation of spike-evoked calcium influx into granule cells. *J Neurosci* 23: 7551-7558.

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

Einum J.F., Buchanan J.T. (2005). Membrane potential oscillations in reticulospinal and spinobulbar neurons during locomotor activity. *J Neurophysiol* 94: 273-281.

Einum J.F., Buchanan J.T. (2006). Spinobulbar neurons in lamprey: cellular properties and synaptic interactions. *J Neurophysiol* 96: 2042-2055.

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

Ennis M., Zhou F.M., Ciombor K.J., Aroniadou-Anderjaska V., Hayar A., Borrelli E., Zimmer L.A., Margolis F., Shipley M.T. (2001). Dopamine D2 receptor-mediated presynaptic inhibition of olfactory nerve terminals. *J Neurophysiol* 86: 2986-2997.

Fady J.C., Jamon M., Clarac F. (1998). Early olfactory-induced rhythmic limb activity in the newborn rat. *Brain Res Dev Brain Res* 108: 111-123.

Fallon, J.H., Loughlin S.E. (1985). Substantia nigra. In: Paxinos G., editor. *The Rat Nervous System, Vol. 1. Forebrain and Midbrain*. New York: Academic Press, pp. 353-374.

Fedirchuk B., Nielsen J., Petersen N., Hultborn H. (1998). Pharmacologically evoked fictive motor patterns in the acutely spinalized marmoset monkey (*Callithrix jacchus*). *Exp Brain Res* 122: 351-361.

Fetcho J.R., Faber D.S. (1988). Identification of motoneurons and interneurons in the spinal network for escapes initiated by the mauthner cell in goldfish. *J Neurosci* 8: 4192- 4213.

Fleischer J., Schwarzenbacher K., Breer H. (2007). Expression of trace amine-associated receptors in the Grueneberg ganglion. *Chem Senses* 32: 623-631.

Franks K.M., Isaacson J.S. (2006). Strong single-fiber sensory inputs to olfactory cortex: implications for olfactory coding. *Neuron* 49: 357-363.

Freusberg A. (1874). Reflexbewegungen beim Hunde. *Pflügers Arch* 9: 358-391.

Frolich L.M., Biewener A.A. (1992). Kinematic and electromyographic analysis of the functional role of the body axis during terrestrial and aquatic locomotion in the salamander *Ambystoma tigrinum*. *J Exp Biol* 162: 107-130.

Frontini A., Zaidi A.U., Hua H., Wolak T.P., Greer C.A., Kafitz K.W., Li W., Zielinski B.S. (2003). Glomerular territories in the olfactory bulb from the larval stage of the sea lamprey *Petromyzon marinus*. *J Comp Neurol* 465: 27-37.

Gabbay H., Delvolve I., Lev-Tov A. (2002). Pattern generation in caudal-lumbar and sacrococcygeal segments of the neonatal rat spinal cord. *J Neurophysiol* 88: 732-739.

Gahtan E., Sankrithi N., Campos J.B., O'Malley D.M. (2002). Evidence for a widespread brain stem escape network in larval zebrafish. *J Neurophysiol* 87: 608-614.

Garcia-Rill E. (1986). The basal ganglia and the locomotor regions. *Brain Res Rev* 11: 47-63.

Garcia-Rill E. (1991). The pedunclopontine nucleus. *Prog Neurobiol* 36: 363-389.

Garcia-Rill E., Kinjo N., Atsuta Y., Ishikawa Y., Webber M., Skinner R.D. (1990). Posterior midbrain induced locomotion. *Brain Res Bull* 24: 499-508.

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

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

Garcia-Rill E., Skinner R.D., Fitzgerald J.A. (1985). Chemical activation of the mesencephalic locomotor region. *Brain Res* 330: 43-54.

Getchell T.V., Margolis F.L., Getchell M.L. (1984). Perireceptor and receptor events in vertebrate olfaction. *Prog Neurobiol* 23: 317-345.

Gonzalez A., Marin O., Smeets W.J.A.J. (1995). Development of catecholamine systems in the central nervous system of the newt *Pleurodeles waltlii* as revealed by tyrosine hydroxylase immunohistochemistry. *J Comp Neurol* 346: 63-79.

Gonzalez A., Marin O., Tuinhof R., Smeets W.J.A.J. (1994a). Ontogeny of catecholamine systems in the central nervous system of anuran amphibians: An immunohistochemical study with antibodies against tyrosine hydroxylase and dopamine. *J Comp Neurol* 346: 63-79.

Gonzalez A., Marin O., Tuinhof R., Smeets W.J.A.J. (1994b). Developmental aspects of catecholamine systems in the brain of amphibians. In Smeets W.J.A.J., Reiner A., editors. *Phylogeny and Development of Catecholamine Systems in the CNS of Vertebrates*. Cambridge: Cambridge University Press, pp. 343-360.

Gonzalez A., Munoz M., Munoz A., Marin O., Smeets W.J.A.J. (1994c). On the basal ganglia of amphibians: Dopaminergic mesostriatal projections. *Eur J Morphol* 32: 271-274.

Gonzalez A., Smeets W.J.A.J. (1991). Comparative analysis of dopamine and tyrosine hydroxylase immunoreactivities in the brain of two amphibians, the anuran *Rana ridibunda* and the urodele *Pleurodeles waltlii*. *J Comp Neurol* 303: 457-477.

Gonzalez A., Tuinhof R., Smeets W.J.A.J. (1993). Distribution of tyrosine hydroxylase- and dopamine-immunoreactivities in the brain of the South African clawed frog *Xenopus laevis*. *Anat Embryol* 187: 193-201.

Gray J.M., Hill J.J., Bargmann C.I. (2005). A circuit for navigation in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102: 3184-3191.

Grillner S. (1975). Locomotion in vertebrates: central mechanisms and reflex interaction. *Physiol Rev* 55: 247-304.

Grillner S. (1981). Control of locomotion in bipeds, tetrapods and fish. In: Brooks V.B., editor. *Handbook of Physiology, Section 1. The Nervous System II. Motor Control*. Bethesda: American Physiological Society Waverly Press, pp. 1179-1236.

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

Grillner S. (1996). Neural networks for vertebrate locomotion. *Sci Am* 274: 64-69.

Grillner S. (2003). The motor infrastructure: from ion channels to neuronal networks. *Nature Rev Neurosci* 4: 573-586.

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

Grillner S., Ekeberg Ö., El Manira A., Lansner A., Parker D., Tegnér J., Wallén P. (1998). Intrinsic function of a neuronal network – a vertebrate central pattern generator. *Brain Res Rev* 26: 184-197.

Grillner S., Georopoulos A.P., Jordan L.M. (1997). Selection and initiation of motor behavior. In: Stein, P.S.G., Grillner, S., Selverston, A.I., Stuart, D.G., editors. *Neurons, Networks, and Motor Behavior*. A Bradford Book. Cambridge: The MIT Press, pp. 3-19.

Grillner S., Wallén, P. (1980). Does the central pattern generation for the locomotion in lamprey depend on glycine inhibition? *Acta Physiol Scand* 110: 103-105.

Grillner S., Wallen P. (2002). Cellular bases of a vertebrate locomotor system-steering, intersegmental and segmental co-ordination and sensory control. *Brain Res Rev* 40: 95-106.

Grillner S., Zangger P. (1979). On the central generation of locomotion in the low spinal cat. *Exp Brain Res* 34: 241-261.

Gu G., Cornea A., Simerly R.B. (2003). Sexual differentiation of projections from the principal nucleus of the bed nuclei of the stria terminalis. *J Comp Neurol* 460: 542-562.

Guertin P.A. (2009). The mammalian central pattern generator for locomotion. *Brain Res Rev* 62: 45-56.

Guillamon A., Segovia S. (1997). Sex differences in the vomeronasal system. *Brain Res Bull* 44: 377-382.

Hagelin L., Johnels A.G. (1955). On the structure and function of the accessory olfactory organ in lampreys. *Acta Zool* 36: 113-125.

Halabisky B., Friedman D., Radojicic M., Strowbridge B.W. (2000). Calcium influx through NMDA receptors directly evokes GABA release in olfactory bulb granule cells. *J Neurosci* 20: 5124-5134.

Halem H.A, Baum M.J, Cherry J.A. (2001). Sex difference and steroid modulation of pheromone-induced immediate early genes in the two zones of the mouse accessory olfactory system. *J Neurosci* 21: 2474-2480.

Halpern M., Martinez-Marcos A. (2003). Structure and function of the vomeronasal system: an update. *Prog Neurobiol* 70: 245-318.

Hamilton K.A. (1992). Distribution of immunoreactivity for gamma-aminobutyric acid in the salamander olfactory bulb. *J Comp Neurol* 319: 606-614.

Hardisty M.W., Potter I.C. (1971). The general biology of adult lampreys. In: Hardisty M.C., Potter I.C., editors. *The Biology of Lampreys, vol 1*. London: Academic Press, pp.127-206.

Harris-Warrick R.M., Marder E. (1991). Modulation of neural networks for behavior. *Annu Rev Neurosci* 14: 39-57.

Hashiguchi Y., Nishida M. (2007). Evolution of trace amine associated receptor (TAAR) gene family in vertebrates: lineage-specific expansions and degradations of a second class of vertebrate chemosensory receptors expressed in the olfactory epithelium. *Mol Biol Evol Soc* 24: 2099-2107.

Hasin-Brumshtein Y., Lancet D., Olender T. (2009). Human olfaction: from genomic variation to phenotypic diversity. *Trends Genet* 25: 178-184.

Haslewood G.A., Tokes L. (1969). Comparative studies of bile salt. Bile salts of the lamprey *Petromyzon marinus* L. *Biochem J* 114: 179-184.

Hayar A., Karnup S., Ennis M., Shipley M.T. (2004). External tufted cells: a major excitatory element that coordinates glomerular activity. *J Neurosci* 24: 6676-6685.

Hollis D.M., Boyd S.K. (2005). Distribution of GABA-like immunoreactive cell bodies in the brains of two amphibians., *Rana catesbeiana* and *Xenopus laevis*. *Brain Behav Evol* 65: 127-142.

Hultborn H., Conway B.A, Gossard J.P., Brownstone R., Fedirchuk B., Schomburg E.D., Enríquez-Denton M., Perreault M.C. (1998). How do we approach the locomotor network in the mammalian spinal cord? *Ann N Y Acad Sci* 860: 70-82.

Ijspeert A.J, Crespi A., Ryczko D., Cabelguen J.M. (2007). From swimming to walking with a salamander robot driven by a spinal cord model. *Science* 315: 1416-1420.

Inglis W.L., Winn P. (1995). The pedunclopontine tegmental nucleus: where the striatum meets the reticular formation. *Prog Neurobiol* 47: 1-31.

Isaacson J.S. (2001). Mechanisms governing dendritic γ -aminobutyric acid (GABA) release in the rat olfactory bulb. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 337-342.

Isaacson J.S., Strowbridge B.W. (1998). Olfactory reciprocal synapses: dendritic signaling in the CNS. *Neuron* 20: 749-761.

Iwahori N., Kiyota E., Nakamura K. (1987). A Golgi study on the olfactory bulb in the lamprey, *Lampetra Japonica*. *Neurosci Res* 5: 126-139.

Jacobson L. (1813). Anatomisk Beskrivelse over et nyt Organ I Huusdyrenes Næse. *Veterinær=Selskapets Skrifter* [in Danish] 2: 209-246.

Jia C., Halpern M. (1996). Subclasses of vomeronasal receptor neurons: differential expression of G proteins (G_i alpha 2 and G_o alpha)) and segregated projections to the accessory olfactory bulb. *Brain Res* 719:117-128.

Johnson N.S., Yun S.S., Thompson H.T., Brant C.O., Li W. (2009). A synthesized pheromone induces upstream movement in female sea lamprey and summons them into traps. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106: 1021-1026.

Jordan L.M. (1986). Initiation of locomotion from the mammalian brainstem. In Grillner S., Stein P.S.G., Stuart H., Forssberg H., Herman R.M., editors. *Neurobiology of Vertebrate Locomotion*. London: Macmillan, pp. 21-37.

Kadota T., Goris R., Kusunoki T. (1993). Dopamine neurons in the hagfish brain. *Anat Rec Suppl* 1: 69.

Kalivas P.W., Burgess S.K., Nemeroff C.B., Prange A.J. (1983). Behavioral and neurochemical effects of neurotensin microinjection into the ventral tegmental area of the rat. *Neuroscience* 8: 495-505.

Karlson P., Luscher M. (1959). Pheromones: a new term for a class of biologically active substances. *Nature* 183: 55-56.

Katz P.S. (1995). Intrinsic and extrinsic neuromodulation of motor circuits. *Curr Opin Neurobiol* 5: 799-808.

Keller A., Zhuang H., Chi Q., Vosshall L.B., Matsunami H. (2007). Genetic variation in a human odorant receptor alters odour perception. *Nature* 449: 468-472.

Kiehn O., Butt S.J. (2003). Physiological, anatomical and genetic identification of CPG neurons in the developing mammalian spinal cord. *Prog Neurobiol* 70: 347-361.

Kiehn O., Kjaerulff O. (1998). Distribution of central pattern generators for rhythmic motor outputs in the spinal cord of limbed vertebrates. *Ann N Y Acad Sci* 860: 110-129.

Kimchi T., Xu J., Dulac C. (2007). A functional circuit underlying male sexual behaviour in the female mouse brain. *Nature* 448: 1009-1014.

Kinyo N., Atsuta Y., Webber M., Kyle R., Skinner R.D., Garcia-Rill E. (1990). Medioventral medulla-induced locomotion. *Brain Res Bull* 24: 509-516.

Kjaerulff O., Barajon I., Kiehn O. (1994). Sulphorhodamine-labeled cells in the neonatal rat spinal cord following chemically induced locomotor activity *in vitro*. *J Physiol* 478: 265-273.

Kjaerulff O., Kiehn O. (1996). Distribution of networks generating and coordinating locomotor activity in the neonatal rat spinal cord *in vitro*: a lesion study. *J Neurosci* 16: 5777-5794.

Kleerekoper H., Mogensen J. (1963). Role of olfaction in the orientation of *Petromyzon marinus*. 1. Response to a single amine in prey's body odor. *Physiol Zool* 36: 347-360.

Kleerekoper H., van Erkel G.A. (1960). The olfactory apparatus of *Petromyzon marinus* L. *Can J Zool* 38: 209-223.

Klenoff J., Greer C. (1998). Post-natal development of olfactory receptor cell axonal arbors. *J Comp Neurol* 390: 256-267.

Kratskin I., Kenigfest N., Rio J.P., Djediat C., Reperant J. (2006). Immunocytochemical localization of the GABAB2 receptor subunit in the glomeruli of the mouse main olfactory bulb. *Neurosci Lett* 402: 121-125.

Kremer E., Lev-Tov A. (1997). Localization of the spinal network associated with generation of hindlimb locomotion in the neonatal rat and organization of its transverse coupling system. *J Neurophysiol* 77: 1155-1170.

Krieger P., El Manira A., Grillner S. (1996). Activation of pharmacologically distinct metabotropic glutamate receptors depresses reticulospinal-evoked monosynaptic EPSPs in the lamprey spinal cord. *J Neurophysiol* 76: 3834-3841.

Kudo N., Yamada T. (1987). N-methyl-D,L-aspartate-induced locomotor activity in a spinal cord-hindlimb muscles preparation of the newborn rat studied *in vitro*. *Neurosci Lett* 75: 43-48.

Kuffler S.W. (1953). Discharge patterns and functional organization of mammalian retina. *J Neurophysiol* 16: 37-68.

Laframboise A.J., Ren X., Chang S., Dubuc R., Zielinski B.S. (2007). Olfactory sensory neurons in the sea lamprey display polymorphisms. *Neurosci Lett* 414: 277-281.

Leach W.J. (1951). The hypophysis of lampreys in relation to the nasal apparatus. *J Morphol* 89: 217-255.

Le Moal M., Simon H. (1991). Mesocorticolimbic dopaminergic network: functional and regulatory roles. *Physiol Rev* 71: 155-234.

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

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

Levy D.I., Sinnamon H.M. (1990). Midbrain areas required for locomotion initiated by electrical stimulation of the lateral hypothalamus in the anesthetized rat. *Neuroscience* 39: 665-674.

Li W., Scott A.P., Siefkes M.J., Yan H., Liu Q., Yun S.S., Gage D.A. (2002). Bile acid secreted by male sea lamprey that acts as a sex pheromone. *Science* 296: 138-141.

Li W., Sorensen P.W., Gallaher D.D. (1995). The olfactory system of migratory adult sea lamprey (*Petromyzon marinus*) is specifically and acutely sensitive to unique bile acids released by conspecific larvae. *J Gen Physiol* 105: 569-587.

Liberles S.D., Buck L.B. (2006). A second class of chemosensory receptors in the olfactory epithelium. *Nature* 442: 645-650.

Livingstone C.A., Leonard R.B. (1990). Locomotion evoked by stimulation of the brainstem in the atlantic stingray, *Dasyatis sabina*. *J Neurosci* 10: 194-204.

Lubosch W. (1905). Die Entwicklung und Metamorphose der Geruchsorganes von *Petromyzon* und seine Bedeutung fur die vergleichende Anatomie des Geruchsorganes. *Jen Zschr Natw* 40: 90-143.

Marder E., Thirumalai V. (2002). Cellular, synaptic and network effects of neuromodulation. *Neural Netw* 15: 479-493.

Mareh A., Rodriguez G.D., Whitman M.C., Greer C.A. (2008). Principles of glomerular organization in the human olfactory bulb—implications for odor processing. *PLoS ONE* 3: e2640.

Margrie T.W., Schaefer A.T. (2003). Theta oscillation coupled spike latencies yield computational vigour in a mammalian sensory system. *J Physiol* 546: 363-374.

Marin O., Smeets W.J.A.J., Gonzalez A. (1997). Basal ganglia organization in amphibians: Catecholaminergic innervation of the striatum and the nucleus accumbens. *J Comp Neurol* 378: 50-69.

Marlinsky V.V., Voitenko L.P. (1991). The effect of procaine injection into the medullary reticular formation on forelimb muscle activity evoked by mesencephalic locomotor region and vestibular stimulation in the decerebrated guinea-pig. *Neuroscience* 45: 753-759.

Martinoli M.G., Dubourg P., Geffard M., Calas A., Kah O. (1990). Distribution of GABA-immunoreactive neurons in the forebrain of the goldfish. *Cell Tissue Res* 260: 77-84.

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

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

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

McCrea D.A. (1998). Neuronal basis of afferent-evoked enhancement of locomotor activity. *Ann N Y Acad Sci* 860: 216-225.

McGann J.P., Pérez N., Gainey M.A., Muratore C., Elias A.S., Wachowiak M. (2005). Odorant representations are modulated by intra- but not interglomerular presynaptic inhibition of olfactory sensory neurons. *Neuron* 48: 1039-1053.

McLean D.L., Merrywest S.D., Sillar K.T. (2000). The development of neuromodulatory systems and the maturation of motor patterns in amphibian tadpoles. *Brain Res Bull* 53: 595-603.

McPherson D.R., McClellan A.D., O'Donovan M.J. (1997). Optical imaging of neuronal activity in tissue labeled by retrograde transport of Calcium Green Dextran. *Brain Res Brain Res Protoc* 1:157-164.

Médina L., Reiner A. (1994). Distribution of choline acetyltransferase immunoreactivity in the pigeon brain. *J Comp Neurol* 342: 497-537.

Meléndez-Ferro M., Pérez-Costas E., Villar-Cheda B., Rodriguez-Munoz R., Gomez-Lopez M.P., Anadon R., Rodicio M.C. (2001). GABA immunoreactivity in the olfactory bulbs of the adult sea lamprey *Petromyzon marinus* L. *Brain Res* 893: 253-260.

Ménard A., Auclair F., Bourcier-Lucas C., Grillner S., Dubuc R. (2007). Descending GABAergic projections to the mesencephalic locomotor region in the lamprey *Petromyzon marinus*. *J Comp Neurol* 501: 260-273.

Menashe I., Abaffy T., Hasin Y., Goshen S., Yahalom V., Luetje C.W., Lancet D. (2007). Genetic elucidation of human hypersomnia to isovaleric acid. *PLoS Biology* 5: e284.

Meredith M., Fernandez-Fewell G. (1994). Vomeronasal system, LHRH and sex behaviour. *Psychoneuroendocrinology* 19: 657-672.

Meredith M., Marques D.M., O'Connell R.J., Stern F.L. (1980). Vomeronasal pump: significance for male hamster sexual behaviour. *Science* 207: 1224-1226.

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

Mogenson G.J. (1990). Brainstem systems for the control of behavioral acts. In: Klemm W.R., Vertes R.P., editors. *Brainstem Mechanisms of Behavior*. New York: Wiley, pp. 171-195.

Mogenson G.J., Wu M., Manchanda S.K. (1979). Locomotor activity initiated by microinfusions of picrotoxin into the ventral tegmental area. *Brain Res* 161: 311-319.

Mori K., Nagao H., Yoshihara Y. (1999). The olfactory bulb: coding and processing of odor molecule information. *Science* 286: 711-715.

Mori S. (1987). Integration of posture and locomotion in acute decerebrate cats and in awake, freely moving cats. *Prog Neurobiol* 28: 161-195.

Mori S., Matsuyama K., Kohyama J., Kobayashi Y., Takakusaki K. (1992). Neuronal constituents of postural and locomotor control systems and their interactions in cats. *Brain Dev* 14: S109-S120.

Mori S., Nishimura H., Kurakami C., Yamamura T., Aoki M. (1978). Controlled locomotion in the mesencephalic cat: distribution of facilitory and inhibitory regions within pontine tegmentum. *J Neurophysiol* 41: 1580-1591.

Mori S., Sakamoto T., Ohta Y., Takakusaki K., Matsuyama K. (1989). Site-specific postural and locomotor changes evoked in awake, freely moving intact cats by stimulating the brainstem. *Brain Res* 505: 66-74.

Mugnaini E., Oertel W.H., Wouterlood F.F. (1984). Immunocytochemical localization of GABA neurons and dopamine neurons in the rat main and accessory olfactory bulbs. *Neurosci Lett* 47: 221-226.

Murphy G.J., Glickfeld L.L., Balsen Z., Isaacson J.S. (2004). Sensory neuron signaling to the brain: properties of transmitter release from olfactory nerve terminals. *J Neurosci* 24: 3023-3030.

Musienko P.E., Zelenin P.V., Lyalka V.F., Orlovsky G.N., Deliagina T.G. (2008). Postural performance in decerebrated rabbit. *Behav Brain Res* 190: 124-134.

Newman S.W. (1999). The medial extended amygdala in male reproductive behavior. A node in the mammalian social behavior network. *Ann N Y Acad Sci* 877: 242-257.

Nickell W.T., Behbehani M.M., Shipley M.T. (1994). Evidence for GABAB-mediated inhibition of transmission from the olfactory nerve to mitral cells in the rat olfactory bulb. *Brain Res Bull* 35: 119-123.

Nicola S.M., Taha S.A., Kim S.W., Fields H.L. (2005). Nucleus accumbens dopamine release is necessary and sufficient to promote the behavioral response to reward-predictive cues. *Neuroscience* 135: 1025-1033.

Niimura Y., Nei M. (2007). Extensive gains and losses of olfactory receptor genes in Mammalian evolution. *PLoS ONE* 2: e708.

Noga B., Kettler J., Jordan L.M. (1988). Locomotion produced in mesencephalic cats by injections of putative transmitter substances and antagonists into the medial reticular formation and the pontomedullary locomotor strip. *J Neurosci* 8: 2074-2086.

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

Northcutt R.G., Puzdrowski R.L. (1988). Projections of the olfactory bulb and nervus terminalis in the silver lamprey. *Brain Behav Evol* 32: 96-107.

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

Oades R.D., Halliday G.M. (1987). Ventral tegmental (A10) system: neurobiology. 1. Anatomy and connectivity. *Brain Res* 434:117-165.

O'Donovan M.J., Wenner P., Chub N., Tabak J. Rinzel J. (1998). Mechanisms of spontaneous activity in the developing spinal cord and their relevance to locomotion. *Ann N Y Acad Sci* 860: 130-141.

Ohta Y., Dubuc R., Grillner S. (1991). A new population of neurons with crossed axons in the lamprey spinal cord. *Brain Res* 564: 143-148.

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

Ottersen O.P., Storm-Mathisen J. (1984). Neurons containing or accumulating transmitter amino acids. In: Björklund A., Hökfelt T., Kuhar M.J., editors. *Classical Transmitters and Transmitter Receptors in the CNS. Part II. Handbook of Chemical Neuroanatomy, vol. 3*. Amsterdam: Elsevier, pp. 141-246.

Orlovsky G.N. (1970). Connexions of the reticulo-spinal neurons with the “locomotor regions” in the brainstem. *Biofizika* 1: 171-177.

Orlovsky G.N., Deliagina T., Grillner S. (1999). *Neuronal Control of Locomotion. From Mollusc to Man*. Oxford Univ. Press.

Panzanelli P., Fritschy J.M., Yanagawa Y., Obata K., Sassoè-Pognetto M. (2007). GABAergic phenotype of periglomerular cells in the rodent olfactory bulb. *J Comp Neurol* 502: 990-1002.

Parker D., Grillner S. (2000). The activity-dependent plasticity of segmental and intersegmental synaptic connections in the lamprey spinal cord. *Eur J Neurosci* 12: 2135-2146.

Parker D., Zhang W., Grillner S. (1998). Substance P modulates NMDA responses and causes long-term protein synthesis-dependent modulation of the lamprey locomotor network. *J Neurosci* 18: 4800-4813.

Perrins R., Roberts A. (1995). Cholinergic and electrical synapses between synergistic spinal motoneurons in the *Xenopus laevis* embryo. *J Physiol* 485: 135-144.

Philippon M. (1905). L'autonomie et la centralisation dans le système nerveux des animaux [Autonomy and centralization in the animal nervous system]. *Trav Lab Physiol Inst Solvay (Bruxelles)* 7: 1-208.

Pierre J., Mahouche M., Suderevskaya E.I., Repérant J., Ward R. (1997). Immunocytochemical localization of dopamine and its synthetic enzymes in the central nervous system of the lamprey *Lampetra fluviatilis*. *J Comp Neurol* 380: 119-135.

Pierre J., Rio J.P., Mahouche M., Repérant J. (1994). Catecholamine systems in the brain of cyclostomes, the lamprey, *Lampetra fluviatilis*. In: Smeets W.J.A.J., Reiner A., editors. *Phylogeny and Development of Catecholamine Systems in the CNS of Vertebrates*. Cambridge: Cambridge University Press, pp. 7-19.

Pinching A.J., Powell T.P. (1971). The neuropil of the glomeruli of the olfactory bulb. *J Cell Sci* 9: 347-377.

Pirez N., Wachowiak M. (2008). *In vivo* modulation of sensory input to the olfactory bulb by tonic and activity-dependent presynaptic inhibition of receptor neurons. *J Neurosci* 28: 6360-6371.

Placas P.G., Buchanan J.T. (2002). Endogenous release of acetylcholine modulates the locomotor network of the lamprey spinal cord. *Soc Neurosci Abstr* 28: 270.10.

Planel H. (1953). Etude anatomique et physiologique de l'organe Jacobson. *Arch Anat Histol Embryol* 36: 199-205.

Polenova O.A., Vesselkin N.P. (1993). Olfactory and nonolfactory projections in the river lamprey (*Lampetra fluviatilis*) telencephalon. *J Hirnforsch* 34: 261-279.

Polkinghorne C.N., Olson J.M., Gallaher D.G., Sorensen P.W. (2001). Larval sea lamprey release two unique bile acids to the water at a rate sufficient to produce detectable riverine pheromone plumes. *Fish Physiol Biochem* 24: 15-30.

Pombal M.A., El Manira A., Grillner S. (1997). Organisation of the lamprey striatum – transmitters and projections. *Brain Res* 766: 249-254.

Powers J.B., Winans S.S. (1975). Vomeronasal organ: critical role in mediating sexual behavior of the male hamster. *Science* 187: 961-963.

Pressler R.T., Strowbridge B.W. (2006). Blanes cells mediate persistent feedforward inhibition onto granule cells in the olfactory bulb. *Neuron*. 49: 889-904.

Price J.L., Powell T.P. (1970). The synaptology of the granule cells of the olfactory bulb. *J Cell Sci* 7: 125-155.

Pro-Sistiaga P., Mohedano-Moriano A., Ubeda-Banon I., del mar Arroyo-Jimenez M., Marcos P., Artacho-Perula E., Crespo C., Insauti R., Martinez-Marcos A. (2007). Convergence of olfactory and vomeronasal projections in the rat basal telencephalon. *J Comp Neurol* 504: 346-362.

Puopolo M., Belluzzi O. (1998). Functional heterogeneity of periglomerular cells in the rat olfactory bulb. *Eur J Neurosci* 10: 1073-1083.

Reese N.B., Garcia-Rill E., Skinner R.D. (1995). The pedunclopontine nucleus-auditory input, arousal and pathophysiology. *Progr Neurobiol* 47: 105-135.

Reith C.A., Sillar K.T. (1999). Development and role of GABAA receptor-mediated synaptic potentials during swimming in postembryonic *Xenopus laevis tadpoles*. *J Neurophysiol* 82: 3175-3187.

Rekling J.C., Feldman J.L. (1997). Calcium-dependent plateau potentials in rostral ambiguous neurons in the newborn mouse brain stem *in vitro*. *J Neurophysiol* 78: 2483-2492.

Remmers J.E. (1999). Central control of breathing. In: Altose M.D., Kawakami Y., editors. *Control of Breathing in Health and Disease*. New York: Marcel Dekker, pp. 1-40.

Ren X., Chang S., Laframboise A., Green W., Dubuc R., Zielinski B. (2009). Projections from the accessory olfactory organ into the medial region of the olfactory

bulb in the sea lamprey (*Petromyzon marinus*): a novel vertebrate sensory structure? *J Comp Neurol* 516: 105-116.

Ressler K.J., Sullivan S.L., Buck L.B. (1993). A zonal organization of odorant receptor gene expression in the olfactory epithelium. *Cell* 73: 597-609.

Retzius G. (1894). Die Riechzellen der Ophidier in der Riechschleimhaut und im Jacobson'schen Organ. *Biol Untersuch Neue Folge* 6: 48-51.

Ribak C.E., Vaughn J.E., Saito K., Barber R., Roberts E. (1977). Glutamate decarboxylase localization in neurons of the olfactory bulb. *Brain Res* 126: 1-18.

Roberts A., Soffe S.R., Wolf E.S., Yoshida M., Zhao F.Y. (1998). Central circuits controlling locomotion in young frog tadpoles. *Ann N Y Acad Sci* 860: 19-34.

Robertson B., Auclair F., Ménard A., Grillner S., Dubuc R. (2007). GABA distribution in lamprey is phylogenetically conserved. *J Comp Neurol* 503: 47-63.

Rodriguez I., Feinstein P., Mombaerts P. (1999). Variable patterns of axonal projections of sensory neurons in the mouse vomeronasal system. *Cell* 97: 199-208.

Rossignol S. (1996). Neural control of stereotypic limb movements. In Rowel L.B., Sheperd J.T., editors. *Handbook of Physiology. Section 12. Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems*. New York: Oxford University Press, pp.173-215.

Rossignol S., Chau C., Brustein E., Giroux N., Bouyer L., Barbeau H., Reader T.A. (1998). Pharmacological activation and modulation of the central pattern generator for locomotion in the cat. *Ann N Y Acad Sci* 860: 346-359.

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

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

Rovainen M. (1978). Müller cells, "Mauthner" cells, and other identified reticulospinal neurons in the lamprey. In: Faber D., Korn H., editors. *Neurobiology of the Mauthner Cell*. New York: Raven Press, pp. 245-269.

Rovainen C.M. (1979a). Electrophysiology of vestibulospinal and vestibuloreticulospinal systems in lampreys. *J Neurophysiol* 42: 745-766.

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

Rovainen M. (1982). Neurophysiology. In: Hardisty M.W., Potter I.C., editors. *The Biology of Lampreys*. New York: Academic Press, pp. 1-136.

Rubin D.B., Cleland T.A. (2006). Dynamical mechanisms of odor processing in olfactory bulb mitral cells. *J Neurophysiol* 96: 555-568.

Salazar I., Brennan P.A. (2001). Retrograde labelling of mitral/tufted cells in the mouse accessory olfactory bulb following local injections of the lipophilic tracer DiI into the vomeronasal amygdala. *Brain Res* 896: 198-203.

Scalia F., Winans S.S. (1975). The differential projections of the olfactory bulb and accessory olfactory bulb in mammals. *J Comp Neurol* 161: 1-55.

Schmitt D.E., Hill R.H., Grillner S. (2002). A GABAA activation contributes to the locomotor pattern generation by slowing the locomotor rhythm in lamprey. Soc Neurosci Abstr 28: 65.7.

Schoppa N.E., Kinzie J.M., Sahara Y., Segerson T.P., Westbrook G.L. (1998). Dendrodendritic inhibition in the olfactory bulb is driven by NMDA receptors. J Neurosci 18: 6790-6802.

Schoppa N.E., Westbrook G.L. (1999). Regulation of synaptic timing in the olfactory bulb by an A-type potassium current. Nature Neurosci 2: 1106-1113.

Schoppa N.E., Westbrook G.L. (2001). Glomerulus-specific synchronization of mitral cells in the olfactory bulb. Neuron 31: 639-651.

Schultze M. (1856). Über die Endigungsweise des Geruchsnerven und die Epithelialgebilde der Nasenschleimhaut. Monatsberichten der Königlichen Akademie der Wissenschaften zu Berlin 2: 504-514.

Schultze M. (1863) Untersuchungen über den Bau der Nasenschleim haut. Abhandlungen der naturforschenden Gesellschaft zu Halle 7: 1-100.

Scott W.B. (1887). Notes on the development of Petromyzon. J Morphol 1: 253-310.

Selset R., Doving K.B. (1980). Behaviour of mature anadromous char (*Salmo alpinus* L.) towards odorants produced by smolts of their own population. Acta Physiol Scand 108: 113-122.

Shah N.M., Pisapia D.J., Maniatis S., Mendelsohn M.M., Nemes A., Axel R. (2004). Visualizing sexual dimorphism in the brain. Neuron 43: 313-319.

Shefchyk S.J., Jell R.M., Jordan L.M. (1984). Reversible cooling of the brainstem reveals areas required for mesencephalic locomotor region evoked treadmill locomotion. *Exp Brain Res* 56: 257-262.

Shepherd G.M., Chen W.R., Greer C.A. (2004). Olfactory bulb. In Shepherd G.M., editor. *The Synaptic Organization of the Brain*. Oxford: Oxford University Press, pp. 165-216.

Shepherd G.M., Chen W.R., Willhite D., Migliore M., Greer C.A. (2007). The olfactory granule cell: from classical enigma to central role in olfactory processing. *Brain Res Rev* 55: 373-382.

Shepherd G.M., Greer C.A. (1998). Olfactory bulb. In: Shepherd G.M., editor. *Synaptic Organization of the Brain. Ed 4*. New York: Oxford University Press, pp. 159-204.

Sherrington C.S. (1910). Flexion-reflex of the limb, crossed extension-reflex, and reflex stepping and standing. *J Physiol* 40: 28-121.

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

Shik M.L., Orlovsky G.N., Severin F.V. (1966a). Organization of locomotor synergism. *Biophysics* 11:1011-1019.

Shik M.L., Severin F.V., Orlovsky G.N. (1966b). Control of walking and running by means of electrical stimulation of the mid-brain. *Biophysics* 11: 756-765.

Sholomenko G.N., Funk G.D. Steeves J.D. (1991). Avian locomotion activated by brainstem infusion of neurotransmitter agonists and antagonists. I. Acetylcholine, excitatory amino acids and substance P. *Exp Brain Res* 85: 659-673.

Siefkes M.J., Li W. (2004). Electrophysiological evidence for detection and discrimination of pheromonal bile acids by the olfactory epithelium of female sea lampreys (*Petromyzon marinus*). *J Comp Physiol* 190: 193-199.

Simerly R.B. (2002). Wired for reproduction: organization and development of sexually dimorphic circuits in the mammalian forebrain. *Annu Rev Neurosci* 25: 507-536.

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

Sinnamon H.M., Lee S., Adams D.B., Stopford C.K. (1984). Locomotor stepping elicited by electrical stimulation of the lateral hypothalamus requires an ipsilateral descending pathway. *Physiol Behav* 33: 209-215.

Sirota M.G., Shik M.L. (1973). Locomotion of the cat on stimulation of the mesencephalon (Article in Russian). *Fiziol Zh SSSR IM Sechenova* 59: 1314-1321.

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

Skinner R.D., Garcia-Rill E. (1984). The mesencephalic locomotor region (MLR) in the rat. *Brain Res* 323: 385-389.

Smeets W.J.A.J., Reiner A. (1994). Catecholamines in the CNS of vertebrates: Current concepts of evolution and functional significance. In: Smeets W.J.A.J., Reiner A., editors. *Phylogeny and Development of Catecholamine Systems in the CNS of Vertebrates*. Cambridge: Cambridge University Press, pp. 463-481.

Smetana R.W., Alford S., Dubuc R. (2007). Muscarinic receptor activation elicits sustained, recurring depolarizations in reticulospinal neurons. *J Neurophysiol* 97: 3181-3192.

Smetana R., Juvin L., Dubuc R., Alford S. (2010). A parallel cholinergic brainstem pathway for enhancing locomotor drive. *Nature Neurosci* 13: 731-738.

Smith T.C., Jahr C.E. (2002). Self-inhibition of olfactory bulb neurons. *Nature Neurosci* 5: 760-766.

Sorensen P.W., Hara T.J., Stacey N.E. (1991). Sex pheromones selectively stimulate the medial olfactory tracts of male goldfish. *Brain Res* 558: 343-347.

Spors H., Grinvald A. (2002). Spatio-temporal dynamics of odor representations in the mammalian olfactory bulb. *Neuron* 34: 301-315.

Steeves J.D., Jordan L.M. (1984). Autoradiographic demonstration of the projections from the mesencephalic locomotor region. *Brain Res* 307: 263-276.

Steeves J.D., Sholomenko G.N., Webster D.N.S. (1987). Stimulation of the pontomedullary reticular formation initiates locomotion in decerebrate birds. *Brain Res* 401: 205-212.

Stein P.S. (1999). Central pattern generators and interphyletic awareness. *Progr Brain Res* 123: 259-271.

Stein R.B., Misiaszek J.E., Pearson K.G. (2000). Functional role of muscle reflexes for force generation in the decerebrate walking cat. *J Physiol* 525: 781-791.

Sterman M.B., Fairshild M.D. (1966). Modification of locomotor performance by reticular formation and basal forebrain stimulation in the cat: Evidence for reciprocal systems. *Brain Res* 2: 205-217.

St-Pierre M., Auclair F., Zielinski B., Dubuc R. (2007). Projections of olfactory bulb neurons in the sea lamprey. *Soc Neurosci Abstr* 448.16.

Su C.Y., Menuz K., Carlson J.R. (2009). Olfactory perception: receptors, cells, and circuits. *Cell* 139: 45-59.

Swanson L.W. (2000). Cerebral hemisphere regulation of motivated behavior. *Brain Res* 886: 113-164.

Tabor R., Friedrich R.W. (2008). Pharmacological analysis of ionotropic glutamate receptor function in neuronal circuits of the zebrafish olfactory bulb. *PLoS One*. 3: 1416.

Takakusaki K. (2003). Function of cortical basal nuclei: Pathophysiology of Parkinson's disease. *Nippon Seirigaku Zasshi* 65: 113-129.

Takakusaki K. (2008). Forebrain control of locomotor behaviors. *Brain Res Rev* 57: 192-198.

Teeter J. (1980). Pheromone communication in sea lampreys (*Petromyzon marinus*): implications for population management. *Can J Fish Aqua Sci* 37: 2123-2132.

Tegner J., Grillner S. (1999). Interactive effects of the GABAergic modulation of calcium channels and calcium-dependent potassium channels in lamprey. *J Neurophysiol* 81: 1318-1329.

Tegner J., Matsushima T., El Manira A., Grillner, S. (1993). The spinal GABA system modulates burst frequency and intersegmental coordination in the lamprey: differential effects of GABAA and GABAB receptors. *J Neurophysiol* 69: 647-657.

Thompson R.H., Ménard A., Pombal M., Grillner S. (2008). Forebrain dopamine depletion impairs motor behavior in lamprey. *Eur J Neurosci* 27: 1452-1460.

Tresch M.C., Kiehn O. (1999). Coding of locomotor phase in populations of neurons in rostral and caudal segments of the neonatal rat lumbar spinal cord. *J Neurophysiol* 82: 3563-3574.

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

Urban N.N. (2002). Lateral inhibition in the olfactory bulb and in olfaction. *Physiol Behav* 77: 607-612.

VanDenbossche J.M., Seelye J.G., Zielinski B.S. (1995). The morphology of the olfactory epithelium in the larval, juvenile and upstream migrant stages of the sea lamprey, *Petromyzon marinus*. *Brain Behav Evol* 45: 19-24.

VanDenbossche J.M., Youson J.H., Pohlman D., Wong E., Zielinski B.S. (1997). Metamorphosis of the olfactory organ of the sea lamprey (*Petromyzon marinus* L.): morphological changes and morphometric analysis. *J Morphol* 231: 41-52.

Varendi H., Porter R.H. (2001). Breast odour as the only maternal stimulus elicits crawling towards the odour source. *Acta Paediatrica* 90: 372-375.

Vassar R., Ngai J., Axel R. (1993). Spatial segregation of odorant receptor expression in the mammalian olfactory epithelium. *Cell* 74: 309-318.

Veenman C.L., Reiner A. (1994). The distribution of GABA-containing perikarya., fibers., and terminals in the forebrain and midbrain of pigeons., with particular reference to the basal ganglia and its projection targets. *J Comp Neurol* 339: 209-250.

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

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

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

Vicini S., Ortinski P. (2004). Genetic manipulations of GABAA receptor in mice make inhibition exciting. *Pharmacol Ther* 103: 109-120.

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

Von Campenhausen H., Mori K. (2000). Convergence of segregated pheromonal pathways from the accessory olfactory bulb to the cortex in the mouse. *Eur J Neurosci* 12: 33-46.

Von Euler C. (1981). The contribution of sensory inputs to the pattern generation of breathing. *Can J Physiol Pharmacol* 59: 700-706.

Vucinic D., Cohen L.B., Kosmidis E.K. (2005). Interglomerular center-surround inhibition shapes odorant-evoked input to the mouse olfactory bulb in vivo J Neurophysiol 95: 1881-1887.

Wachowiak M., Cohen L.B. (1999). Presynaptic inhibition of primary olfactory afferents mediated by different mechanisms in lobster and turtle. J Neurosci 19: 8808-8817.

Wachowiak M., McGann J.P., Heyward P.M., Shao Z., Puche A.C., Shipley M.T. (2005). Inhibition of olfactory receptor neuron input to olfactory bulb glomeruli mediated by suppression of presynaptic calcium influx. J Neurophysiol 94: 2700-2712.

Wachowiak M., Shipley M.T. (2006). Coding and synaptic processing of sensory information in the glomerular layer of the olfactory bulb. Semin Cell Dev Biol 17: 411-423.

Wagner H.H., Ulbricht W. (1976). Saxitoxin and procaine act independently on separate sites of the sodium channel. Pflugers Arch 364: 65-70.

White E.L. (1972). Synaptic organization in the olfactory glomerulus of the mouse. Brain Res 37: 69-80.

White E.L. (1973). Synaptic organization of the mammalian olfactory glomerulus: new findings including an intraspecific variation. Brain Res 60: 299-313.

Wicht H., Himstedt W. (1988). Topological and connectional analysis of the dorsal thalamus of *Triturus alpestris* (Amphibian, Urodela, Salamandriae). J Comp Neurol 267: 545-561.

Wilczynski W., Northcutt R.G. (1983). Connections of the bullfrog striatum: Afferent organization. *J Comp Neurol* 214: 321-332.

Wilson R.I., Mainen Z.F. (2006). Early events in olfactory processing. *Annu Rev Neurosci* 29: 163-201.

Winans S.S., Powers J.B. (1977). Olfactory and vomeronasal deafferentation of male hamsters: histological and behavioral analyses. *Brain Res*: 325-344.

Wyatt T.D. (2003). *Pheromones and Animal Behaviour: Communication by Smell and Taste*. Cambridge: Cambridge University Press.

Wise R.A. (2004). Dopamine, learning and motivation. *Nat Rev Neurosci* 5: 483-494.

Yang L., Pollak G.D., Resler C. (1992). GABAergic circuits sharpen tuning curves and modify response properties in the mustache bat inferior colliculus. *J Neurophysiol* 68: 1760-1774.

Yokoi M., Mori K., Nakanishi S. (1995). Refinement of odor molecule tuning by dendrodendritic synaptic inhibition in the olfactory bulb. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92: 3371-3375.

Yoshihara Y., Kawasaki M., Tamada A., Fujita H., Hayashi H., Kagamiyama H., Mori K. (1997). OCAM: a new member of the neural cell adhesion molecule family related to zone-to-zone projection of olfactory and vomeronasal axons. *J Neurosci* 17: 5830-5842.

Yun S.S., Scott P.A., Li W. (2003). Pheromones of the male sea lamprey, *Petromyzon marinus* L.: structural studies on a new compound, 3-keto allocholic acid, and 3-keto petromyzonol sulfate. *Steroids* 68: 297-304.

Yun S.S., Scott A.P., Siefkes M.J., Li W. (2002). Development and application of an ELISA for a sex pheromone released by the male sea lamprey (*Petromyzon marinus* L.). *Gen Comp Endocrinol* 129: 163-170.

Zelenin P.V., Pavlova E.L., Grillner S., Orlovsky G.N., Deliagina T.G. (2003). Comparison of the motor effects of individual vestibulo- and reticulospinal neurons on dorsal and ventral myotomes in lamprey. *J Neurophysiol* 90: 3161-3167.

Zielinski B.S., Osahan J.K., Hara T.J, Hosseini M., Wong E. (1996). Nitric oxide synthase in the olfactory mucosa of the larval sea lamprey (*Petromyzon marinus*). *J Comp Neurol* 365: 18-26.