



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



**Mécanismes de régulation neurophysiologique à  
l'exercice : réponses pressive et bronchomotrice,  
inhibition réflexe de la locomotion.**

**THÈSE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ HENRI  
POINCARÉ DE NANCY I**

Présentée et soutenue publiquement par

**Christian BEYAERT**

le 13 Novembre 2000

Directeur de thèse : Mr François MARCHAL

Jury : Mr Jean Pierre CRANCE , Président  
Mr Yves JAMMES , Rapporteur  
Mr Didier ORSAL , Rapporteur  
Mr Bernard BUSSEL  
Mr Jean Marie ANDRE

ÉCOLE DOCTORALE : BIOLOGIE ET SANTE  
SPÉCIALITÉ : GÉNIE BIOLOGIQUE ET MÉDICAL

# **REMERCIEMENTS**

Le travail présenté dans cette thèse a été effectué au Laboratoire de Physiologie du Professeur Marc KAUFMAN à l'Université de Californie de Davis et au Laboratoire de Physiologie de la Faculté de Médecine de Nancy.

J'adresse mes remerciements à :

Monsieur le Docteur François MARCHAL, Professeur de Physiologie, Praticien Hospitalier, pour avoir dirigé ces années de Doctorat dans tous ses aspects. Nous tenons particulièrement à féliciter sa grande disponibilité. Nous lui exprimons ici notre profond respect.

Monsieur le Docteur Yves JAMMES, Professeur de Physiologie, Praticien Hospitalier ainsi qu'à Monsieur Didier ORSAL, Professeur, Directeur de Recherche au CNRS, pour avoir accepté d'être les rapporteurs de la thèse. Nous sommes honorés de l'intérêt qu'ils ont portés à ce travail.

Monsieur le Docteur Bernard BUSSEL, Professeur de Médecine Physique et de Réadaptation, Praticien Hospitalier, pour avoir accepté mon invitation et la lecture de ce mémoire. Nous en sommes très honoré.

Monsieur le Docteur Jean Pierre CRANCE, Professeur de Physiologie, Praticien Hospitalier, pour son accueil au Laboratoire de Physiologie. Nous lui exprimons notre respectueuse considération.

Monsieur le Docteur Jean Marie ANDRÉ, Professeur de Médecine Physique et de Réadaptation, Praticien Hospitalier, pour avoir accepté de juger ce travail de thèse. Nous lui adressons nos remerciements les plus sincères.

Monsieur le Docteur Philippe HAOUZI, Professeur de Physiologie, Praticien Hospitalier, pour ses critiques toujours constructives et ses conseils rédactionnels. Nous lui exprimons notre gratitude.

Monsieur Marc KAUFMAN, Professeur de Physiologie, pour son aide précieuse et sa rigueur scientifique. Nous lui exprimons notre reconnaissance.

Au personnel du Laboratoire de Physiologie de la Faculté de Médecine de Nancy :  
Madame Noëlle BERTIN, Mademoiselle CREUSAT et Madame Françoise LORRAIN pour leur aide administrative,  
Monsieur Bernard CHALON pour son aide précieuse technique et informatique,  
Monsieur Gérard COLIN, pour sa dextérité manuelle, et en particulier pour avoir élaboré des pièces pour le protocole,  
Monsieur Jérôme BEYREND pour s'être soigneusement occupé et avec beaucoup de gentillesse, des animaux de l'étude.  
Nous exprimons à tous notre plus grande gratitude.

**PRINCIPALES  
ABRÉVIATIONS**



## PRINCIPALES ABRÉVIATIONS

**ALH** : aire locomotrice hypothalamique

**ALM** : aire locomotrice mésencéphalique

**AMPA** : acide 3-hydroxy-5-méthylisoxazole-4-propionique

**EMG** : électromyographie

**FR** : formation réticulée

**GABA** : acide gamma-aminobutyrique

**LF** : locomotion fictive

**NGM** : nerf du muscle gastrocnémien médian

**NK-1** : récepteurs 1 de la neurokinine

**NMDA** : N-méthyl-D-aspartate

**NTA** : nerf du muscle tibial antérieur



INTRODUCTION	4
--------------	---

## PREMIERE PARTIE

ÉTAT DE LA QUESTION	6
I. Organisation du contrôle postural et locomoteur	6
A. Rôle de la moelle épinière dans le contrôle de la locomotion.	6
B. Fonction motrice du tronc cérébral	8
1. La formation réticulée	8
1) Systèmes afférents de la FR.	9
2) Principales efférences de la FR	10
3) Rôle de la FR dans le contrôle postural	11
4) Rôle de la FR dans le contrôle de la locomotion	13
2. Autres structures impliquées dans le contrôle locomoteur.	15
II. Contrôle de la réponse cardiorespiratoire associée à l'exercice musculaire	17
A. Structures centrales mises en jeu	17
1. Centres de la FR bulbaire.	17
2. Afférences influençant les centres bulbaires.	18
B. Contrôle de la bronchomotricité à l'exercice	19
III. Le réflexe d'immobilité	21

## DEUXIEME PARTIE

POTENTIALISATION PAR DES ANALOGUES DE LA SUBSTANCE P DE LA RÉPONSE PRESSIVE À L'INJECTION DE L-GLUTAMATE DANS LES COUCHES I ET II DE LA CORNE DORSALE CHEZ LE CHAT	23
I. Résumé	23
II. Introduction	24
III. Matériel et méthodes	24
IV. Résultats	26
V. Discussion	30

EFFET DE LA STIMULATION DE L'AIRE LOCOMOTRICE HYPOTHALAMIQUE SUR LE CALIBRE DES VOIES AÉRIENNES	32
I. Résumé	32
II. Introduction	33
III. Matériel et Méthodes	33
A. Préparation générale.	33
B. Protocoles	35
IV. Résultats	36
A. Stimulation électrique de l'ALH	36
B. Stimulation chimique de l'ALH	40
C. LF spontanée	41
D. Histologie	42
E. Stimulation du nerf tibial	42
V. DISCUSSION	44

EFFET INHIBITEUR DE L'ACTIVATION D'AFFÉRENCES CUTANÉES CERVICALES SUR LA LOCOMOTION FICTIVE INDUITE PAR STIMULATION CENTRALE CHEZ LE CHAT DÉCÉRÉBRÉ	47
I. Résumé	47
II. Introduction	49
III. Matériel et Méthodes	50
A. Anesthésie et préparation générale	50
B. Stimulation de l'ALM et identification de la LF	51
C. Activation des afférences cutanées cervicales	54



1. Stimulation physiologique	54
2. Stimulation électrique	54
3. Analyse des données et statistiques	55
IV. Résultats	56
A. Stimulation physiologique de la peau du cou	56
B. Stimulation électrique des nerfs cutanés cervicaux	61
V. Discussion	67
A. Notre modèle de LF	67
B. Nature des stimuli physiologiques et fibres impliquées dans l'inhibition de la LF	67
C. Sites d'interaction entre la LF et les afférences cutanées cervicales.	69
D. Réflexions concernant le réflexe d'inhibition motrice chez l'homme	71
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	72
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	75

# **INTRODUCTION**



## INTRODUCTION

La principale thématique de recherche du laboratoire est la régulation cardiorespiratoire à l'exercice, plus particulièrement le couplage réflexe entre les ajustements circulatoires et respiratoires. L'apport des techniques de neurophysiologie expérimentale est un élément important de l'étude de ces mécanismes physiologiques. Je suis allé me former à ces méthodes pendant une période de 14 mois auprès du Pr M. Kaufman à l'université californienne de Davis où j'ai développé une nouvelle thématique d'étude des réflexes modifiant la locomotion. De retour au laboratoire de physiologie un plateau technique de neurophysiologie a été progressivement mis en place permettant la poursuite de ces travaux. Cette nouvelle orientation était motivée par la mise en place d'une nouvelle activité d'exploration fonctionnelle orientée vers l'analyse biomécanique tridimensionnelle des troubles de la marche et du mouvement chez l'homme.

Trois études forment la base de mon mémoire de thèse. La première avait pour objectif de préciser l'action de neuromédiateurs impliqués au niveau médullaire dans la réponse pressive et ventilatoire à l'exercice. L'étude portait sur l'effet cardiorespiratoire de la substance P et du glutamate colocalisés dans les terminaisons médullaires d'afférences musculaires mises en jeu à l'exercice. Ces neuromédiateurs ont été injectés dans les deux premières couches de la corne dorsale de la moelle lombaire chez le chat décérébré et paralysé. L'injection de glutamate y induisait de façon reproductible une augmentation de la pression artérielle. Nous avons montré que cette réponse pressive était potentialisée par l'injection au même site d'un analogue de la substance P. Publication : Beyaert C., Hill J., Kaufman M. Substance P analogues potentiate the pressor response to microinjection of L-glutamate into laminae I and II of the cat dorsal horn. *Brain Res.* 759 : 175-179, 1997.

La deuxième étude avait pour objectif de séparer les mécanismes centraux et périphériques de la réponse bronchomotrice à l'exercice. Il est connu que la mise en jeu d'afférences musculaires lors de l'exercice provoque une bronchodilatation. Par contre, l'effet bronchomoteur direct de la commande centrale induisant la locomotion n'était pas exploré. Deux aires centrales dont la stimulation provoque une locomotion ont été testées en utilisant le modèle de la locomotion fictive chez le chat décérébré et placé sous curare afin d'éliminer l'influence d'afférences somatiques lors de la locomotion. La stimulation de l'aire

locomotrice mésencéphalique provoquait une augmentation de la résistance des voies aériennes lors de la locomotion fictive, de même que la stimulation de l'aire locomotrice hypothalamique. Cette bronchoconstriction résultait en fait de deux composantes opposées, l'une cholinergique bronchoconstrictive (prédominante) et l'autre bêta-adrénergique bronchodilatatrice. Il semble donc que lors de l'exercice l'effet bronchoconstricteur global de la stimulation centrale de l'aire locomotrice hypothalamique s'oppose à l'effet bronchodilatateur d'origine périphérique. Publication : Beyaert C., Hill J., Brock L., Kaufman M. Effect on airway caliber of stimulation of the hypothalamic locomotor region. *J. Appl. Physiol.* 84(4) : 1388-1394, 1998.

La troisième étude porte sur l'inhibition de la locomotion fictive consécutive à l'activation d'afférences cutanées cervicales chez le chat décérébré. La locomotion fictive induite par stimulation centrale de l'aire locomotrice mésencéphalique était inhibée par différents stimuli mécaniques appliqués sur la peau du cou ainsi que par l'activation électrique de nerfs cutanés cervicaux. Les fibres afférentes inhibitrices ont été en partie caractérisées. L'analyse de l'inhibition de la locomotion fictive permettait de suggérer la mise en jeu de structures de la formation réticulée du tronc cérébral dans ce réflexe. L'inhibition de la locomotion fictive chez le chat constitue un modèle d'étude du réflexe d'immobilité, largement répandu chez les vertébrés. La susceptibilité à ce type de réflexe est plus élevée chez le chat décérébré que chez le chat intact, probablement par l'absence de structures néocorticales inhibitrices. De plus, l'activation d'afférences cutanées cervicales provoquait aussi une inhibition de la contraction tonique fictive obtenue chez quelques chats par stimulation de l'aire locomotrice mésencéphalique. Ce type de réflexe inhibiteur pourrait exister et avoir une influence significative chez l'homme ayant des lésions au niveau de structures télencéphaliques contrôlant la motricité. La réduction de la spasticité obtenue par des stimulations électriques d'une région cutanée du dos chez l'hémiplégique pourrait mettre en jeu ce mécanisme.

Les trois études abordent des aspects différents de régulation neurophysiologique à l'exercice et seront présentées en trois parties séparées. La troisième étude portant sur la nouvelle thématique d'étude des réflexes altérant la motricité et la locomotion sera plus développée. Elle s'inscrit dans le domaine plus large de l'étude des mécanismes neurophysiologiques de troubles de la motricité et de la marche chez l'homme offrant des perspectives thérapeutiques.

**PREMIÈRE PARTIE :**  
**ÉTAT DE LA QUESTION**

# ÉTAT DE LA QUESTION

L'exposé qui suit ne constitue pas un rapport exhaustif des connaissances actuelles des contrôles locomoteur et cardiovasculaire à l'exercice. Seuls certains aspects de physiologie de l'exercice liés aux mécanismes étudiés dans ce travail de thèse seront abordés. Les trois études ont été réalisées chez le chat décérébré, après arrêt de l'anesthésie et de l'influence dépressive de cette dernière sur plusieurs structures centrales impliquées dans l'exercice (Kawahara et al., 1982; Kikuchi et al., 1980; Ohtani et al., 1979; Pavlasek and Hricovini, 1984). Les structures centrales jouant un rôle, chez l'animal décérébré, dans le contrôle du tonus musculaire et de la motricité ainsi que dans le contrôle cardiorespiratoire à l'exercice seront succinctement exposées. D'autre part, le réflexe d'immobilité sera présenté.

## **I. Organisation du contrôle postural et locomoteur**

La neurophysiologie du contrôle locomoteur a connu un développement important depuis les années 60, période à laquelle Shik, Severin et Orlovskii ont découvert l'existence de centres hypothalamique et mésencéphalique dont la stimulation provoquait une locomotion (Shik et al., 1967). Les études concernant le contrôle de la locomotion ont été réalisées principalement chez le chat, le chien, le rat, le lapin et la lamproie. Plusieurs sites centraux ont été progressivement mis en évidence, caractérisés et inclus dans un schéma d'organisation hiérarchique du contrôle locomoteur. Le contrôle du tonus postural, couplé à celui de la locomotion, est primordial et implique des structures situées dans le tronc cérébral, parmi lesquelles la formation réticulée occupe une place prépondérante.

### **A. Rôle de la moelle épinière dans le contrôle de la locomotion.**

La locomotion chez les mammifères est un déplacement actif de l'animal assuré par des mouvements rythmiques du corps et des membres. Les mouvements des membres sont assurés par des contractions rythmiques et alternées de muscles antagonistes à différents niveaux articulaires. Le contrôle des motoneurons correspondants est assuré par des réseaux d'interneurones spinaux générant un patron locomoteur communément exprimé sous le terme anglo-saxon de central pattern generators (CPG) (Grillner et al., 1998; Grillner and Wallen,

1985 ). Il existe un CPG indépendant pour chaque membre (Forssberg et al., 1980b ; Grillner and Zangger, 1979). Les CPG spinaux lorsqu'ils sont isolés des structures supraspinales par une section médullaire sont capables de générer un patron locomoteur soit spontanément sur une préparation chronique (Forssberg et al., 1980a; Forssberg et al., 1980b) soit après activation chimique sur une préparation aiguë ou chronique (Forssberg and Grillner, 1973; Grillner and Zangger, 1979). L'activation chimique des CPG se fait par l'activation de récepteurs appartenant à des interneurons des CPG, dont certains sont normalement sous le contrôle de fibres descendantes d'origine supraspinale, noradrénergiques et sérotoninergiques. Ainsi l'injection intraveineuse de L-DOPA, précurseur métabolique de la noradrénaline, ou de sérotonine induit une activité locomotrice des membres postérieurs chez l'animal spinalisé (Grillner and Zangger, 1979; Viala and Buser, 1969a ; Viala and Buser, 1971 ). Chez le rat spinal chronique, la restauration d'activités locomotrices des membres postérieurs a été obtenue après la transplantation intraspinale sous lésionnelle de cellules fœtales noradrénergiques ou sérotoninergiques (Feraboli-Lohnherr et al., 1997; Gimenez y Ribotta et al., 1998; Orsal et al., 1997 ) ou lors de l'injection intrathécale sous lésionnelle de sérotonine (Feraboli-Lohnherr et al., 1999).

Les CPG peuvent générer un patron locomoteur en l'absence de toutes informations afférentes périphériques (chat dénervé ou paralysé) (Grillner and Zangger, 1979) mais il a été montré que ces dernières modifient fortement le patron locomoteur (Forssberg et al., 1980a; Forssberg et al., 1975). Ainsi par exemple chez le chat spinal la locomotion, induite par stimulation chimique des CPG, s'adapte à différentes vitesses imposées du tapis roulant (Forssberg et al., 1980a) ou est modifiée par des stimulations tactiles exercées sur le membre en mouvement (Forssberg et al., 1975). Différents types d'informations sensorielles (tactile, proprioceptive, nociceptives) provenant des membres en mouvement peuvent modifier leur patron locomoteur (Andersson et al., 1981; Andersson and Grillner, 1981 ; Orsal et al., 1986). L'influence de ces informations sur la locomotion se fait soit directement à l'étage médullaire (Forssberg et al., 1980a; Forssberg et al., 1975) ou par l'intermédiaire de structures supraspinales sous le contrôle prédominant du cervelet (Arshavsky et al., 1983 ; Orsal et al., 1988).

L'existence de CPG spinaux de marche chez l'homme est très probable d'après les arguments suivants. Une observation exceptionnelle relève l'existence de myoclonies rythmiques du tronc et des membres inférieurs développées chez un sujet ayant subi une

section spinale au niveau cervical (Bussel et al., 1988). D'autre part, l'étude des caractéristiques du réflexe spinal polysynaptique de flexion chez l'homme sain ou paraplégique est évocatrice de la présence d'un CPG de marche (Bussel et al., 1996; Bussel et al., 1989). Enfin, des activités rythmiques de nerfs moteurs des membres inférieurs ont été obtenues par différentes stimulation pharmacologiques chez le singe spinalisé (Fedirchuk et al., 1998).

## **B. Fonction motrice du tronc cérébral**

### **1. La formation réticulée**

La formation réticulée (FR) est une coulée cellulaire diffuse qui s'étend aux trois étages du tronc cérébral et qui se prolonge en haut par le système thalamique diffus au niveau du diencephale et en bas par la substance fondamentale de la moelle cervicale (Scheibel, 1984). Elle occupe l'espace resté libre entre les structures spécifiques du tronc cérébral et les grandes voies ascendantes et descendantes. Les noyaux et les fibres enchevêtrées qui la constituent forment un réseau diffus, polysynaptique respectant une certaine organisation anatomique, histologique et fonctionnelle. Les neurones de la FR peuvent être considérés comme des interneurons dans la mesure où leurs dendrites et axones n'atteignent pas les champs récepteurs périphériques ni les muscles et les glandes (Scheibel, 1984). Ces neurones présentent en règle une activité intégrée en réponse à différents types d'afférences d'origine périphérique ou centrale (Amassian and DeVito, 1954; Ito et al., 1970; Magni and Willis, 1963), chaque neurone répondant plus particulièrement à une certaine sélection d'afférences (Scheibel and Scheibel, 1958). Des groupes de neurones partageant des caractéristiques histologiques et fonctionnelles ont été décrites dans différentes régions de la FR, ces neurones cependant coexistent avec d'autres ayant des fonctions différentes (Bauer et al., 1990; Garcia-Rill and Skinner, 1987b; Nolan and Waldrop, 1997).

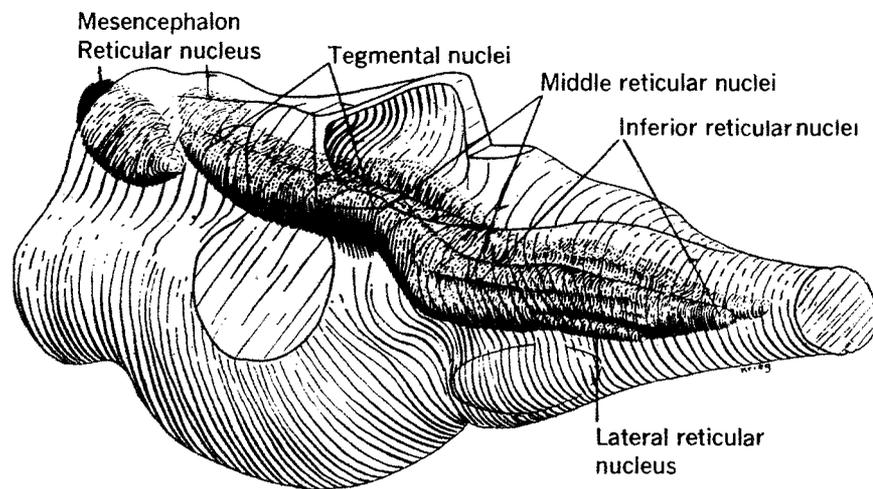


Fig. 1 : Représentation de la formation réticulée (partie noircie), située dans le tronc cérébral (d'après Krieg, 1942).

### 1) Systèmes afférents de la FR.

La FR reçoit des afférences remarquablement hétérogènes à partir de collatérales ou de terminaisons provenant de faisceaux ascendants et descendants. Une partie de ces afférences provient des systèmes spino-thalamiques, du noyau du tractus solitaire, de noyaux vestibulaires et trigéminal et des systèmes pyramidal et extra-pyramidal (Brodal and Rossi, 1955; Scheibel, 1955; Scheibel and Scheibel, 1958; Valverde, 1961; Valverde, 1962). En plus des afférences issues de faisceaux traversant le tronc cérébral, la FR reçoit assez spécifiquement de nombreuses fibres spino-réticulaires ascendantes dont la majorité se distribue dans les deux tiers médians de la FR (Rossi and Brodal, 1957), et des axones du noyau fastigial du cervelet se distribuant principalement dans la FR bulbaire (Walberg et al., 1962), de noyaux du système thalamique diffus (Scheibel and Scheibel, 1966), des aires locomotrices hypothalamique (Bayev et al., 1988) et mésencéphalique (Garcia-Rill and Skinner, 1987b).

Les réponses de la FR à des stimulations afférentes somatiques ont été étudiées (pour revue (Pompeiano, 1973)). La majorité des neurones réticulaires est excitée par la stimulation naturelle ou électrique d'afférences cutanées et /ou musculaires alors qu'une minorité de neurones est inhibée (Pompeiano, 1973).

Les stimulations physiologiques qui influencent le plus les neurones de la FR sont des stimulations cutanées telles que la pression profonde, un coup brusque sur le corps, le

pincement de la peau, sur la majeure partie de la surface corporelle telle que le tronc, la tête, le cou, la queue et les 4 membres (Bowsher et al., 1968; Bowsher and Petit, 1966; Casey, 1968; Palestini et al., 1957; Scheibel and Scheibel, 1965a; Scheibel and Scheibel, 1965b; Scheibel et al., 1955; Wolstencroft, 1961; Wolstencroft, 1964). Des stimulations mécaniques de ce type sont aussi nécessaires pour activer les centres thalamiques non spécifiques (Albe-Fessard, 1965), probablement en partie par le recrutement de fibres cutanées nociceptives. Des stimulations mécaniques légères (toucher, mouvements de poils) peuvent aussi influencer les neurones de la FR (Casey, 1968; Wolstencroft, 1961; Wolstencroft, 1964).

Les stimulations mécaniques cutanées telles que la pression profonde, le pincement mettent en jeu principalement des fibres afférentes du groupe A delta (Hunt and McIntyre, 1960; Maruhashi et al., 1952). Une certaine partie de ces fibres répond aussi à des stimulations mécaniques intenses nociceptives (Burgess and Perl, 1967; Hunt and McIntyre, 1960) comme cela a été décrit pour des fibres cutanées et sous cutanées du groupe C (Bessou and Perl, 1969; Iggo, 1960). Ces fibres cutanées A delta et C font synapses au niveau de la corne dorsale de la moelle épinière avec des neurones spinaux dont les axones ascendants empruntent le faisceau antérolatéral vers des structures supraspinales (Bowsher et al., 1963). Une partie de ces neurones du système extra-lemniscal fait synapse au niveau de la FR (Craig, 1995). Les neurones réticulaires correspondants émettent des axones ascendants, participant notamment à la voie spino-réticulo-thalamique (Bowsher et al., 1968), des axones descendants participant à des réflexes spino-réticulo-spinaux (Pompeiano, 1973), ou des axones bidirectionnels. L'organisation des afférences dans la FR est complexe mais a été précisée par Bell et col. (Bell et al., 1964). La face et les pattes antérieures sont représentées dans des régions ipsilatérales circonscrites des deux tiers postérieurs de la FR tandis que les pattes postérieures, le tronc et la queue ont des projections bilatérales.

## 2) Principales efférences de la FR

La FR exerce des influences excitatrices et inhibitrices puissantes sur tous types d'activité motrice à tous les niveaux du système nerveux (Henneman, 1980a). Les deux tiers médians contiennent de nombreux neurones de grande taille émettant de longues fibres ascendantes et descendantes. Les fonctions effectrices de la FR sont assurées principalement par ces deux tiers médians alors que le tiers latéral agit comme une région d'association pour la région médiane, qu'elle influence par des axones courts. Dans la portion médiane il y a des regroupements de neurones, les uns exerçant leur principale action sur la moelle épinière et les autres agissant surtout sur les parties plus rostrales du cerveau comme illustré sur la figure

2. Les faisceaux réticulo-spinaux sont dérivés de neurones de petites et grandes tailles situés à tous les niveaux de la FR bulbaire et pontique. Néanmoins les deux régions bulbaire et pontique se distinguent (fig. 2). La plupart des fibres bulbaires provient du noyau réticulaire giganto-cellulaire et ont une projection bilatérale dans le quadrant latéral de la moelle. Les fibres pontiques, non croisées, proviennent du noyau réticulaire pontique caudal et de la partie caudale du noyau réticulaire pontique oral, et empruntent le quadrant ventral de la moelle. Les fibres réticulo-spinales pontiques ont une terminaison plus ventrale au niveau de la corne antérieure de la moelle (couches VII et VIII) que les fibres d'origine bulbaire (couche VII). Les faisceaux réticulo-spinaux peuvent être considérés comme des voies communes finales d'une variété de centres extrapyramidaux situés plus haut. Les signaux de ces centres convergent dans la FR et l'activité résultante est dirigée vers la moelle épinière.

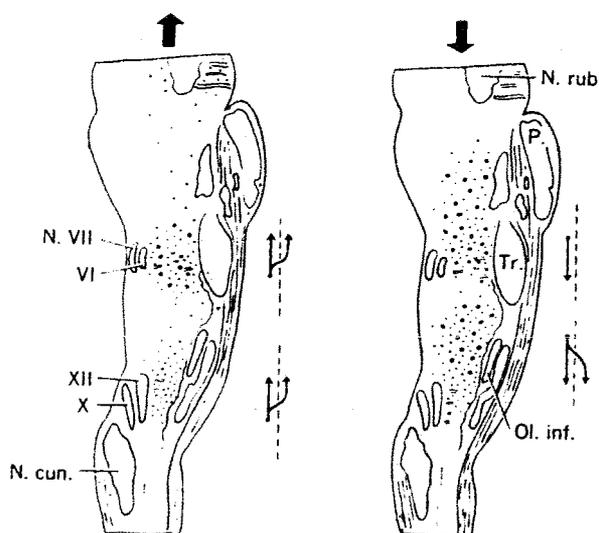


Figure 2 : Localisation de neurones de la formation réticulée (FR) émettant des axones ascendant au delà du mésencéphale (à gauche) et émettant de longs axones vers la moelle épinière (à droite). Schéma de sections parasagittales du tronc cérébral du chat. Les gros points représentent les cellules géantes. Noter que les fibres ascendantes et descendantes prennent leur origine au niveau de presque toute la longueur de la FR mais que les concentrations maximales correspondantes sont situées dans des régions quelque peu distinctes. Les flèches à droite des schémas indiquent que les fibres réticulo-spinales pontiques descendent homolatéralement alors que les autres fibres ont une projection bilatérale (d'après Brodal, 1956).

### 3) Rôle de la FR dans le contrôle postural

Des sections étagées du tronc cérébral ont permis de localiser des structures contrôlant le tonus postural. Alors qu'une section spinale haute s'accompagne d'une hypotonie musculaire, une section effectuée à la partie caudale du mésencéphale s'accompagne d'une augmentation des réflexes spinaux d'extension associée à une contraction tonique importante des extenseurs appelée rigidité de décérébration (Henneman, 1980a). Cette rigidité persiste lors d'une section mésencéphalique haute et à un moindre degré lors d'une décortication (exérèse du cerveau rostral au diencéphale). La contraction des muscles antigravitaires lors de la rigidité de décérébration est augmentée par une hyperactivité des motoneurones  $\alpha$ , par une action directe et surtout indirecte des voies descendantes, l'action indirecte consistant en une exacerbation du réflexe myotatique (boucle  $\gamma$ ) consécutive à l'activation importante des motoneurones fusimoteurs selon le principe d'Henneman (Henneman, 1980b). Le terme de spasticité est très employé chez l'homme. Il décrit une combinaison de symptômes associant hypertonie musculaire (augmentation de la résistance à l'élongation), augmentation des réflexes tendineux et clonus (contractions répétitives en réponse à un étirement brutal et maintenu d'un muscle). Il se rencontre, par exemple, chez le sujet rendu hémiplégique par lésion du lobe frontal de l'hémisphère controlatéral ou plus communément par interruption des projections extrapyramidales de ce lobe au niveau de la capsule interne. L'hypertonie consécutive des muscles antigravitaires (fléchisseurs du membre supérieur et extenseurs du membre inférieur) du côté hémiplégique peut être considérée comme une rigidité de décortication. L'hypertonie spastique nécessite l'interruption de fibres extrapyramidales mais différents mécanismes sont discutés au niveau médullaire (Katz and Rymer, 1989).

Les travaux de Magoun et collaborateurs (Lindsley et al., 1949; Magoun, 1950; Magoun and Rhines, 1946; Magoun and Rhines, 1947) ont permis de préciser le rôle moteur de différentes structures du tronc cérébral et leur relation avec d'autres structures du cerveau, dans le cadre d'études sur la spasticité. L'activité des motoneurones spinaux est le résultat de l'influence excitatrice et inhibitrice de voies descendantes prenant origine dans le tronc cérébral, les neurones réticulospinaux jouant un rôle primordial.

Des stimulations effectuées dans une large région du tronc cérébral (marquée 5 sur la figure 3) augmente la réponse à la stimulation du cortex moteur cérébral et facilite le réflexe myotatique rotulien. Cette large région excitatrice comprend plusieurs éléments du diencéphale dont l'hypothalamus, la substance grise médiane et tegmentale du mésencéphale,

le tegmentum pontique et une large partie de la FR bulbaire. La voie finale commune de cette action excitatrice bilatérale sur la moelle est constituée par les faisceaux réticulo-spinaux. Les neurones correspondant sont issus de régions pontiques telles que l'aire tegmentale ventrale (Mori et al., 1982) ou de la région bulbaire médiane (Drew and Rossignol, 1990; Lindsley, 1952). Cette large région excitatrice est sous l'influence inhibitrice de structures supérieures dont les noyaux gris centraux.

La FR inhibitrice bulbaire (marquée 4 sur la figure 3) est la voie finale commune de l'action centrale inhibitrice sur les motoneurones des muscles extenseurs et fléchisseurs. Les neurones correspondant sont situés dans le noyau gigantocellulaire du bulbe (Kawahara and Suzuki, 1991 ; Mori, 1987 ; Mori, 1989 ; Soja et al., 1987 ; Takakusaki et al., 1994; Yamuy et al., 1994). La FR inhibitrice est activée par de nombreuses régions telles que le noyau réticulé pontique oral (Hermann et al., 1997; Kohyama et al., 1994 ; Lopez-Rodriguez et al., 1995 ; Mori, 1987 ; Takakusaki et al., 1994 ; Zemlan et al., 1984), le cortex moteur cérébral, le cortex des lobes antérieurs et lobules paramédians du cervelet, le striatum, le complexe thalamique parafasciculaire (Henneman, 1980a ; Mileikovskii, 1991).

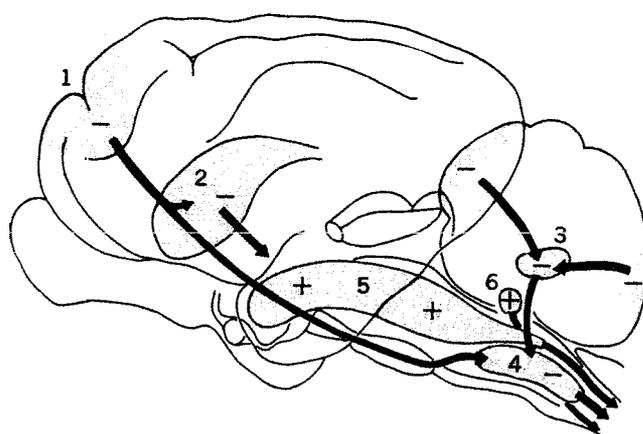


Figure 3 : Schéma représentant plusieurs régions du système nerveux central dont la stimulation exerce une activité excitatrice (+) ou inhibitrice (-) sur les motoneurones. 1 - cortex moteur ; 2 - noyaux gris centraux ; 3 - cervelet ; 4 - formation réticulée inhibitrice ; 5 - formation réticulée excitatrice ; 6 - noyaux vestibulaires (d'après Lindsley et al., 1949).

#### 4) Rôle de la FR dans le contrôle de la locomotion

La région médio-ventrale de la FR ponto-bulbaire comporte des neurones réticulo-spinaux ayant un rôle essentiel dans le contrôle des CPG spinaux (Drew et al., 1986; Drew and Rossignol, 1984; Garcia-Rill and Skinner, 1987a; Garcia-Rill and Skinner, 1987b; Kinjo

et al., 1990; Nolan and Waldrop, 1997; Perreault et al., 1993; Perreault et al., 1994 ). Ces neurones sont systématiquement mis en jeu lors de la locomotion (Drew et al., 1986). Leur activité est initiée et maintenue par différentes structures centrales rostrales telles que les aires locomotrices hypothalamique (ALH) (Bayev et al., 1988) et mésencéphalique (ALM) (Garcia-Rill and Skinner, 1987b). Diverses afférences sensorielles périphériques peuvent initier la locomotion, par l'intermédiaire de l'ALH ou de l'ALM (Beresovskii and Bayev, 1988) ou d'autres structures telles que le noyau spinal du nerf trijumeaux (Noga et al., 1988). Elles peuvent également modifier l'activité locomotrice de neurones réticulo-spinaux (Drew et al., 1996). L'organisation intrinsèque de neurones réticulo-spinaux contrôlant la locomotion est complexe. On note différents types de neurones : des neurones ayant une activité phasique corrélée au cycle locomoteur, soit strictement associés ou non associés à l'activité d'un groupe musculaire, et des neurones ayant une activité tonique lors de la locomotion (Drew et al., 1986 ; Perreault et al., 1993) .

L'importance du contrôle du tonus postural associé au contrôle de la locomotion a été montré par Mori et col. (Mori et al., 1992). Les auteurs ont mis en évidence plusieurs régions du pont jouant un rôle important dans ce contrôle. L'activation de l'aire tegmentale ventrale provoque une augmentation du tonus des extenseurs des membres postérieurs alors que l'activation du noyau pontique oral ou de ses fibres efférentes au niveau de l'aire tegmentale dorsale, provoque une baisse de ce tonus (Iwakiri et al., 1995; Mori et al., 1982 ; Mori et al., 1978). Il a été clairement montré que la stimulation de l'aire tegmentale ventrale ou de l'aire tegmentale dorsale provoquait respectivement l'accentuation ou l'arrêt de la locomotion, précédemment induite par stimulation de l'ALM (Mori et al., 1978) (fig. 4). La baisse du tonus posturale, lors de l'activation du noyau pontique oral ou de ses fibres efférentes, est la conséquence d'une action sur des neurones du noyau réticulaire gigantocellulaire du bulbe (appartenant à la FR inhibitrice précédemment décrite (Magoun and Rhines, 1946)) ou d'une action directe au niveau spinal (Iwakiri et al., 1995; Mori et al., 1992). Le noyau réticulaire gigantocellulaire constitue le centre qui au niveau du bulbe relaie l'inhibition de l'activité des motoneurones qu'elle soit tonique ou rythmique dans le cadre de la locomotion (Chase et al., 1986 ; Kawahara and Suzuki, 1991 ; Kohyama et al., 1994; Mileikovskii, 1990 ; Mori, 1987 ; Takakusaki et al., 1994 ).

Les structures pontiques précitées contrôlant le tonus postural sont mises en jeu parallèlement à l'activation de l'ALH ou de l'ALM impliqués dans l'initiation de la

locomotion, chez le chat mésencéphalique ainsi que chez le chat intact libre de tout mouvement (Mori, 1987 ; Mori et al., 1992; Mori et al., 1989 ).

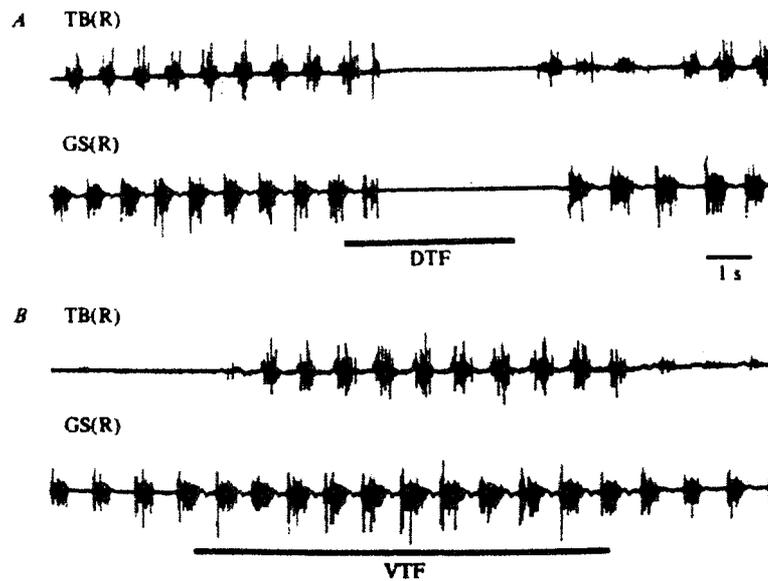


Figure 4 : Effet de la stimulation pontique sur la locomotion induite par stimulation de l'ALM. En A, la stimulation de l'ALM provoquait une locomotion des 4 membres et seuls les EMG des pattes avant et arrière droites sont représentés. La stimulation de l'aire tegmentale dorsale (DTF, indiquée par une barre) provoquait une suppression complète de la locomotion, persistant quelques secondes après l'arrêt de la stimulation. En B, lors de la stimulation de l'aire tegmentale ventrale (VTF), les mouvements rythmés des pattes postérieures étaient complétés pour produire une locomotion utilisant les 4 pattes. TB(R), muscle triceps brachial droit ; GS(R), muscle gastrocnémien-soléaire droit. (d'après Mori et al., 1978).

## 2. Autres structures impliquées dans le contrôle locomoteur.

L'ALH et l'ALM ont été les deux premières régions locomotrices découvertes en 1967 (Shik et al., 1967) (fig. 5). L'ALH est située dans ou près de l'aire H2 de Forel de l'hypothalamus postérieur mais ne correspond pas à un noyau anatomiquement individualisable (Eldridge et al., 1985; Smith et al., 1960) ; l'ALM était classiquement restreinte au noyau cunéiforme dans le mésencéphale (Eldridge et al., 1985; Garcia-Rill et al., 1985; Shik and Orlovsky, 1976) mais d'autres noyaux proches y ont été associés (Garcia-Rill et al., 1987; Jordan, 1998).

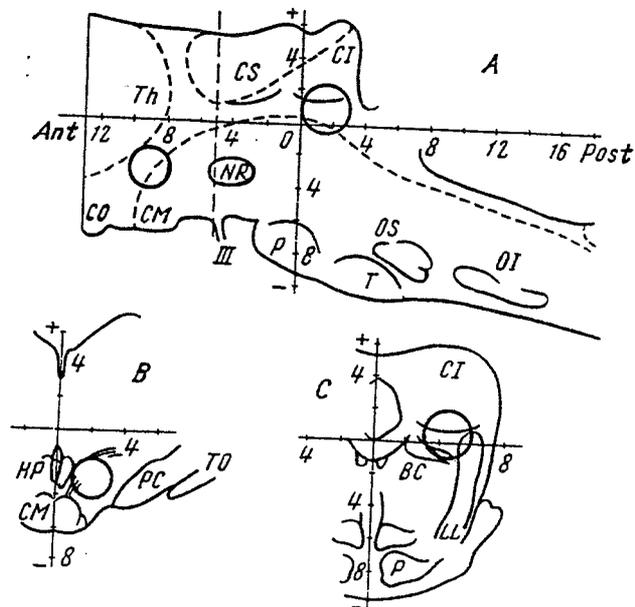


Fig. 5 : Diagramme du tronc cérébral du chat : A – plan sagittal ; B – plan frontal au niveau A9 (selon Horsley-Clark) ; C – plan frontal P2. Sur le diagramme A, le grand cercle correspond à l'aire locomotrice mésencéphalique et le petit cercle à l'aire locomotrice hypothalamique. La ligne discontinue verticale figure le niveau d'une section précolliculo-postmamillaire chez le chat mésencéphalique. BC : pédoncule cérébelleux supérieur ; CI : colliculus inférieur ; CM : corps mamillaires ; CO : chiasma optique ; CS : colliculus supérieur ; HP : hypothalamus postérieur ; NR : noyau rouge ; OI : olive inférieure ; OS : olive supérieure ; P, pont ; PC : pédoncules cérébraux ; T : corps trapèze ; Th, thalamus ; TO, tractus optique ; III, nerf oculomoteur. (d'après Orlovskii, 1969).

Ces deux aires locomotrices, interconnectées, reçoivent des afférences de structures supérieures dont plusieurs appartiennent au système limbique et aux noyaux gris centraux (Berezovskii, 1991; Berezovskii et al., 1986 ; Inglis and Winn, 1995; Klemm, 1971a ; Lee et al., 2000), impliquées à des degrés divers selon les comportements associés à la locomotion (exploration, recherche de nourriture, défense) (Jordan, 1998). Ces deux aires reçoivent de plus de multiples informations sensorielles par l'intermédiaire de noyaux du tronc cérébral ou par des collatérales de faisceaux sensitifs ascendants (Berezovskii and Bayev, 1988; Berezovskii, 1991; Berezovskii et al., 1986). Les efférences de ces deux aires se projettent principalement dans la FR médiane (Bayev et al., 1988 ; Berezovskii, 1991; Garcia-Rill and Skinner, 1987b).

Le cervelet joue un rôle important dans la modulation du tonus postural et de la locomotion par l'intermédiaire de structures du tronc cérébrales (FR, noyaux vestibulaires, noyau rouge) ou de structures supérieures. Il peut diminuer le tonus postural par activation de la FR inhibitrice via les noyaux fastigiaux ou augmenter le tonus postural via des neurones vestibulo-spinaux (Wilson and W, 1981) ou réticulospinaux (Brooks and T, 1981). Il joue un rôle dans la modulation de la locomotion en comparant les informations sensorielles transmises par le faisceau spino-cérébelleux dorsal à la commande locomotrice dont une copie est transmise par le faisceau spino-cérébelleux ventral (Arshavsky et al., 1983). Utilisant ces informations le cervelet module l'activité de neurones rubrospinaux, vestibulospinaux et réticulospinaux (Arshavsky et al., 1983 ; Orsal et al., 1988). Par ailleurs, il a été montré récemment que l'activation d'une région de la substance blanche du cervelet (faisceau de Russel) pouvait provoquer une locomotion lorsque les membres étaient mobilisés par un tapis roulant, cette action étant relayée par le noyau fastigial puis la FR médiane (Mori et al., 1998; Mori et al., 1999).

## **II. *Contrôle de la réponse cardiorespiratoire associée à l'exercice musculaire***

### **A. Structures centrales mises en jeu**

#### **1. Centres de la FR bulbaire.**

Les principales structures exerçant un contrôle intégré sur les réponses cardiorespiratoires à l'exercice (augmentation de la pression artérielle, du débit et de la fréquence cardiaque et de la ventilation) sont situées dans la FR bulbaire ventrolatérale et dans l'aire tegmental latérale du bulbe (Chan, 1985; Chan et al., 1986; Iwamoto et al., 1991 ; Nolan and Waldrop, 1997; Waldrop et al., 1996). Les neurones impliqués possèdent une activité basale liée aux cycles cardiovasculaires, respiratoires et /ou sympathiques (Nolan and Waldrop, 1997). Les neurones du bulbe ventro-latéral impliqués dans le contrôle cardiovasculaire possèdent des projections vers les colonnes intermedio-latérales de la moelle épinière où sont situées les neurones sympathiques pré-ganglionnaires (Bauer et al., 1992). Il a été mis en évidence que les neurones réticulaires gigantocellulaires situés dans le bulbe ventrolatéral avait une action inhibitrice sur la pression artérielle, la fréquence cardiaque et la ventilation (Chan, 1985; Chan et al., 1986 ; Chen et al., 1990 ; Kawahara and Suzuki, 1991;

Richard et al., 1989 ; Stremel et al., 1990). Il est hautement probable que l'influence de diverses informations sensorielles parvenant dans cette région de la FR soit inhibitrice sur la commande cardiorespiratoire (Stremel et al., 1990).

## **2. Afférences influençant les centres bulbaires.**

Les neurones des centres cardiorespiratoires bulbaires intègrent selon différentes modalités les commandes centrales descendantes provenant de différentes régions cérébrales supérieures et les afférences périphériques telles que celles provenant des muscles en contraction (Abols and Basbaum, 1981 ; Nolan and Waldrop, 1997).

Ces centres bulbaires sont sous le contrôle central de nombreuses zones disséminées dans la substance réticulée du pont et du mésencéphale, dans d'autres régions du mésencéphale (dont l'ALM) et du diencephale dont l'hypothalamus. L'hypothalamus, voie efférente principale du système limbique, joue un rôle central dans la régulation cardiovasculaire car il exerce des effets excitateurs et inhibiteurs puissants sur le centre vasomoteur de la réticulée bulbaire ventrolatérale. Les parties postérolatérales de l'hypothalamus entraînent surtout l'excitation, alors que la partie antérieure cause une excitation ou une inhibition légères selon l'endroit précis de l'hypothalamus antérieur qui est stimulé. Dans la partie postérieure de l'hypothalamus se trouve l'ALH.

La réponse cardiorespiratoire à l'exercice est en partie le résultat de la commande centrale. En effet, lors de la stimulation électrique ou chimique de l'ALH et de l'ALM la locomotion est associée à une augmentation de la pression artérielle, de la fréquence cardiaque et de la respiration (Eldridge et al., 1985). Cette réponse cardiorespiratoire est consécutive à la commande centrale puisqu'elle est associée à la locomotion même lorsqu'elle est fictive, chez l'animal paralysé (Eldridge et al., 1985). L'ALS exerce sur les neurones de la région bulbaire ventro-latérale un contrôle activateur tonique de base ainsi que phasique lors de la locomotion (Millhorn et al., 1987; Waldrop et al., 1988) et lors de la contraction musculaire statique (Waldrop et al., 1986; Waldrop and Stremel, 1989). Il est intéressant de considérer que les centres bulbaires du contrôle moteur et du contrôle cardiorespiratoire, situés respectivement dans la partie ventro-médiane et ventro-latérale, sont contigus et activés par l'ALS (Waldrop et al., 1988) et probablement par l'ALM.

La réponse cardiorespiratoire à l'exercice est aussi influencée par des afférences mis en jeu lors de la contraction musculaire statique ou dynamique, tels que provenant de l'activation des fuseaux neuro-musculaires (Jammes et al., 1981), cependant les fibres

musculaires les plus impliquées appartiennent aux groupes III et IV (Mitchell et al., 1983; Tibes, 1977; Waldrop et al., 1984). Ces fibres des groupes III et IV font synapses dans la corne postérieure de la moelle épinière (Craig and Mense, 1983) avec des neurones spinaux du système extra-lemniscal dont une partie atteint notamment la région bulbaire ventro-latérale (Craig, 1995). Il a été montré que la réponse cardiorespiratoire à l'exercice nécessite la présence de la partie caudale du tronc cérébral, la seule composante spinale n'étant à l'origine que d'une faible augmentation isolée de la pression artérielle (Iwamoto et al., 1985). Les centres bulbaires du contrôle cardiorespiratoire (région ventro-latérale, aire tegmentale latérale) sont influencées par les afférences musculaires (Nolan and Waldrop, 1997). Les terminaisons spinales des fibres afférentes de type III (ou A delta) et IV (ou C) contiennent du glutamate, un acide aminé excitateur, et de la substance P, un neuropeptide (De Biasi and Rustioni, 1988; Hokfelt et al., 1975). Le rôle associé de ces deux neuromédiateurs sur les variables cardiorespiratoires n'était pas connu et a fait l'objet de la première étude de ce travail.

## **B. Contrôle de la bronchomotricité à l'exercice**

Le muscle lisse trachéobronchique est le siège d'une contraction tonique de base d'origine cholinergique modulée par de nombreuses afférences périphériques provenant de l'arbre trachéobronchique et du poumon, des voies aériennes supérieures, du système circulatoire, des muscles respiratoires et squelettiques et de l'appareil digestif (Jammes, 1988 ; Jammes, 1989 ; Jammes and Mei, 1979; Widdicombe, 1963 ). Ainsi le tonus du muscle lisse trachéobronchique est le résultat d'influences inhibitrices et excitatrices. L'exercice est associé chez le sujet sain à une bronchodilatation.

Plusieurs mécanismes réflexes d'origine périphérique conduisent à une bronchodilatation lors de l'exercice. Au niveau du système respiratoire, le réflexe d'Hering-Breuer met en jeu des récepteurs d'étirement à adaptation lente. Ces récepteurs détectent spécifiquement les variations de pression transpulmonaire et leur activité s'accroît lors de l'augmentation du volume courant et de la fréquence ventilatoire survenant à l'exercice (Bowes et al., 1984; Widdicombe and Nadel, 1963 ). La stimulation de ces mécanorécepteurs est responsable d'une diminution réflexe du tonus bronchomoteur par inhibition de la commande vagale cholinergique (Richardson et al., 1984; Widdicombe and Nadel, 1963 ).

D'autre part, la stimulation mécanique ou chimique de récepteurs situés dans l'épipharynx et dans les fosses nasales provoque un réflexe bronchodilatateur (Tomori and Widdicombe, 1969).

L'augmentation de la pression artérielle au niveau des sinus carotidiens ou de l'arc aortique provoque une bronchodilatation réflexe (Jammes et al., 1975 ; Nadel and Widdicombe, 1962 ; Schultz et al., 1987). Cette réponse est vraisemblablement due à une excitation du système sympathique adrénérique puisqu'elle n'est pas modifiée par l'administration d'atropine mais disparaît après blocage des récepteurs bêta-adrénériques. De même la distension de l'artère pulmonaire produit une bronchodilatation en réponse à l'activation des barorécepteurs présents à ce niveau (LLoyd, 1980).

La mise en jeu des afférentes musculaires des groupes III et IV lors de l'exercice provoque une bronchodilatation. par réduction du tonus cholinergique des muscles lisses des voies aériennes (Kaufman and Rybicki, 1984; Kaufman et al., 1985; Longhurst, 1984; McCloskey and Mitchell, 1972 ). L'activité de ces fibres afférentes fines augmente lors de l'exercice dynamique (Adreani et al., 1997; Pickar et al., 1994). Le réflexe musculaire de bronchodilatation met en jeu le bulbe ventrolatéral activé lors de la stimulation des afférences musculaires fines (Bauer et al., 1992; Iwamoto and Kaufman, 1987 ). La bronchodilatation, provoquée par le réflexe musculaire (Kaufman et al., 1985; Rybicki and Kaufman, 1983 ) ou par l'activation chimique de la partie caudale du bulbe ventrolatéral (Connelly et al., 1987; Haselton et al., 1991), est due à une réduction du tonus cholinergique des muscles lisses des voies aériennes et non à une excitation  $\beta_2$ -adrénérique. La bronchodilatation est plus précisément la conséquence de la réduction de l'activité spontanée des neurones préganglionnaires du vague situés dans le noyau ambigu et le noyau moteur dorsal (Bennett et al., 1981 ; Ford et al., 1990; McAllen and Spyer, 1978 ).

Le rôle de la commande centrale dans la bronchodilatation à l'exercice est très peu connu. Une étude récente a montré que la stimulation de l'ALM provoquait une constriction des voies aériennes (Motekaitis and Kaufman, 1996). La réponse bronchomotrice lors de la locomotion fictive spontanée chez le chat décérébré et paralysé ainsi que lors de la stimulation de l'autre aire locomotrice centrale connue, l'ALH, ont été étudiés et font l'objet de la deuxième étude de ce travail.

### III. *Le réflexe d'immobilité*

Le réflexe d'immobilité, connu aussi sous le terme d'hypnose ou d'immobilité tonique, est un état d'immobilité qui peut être provoqué par différents types de stimulation sensorielle chez beaucoup d'espèces de vertébrés tels que la grenouille, le poulet, le lapin, le cochon d'Inde, le rat, l'opossum, et chez certains chiens d'arrêt (Hennig et al., 1981; Klemm, 1971b; Reese et al., 1982; Webster et al., 1981). Ce réflexe d'immobilité est provoqué par l'application sur le dos de diverses stimulations mécaniques telles que pression (lors d'une manœuvre de retournement de l'animal ou non), traction, préhension ou pincement de la peau (De la Cruz and Junquera, 1993; Klemm, 1971b; Klemm, 1976; Korczynski and Korda, 1988). Ce réflexe provoque une inhibition du mouvement et habituellement une hypotonie bien que l'effet sur le tonus musculaire varie selon l'espèce et la méthode d'induction (Carli, 1969; Klemm, 1971b; Volgyesi, 1966).

Le réflexe d'immobilité semble être sous le contrôle de plusieurs structures du tronc cérébral. Des neurones de la FR inhibitrice activés lors de ce réflexe inhibiteur (Klemm, 1971a; Mileikovsky and Nozdrachev, 1997) constituent vraisemblablement une étape finale provoquant l'inhibition des motoneurones (Klemm, 1976). Des groupes neuronaux situés dans le pont semblent jouer un rôle important dans le contrôle de ce réflexe. Après section de la partie caudale du pont, la manœuvre d'induction du réflexe d'immobilité provoquait une augmentation de l'activité motrice suggérant que les neurones bulbaires sont incapables d'inhiber les neurones sans l'influence de neurones pontiques et /ou qu'une partie importante du système inhibiteur soit localisée aussi dans le pont (McBride, 1971). Il a été montré que des lésions réalisées dans la FR pontique gigantocellulaire provoquaient une réduction marquée du réflexe d'immobilité (Braun and Pivik, 1983). Récemment, il a été montré chez le rat que le réflexe d'immobilité s'accompagnait d'une activation de neurones de la région dorsolatérale pontique dont une partie faisait synapse avec des neurones de la FR inhibitrice bulbaire (Mileikovsky and Nozdrachev, 1997).

Le réflexe d'immobilité peut être modulé par différentes structures supérieures. Une influence excitatrice provient du système limbique, qui est impliqué dans les réactions de défense. La substance grise périaqueducale pontomésencéphalique, qui constitue la partie la plus caudale du système nerveux centrale dont la stimulation provoque une réponse intégrée

de défense, module le réflexe d'immobilité (Fontani and Meucci, 1983 ; Monassi et al., 1994; Monassi et al., 1997). De plus le réflexe d'immobilité est sous l'influence inhibitrice du néocortex (Klemm, 1976), ce qui est montré par plusieurs arguments. Les espèces animales d'un rang supérieur ont un développement néocortical plus élevé et sont moins susceptibles au réflexe d'immobilité (Ratner, 1967). La susceptibilité décroît chez le jeune animal dans la période où le néo-cortex devient mature (McGraw and Klemm, 1969). La décortication chirurgicale de rats peu susceptibles permettait d'obtenir un réflexe d'immobilité chez ceux-ci (McGraw and Klemm, 1969). Une large dépression chimique du cortex potentialisait de même ce réflexe (Teschke et al., 1975). Ces études montrant l'influence inhibitrice du néocortex ont été réalisées principalement chez des lapins et rats. Le réflexe d'immobilité n'a pas été étudié chez un animal peu susceptible appartenant à un rang plus élevé dans des conditions où le contrôle cortical est supprimé. L'étude de la susceptibilité du chat décérébré à ce réflexe fait l'objet de la troisième étude de ce travail , le modèle utilisé de locomotion fictive permettant de mieux caractériser ce réflexe d'inhibition motrice.

**DEUXIÈME PARTIE :**

**ÉTUDES**

**PERSONNELLES**

## **PREMIÈRE ÉTUDE**

# POTENTIALISATION PAR DES ANALOGUES DE LA SUBSTANCE P DE LA RÉPONSE PRESSIVE À L'INJECTION DE L-GLUTAMATE DANS LES COUCHES I ET II DE LA CORNE DORSALE CHEZ LE CHAT

## **I. *Résumé***

L'injection d'un analogue de la substance P (1 mM ; 7 ou 10 nl) dans les couches I et II de la corne dorsale au niveau L7 chez des chats décérébrés potentialisait significativement ( $p < 0.05$ ) les réponses pressives à l'injection de L-glutamate (109 mM ; 7 ou 10 nl) dans ces sites de la moelle épinière. L'injection des analogues de la substance P, qui étaient des agonistes sélectifs des récepteurs NK-1, n'avait pas d'impact sur les réponses chronotrope et ventilatoire à l'injection de L-glutamate ( $p > 0.05$ ). Nous avons conclu que la stimulation des récepteurs NK-1 dans les couches superficielles de la corne dorsale potentialise les réponses pressives à l'injection de L-glutamate.

## **II. Introduction**

Les fibres afférentes faiblement ou non myélinisées innervant la peau, les muscle, l'os et les articulations sont considérées comme faisant synapse au niveau des couches I, II et V de la corne dorsale de la moelle épinière (Cervero and Iggo, 1980; Craig and Mense, 1983). Il a été montré que les terminaisons spinales de ces fibres afférentes fines contiennent du glutamate, un acide aminé excitateur, et de la substance P, un neuropeptide (De Biasi and Rustioni, 1988). La première molécule est considérée comme un neurotransmetteur à action rapide et courte (Gerber and Randic, 1989; Wong et al., 1995), qui stimule les récepteurs NMDA et AMPA, alors que l'autre molécule est considérée comme un neuromédiateur à action lente et longue (Urban and Randic, 1984) qui active les récepteurs 1 de la neurokinine (NK-1).

Récemment, il a été montré que l'injection de glutamate dans les couches I et II du segment L7 de la corne dorsale chez le chat décérébré ou anesthésié par chloralose, augmentait la pression artérielle (Wong et al., 1995). Cette découverte appuie l'avis selon lequel la libération de L-glutamate par des fibres afférentes périphériques fines est capable d'augmenter le tonus sympathique vers les vaisseaux sanguins. L'effet de la microinjection d'un agoniste des récepteurs NK-1 sur cette réponse pressive à l'injection de glutamate dans les couches I et II de la corne dorsale n'est pas connu. Par conséquent, nous avons examiné les effets de l'injection préalable d'un analogue de la substance P sur les réponses pressive, chronotrope et ventilatoire à l'injection de glutamate dans les couches I et II de la corne dorsale.

## **III. Matériel et méthodes**

Les chats étudiés étaient anesthésiés avec de l'halothane (5%) mélangé avec de l'oxygène et de l'oxyde nitrique (2:3). Un cathéter était placé dans une artère carotide commune, dans une veine jugulaire externe et une sonde trachéale était posée. Les chats étaient ensuite décérébrés par une section verticale passant entre les deux colliculi, le tissu nerveux en avant de la section était enlevé de la cavité crânienne. L'hémorragie était contrôlée

et l'anesthésie arrêtée. Les chats étaient placés dans une unité spinale Kopf, puis une laminectomie lombaire était réalisée. Les poumons étaient ventilés mécaniquement (Harvard) et les chats étaient paralysés avec du bromure de pipecuronium (0.2 mg /kg ; iv, toutes les 2 heures). Une branche cervicale du nerf phrénique dont l'épinèvre était retroussée était posée sur une électrode d'enregistrement bipolaire et recouverte de vaseline. L'activité du nerf phrénique était enregistrée (Grass P511) et intégrée (Gould) en utilisant une méthode décrite par Eldridge (Eldridge, 1971). L'auteur a montré chez le chat que les pics des décharges du nerf phrénique, dont l'intégration de l'activité était remise à zéro chaque 0.1 sec, étaient corrélés aux volumes courants que développaient l'animal. Cette activité intégrée du nerf phrénique nous servait donc d'index de la ventilation. La pression artérielle était mesurée en connectant le cathéter artériel à un transducteur Statham P23XL. Un électrocardiogramme était enregistré. La fréquence cardiaque était calculée battement par battement depuis l'électrocardiogramme par un tachocardiomètre (Gould Biotach). La pression artérielle, la fréquence cardiaque, et l'activité intégrée du nerf phrénique étaient enregistrées (Gould TA4000).

Des pipettes composées de trois capillaires en verre étaient remplies avec les solutions suivantes : du L-glutamate (109mM), un de deux analogues de la substance P (1 mM) et du colorant bleu ciel de Chicago (5%). Les deux analogues de la substance P étaient le GR73638 (n=3) et le [Sar<sup>9</sup>,Met(O<sub>2</sub>)<sup>11</sup>]-substance P (n=8). Ces deux molécules sont des agonistes très sélectifs des récepteurs NK-1 (Drapeau et al., 1987; Hagan et al., 1991). De plus, le GR73638 est résistant à l'effet des peptidases tissulaires (Hagan et al., 1991). La pipette était attachée à un micromanipulateur Kopf et son extrémité était positionnée près de la zone d'entrée des racines dorsales du segment L7. La pipette était avancée par incréments de 100 µm jusqu'à ce que l'injection de L-glutamate (7 ou 10 nl) provoque une réponse pressive. Si une augmentation de la pression artérielle était observée, le même volume de L-glutamate était injecté 20 min plus tard. Si cette seconde injection de L-glutamate provoquait une réponse pressive assez comparable à celle provoquée par la première injection, après un intervalle de 20 min un analogue de la substance P (7 ou 10 nl) était alors injecté. Le volume injecté de la solution d'analogue de la substance P équivalait toujours celui de la solution de L-glutamate. Enfin, le L-glutamate était injecté une troisième fois et l'intervalle entre cette injection et l'injection précédente de l'analogue de la substance P était en moyenne de 265 ± 119 secondes [73 à 1500s]. La pression artérielle moyenne, la fréquence cardiaque et l'activité

intégrée du nerf phrénique étaient enregistrées lors des 2 minutes qui précédaient et suivaient chaque injection.

A la fin de l'étude, le colorant bleu ciel de Chicago (10-50 nl) était injecté pour marquer le site étudié. La moelle épinière était enlevée, placée dans une solution de formol pour 48 h puis congelée et sectionnée en fines lamelles de 40  $\mu\text{m}$  d'épaisseur. Les marques colorées confirmaient que chaque site étaient dans la couche I ou II.

Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  erreur standard. Les tests statistiques utilisés étaient une analyse de variance (ANOVA) avec mesures répétées complétée par des tests post-hoc de Sheffé si nécessaire (Myers, 1966). Le critère de significativité était  $p < 0.05$ .

#### **IV. Résultats**

Le L-glutamate, injecté dans les couches I et II de la corne dorsale, provoquait des augmentations significatives ( $p < 0.05$ ) et répétées de la pression artérielle dans chacun des 11 sites (1 pour chaque chat ; fig. 6). La première injection de L-glutamate augmentait la fréquence cardiaque ( $p < 0.05$ ) mais la seconde ne l'augmentait pas ( $p > 0.05$ , tableau 1). L'injection de L-glutamate n'avait pas d'effet significatif sur l'activité du nerf phrénique en considérant l'ensemble des 11 sites étudiés (tableau 1). Néanmoins, l'injection de L-glutamate augmentait la fréquence cardiaque et la décharge du nerf phrénique pour 7 des 11 sites provoquant une réponse pressive (Fig. 7). L'injection consécutive d'un analogue de la substance P dans ces 11 sites n'a eu aucun effet significatif sur les variables mesurées (tableau 1). La troisième injection de L-glutamate, qui était réalisée en moyenne quatre minutes et demi après l'injection d'un analogue de la substance P, provoquait une réponse pressive significativement plus importante ( $p < 0.05$ ) que celles provoquées lors des deux premières injection de L-glutamate. Cette « potentialisation » par un analogue de la substance P de la réponse pressive à l'injection de L-glutamate n'était trouvée que pour 7 des 11 sites (fig. 8) ; cependant, elle était significative ( $p < 0.05$ ) lorsqu'elle était moyennée pour les 11 sites testés (tableau 1).

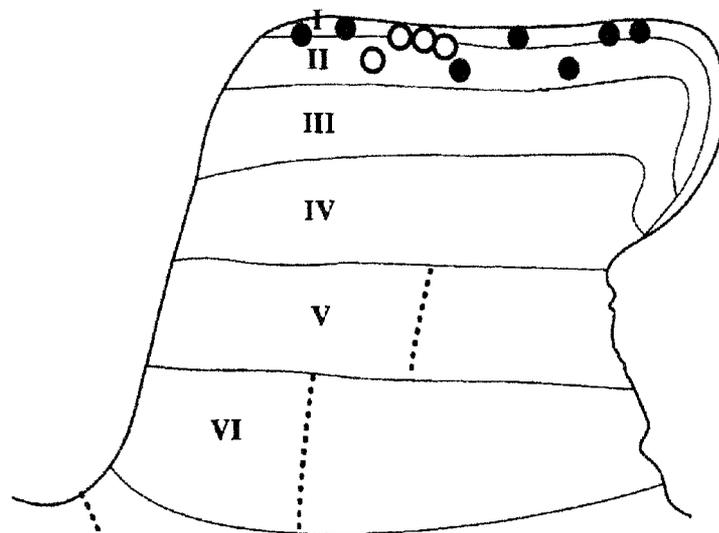


Figure 6. Distribution des 11 sites où l'injection (7 ou 10 nl) de L-glutamate (109 mM) provoquait une augmentation de la pression artérielle moyenne. Les cercles pleins (n=7) représentent les sites où l'injection d'un analogue de la substance P (7 ou 10 nl, 1 mM) potentialisait la réponse pressive à l'injection de L-glutamate. Les cercles ouverts (n=4) représentent les sites où l'injection d'un analogue de la substance P n'avait pas d'effet sur la réponse pressive au L-glutamate. Le schéma représente la corne dorsale du chat au niveau du segment L7 (d'après Randic et al., 1990).

**Tableau 1** : Effet potentialisateur de l'injection d'un analogue de la substance P (Sub P) sur la réponse pressive à l'injection de L-glutamate dans les couches I et II de la corne dorsale.

		Glut 1	Glut 2	Sub P	Glut 3
Mean arterial pressure (mmHg)	baseline	134 ± 8	136 ± 8	138 ± 8	140 ± 7
	peak	144 ± 9 <sup>a</sup>	147 ± 9 <sup>a</sup>	143 ± 9	158 ± 9 <sup>b</sup>
	onset latency (s)	3.2 ± 0.3	2.9 ± 0.4	-	2.5 ± 0.4
	peak latency (s)	13.5 ± 1.8	12.4 ± 1.5	-	10.3 ± 0.8
	n	11	11	11	11
Heart rate (b.p.m.)	baseline	211 ± 15	220 ± 14	220 ± 16	220 ± 16
	peak	218 ± 14 <sup>a</sup>	225 ± 13	222 ± 15	229 ± 14 <sup>a</sup>
	onset latency (s)	1.2 ± 0.4	-	-	1.1 ± 0.7
	peak latency (s)	9.3 ± 1.7	-	-	7.4 ± 1.0
	n	11	11	11	11
Phrenic nerve discharge (% of baseline)	baseline	100	100	100	100
	peak	113 ± 7	112 ± 9	101 ± 1	107 ± 4
	onset latency (s)	-	-	-	-
	peak latency (s)	-	-	-	-
	n	11	11	10	10

Valeurs = moyenne ± ES ; n, nombre de sites. Les délais par rapport au début et au pic étaient calculés depuis la fin de l'injection, qui durait 1 à 3 sec. Les valeurs correspondent à 7 sites dans lesquels l'injection d'un analogue de la substance P potentialisait la réponse pressive à l'injection de L-glutamate et à 4 sites dans lesquels l'analogue n'avait pas d'effet sur cette réponse pressive.

<sup>a</sup> Différence significative (p<0.05) entre la valeur de base et du pic d'effet

<sup>b</sup> Différence significative (p<0.05) entre la réponse pressive à la troisième injection de L-glutamate (Glut 3) et la réponse pressive à la première (Glut 1) ou à la deuxième injection (Glut 2) de glutamate.

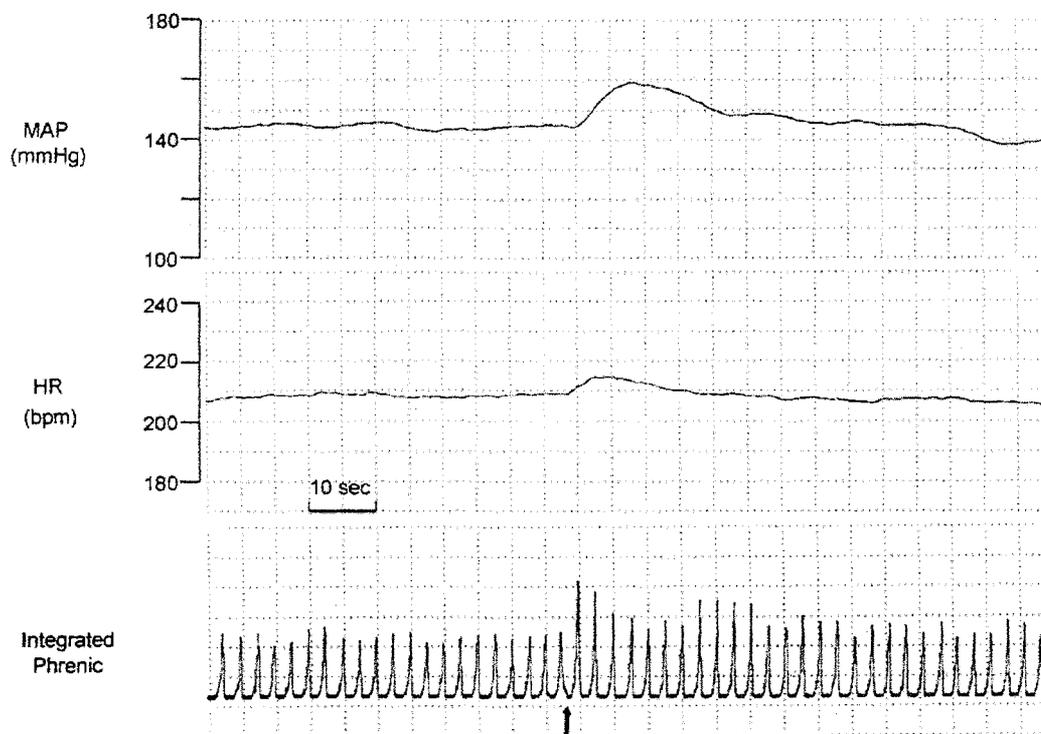


Figure 7. L'injection de L-glutamate (10 nl ; 109 mM) dans les couches superficielles de la corne dorsale au niveau L7 a augmenté la pression artérielle moyenne (MAP), la fréquence cardiaque (HR) et l'activité du nerf phrénique. L'injection est signalée par une flèche.

Parmi les 11 sites testés, huit ont reçu une injection de  $[\text{Sar}^9, \text{Met}(\text{O}_2)^{11}]$ -substance P et les trois restant une injection de GR73638. La première molécule potentialisait la réponse pressive à l'injection de L-glutamate pour 5 des 8 sites testés et la dernière molécule pour 2 des 3 sites testés. Les effets provoqués par les deux molécules étaient très semblables et donc les résultats ont été combinés (tableau 1, fig. 7 et 8).

Lors de trois expérimentations, une solution saline témoin (7 ou 10 nl) était injectée dans les couches I et II de la corne dorsale. Le pH de la solution saline était de 2,8, identique à celui des solutions d'analogues de la substance P ou de L-glutamate. Cette injection n'avait pas d'effet sur la pression artérielle, la fréquence cardiaque et l'activité du nerf phrénique. De plus, elle n'avait pas d'effet sur la réponse pressive à l'injection de L-glutamate. En effet, avant l'injection de la solution saline, le L-glutamate augmentait la pression artérielle de  $143 \pm 7$  à  $152 \pm 6$  mmHg ; après, le L-glutamate augmentait la pression artérielle de  $137 \pm 7$  à  $145 \pm 6$  mmHg ( $n=3$ ). L'injection de solution saline n'a par ailleurs eu aucun impact sur les effets ventilatoire et chronotrope du L-glutamate.

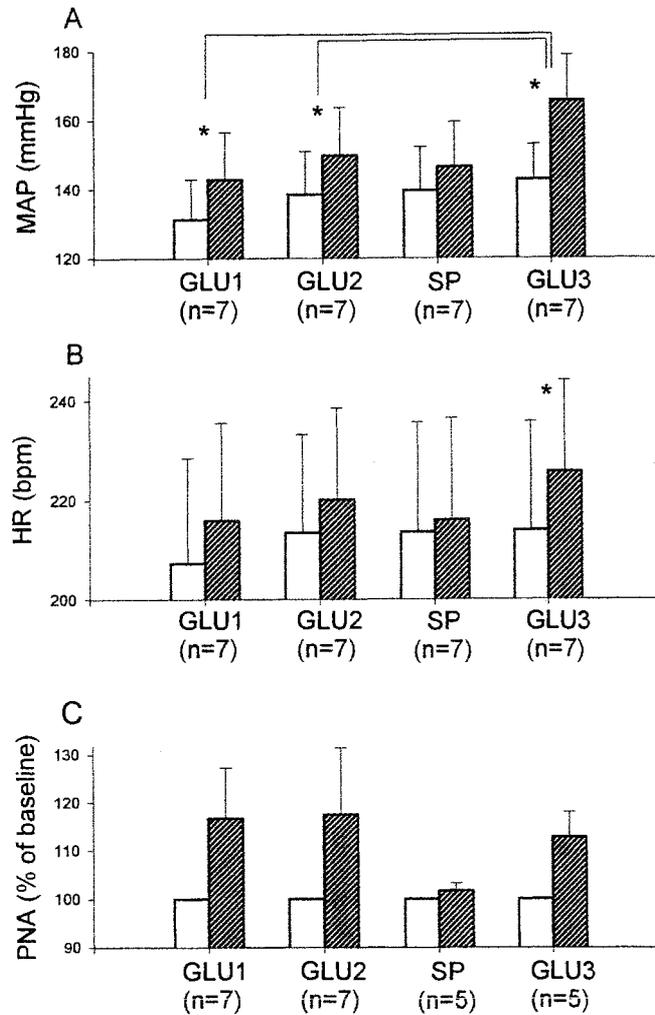


Figure 8. Effet de l'injection d'un analogue de la substance P (7 ou 10 nl ; 1mM) sur les réponses pressive, chronotrope et ventilatoire à l'injection de L-glutamate (7 ou 10 nl ; 109 mM) dans les couches superficielles de la corne dorsale au niveau L7. Les résultats représentent sept sites où l'injection d'un analogue de la substance P potentialisait la réponse pressive à l'injection de L-glutamate. Les barres blanches représentent les valeurs moyennes de base et les barres hachurées représentent les valeurs moyennes des pics de réponse à l'injection de L-glutamate (GLU) ou d'un analogue de la substance P (SP). Les crochets verticaux placés au sommet des barres représentent les erreurs standards. Les astérisques représentent une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre la valeur moyenne de base et la valeur moyenne correspondante du pic de réponse. Les crochets horizontaux représentent une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre la réponse pressive à la troisième injection de L-glutamate (GLU3) et celle à la première (GLU1) ou à la deuxième injection (GLU2) de cet acide aminé exciteur. Noter que pour les 7 sites l'injection d'un analogue de la substance P n'avait pas d'effet significatif sur les réponses chronotrope et ventilatoire à l'injection de L-glutamate.

## V. *Discussion*

Nous avons montré que l'injection d'analogues de la substance P, qui étaient des agonistes sélectifs de récepteurs NK-1, potentialisait la réponse pressive à l'injection de L-glutamate dans les couches superficielles (I et II) de la corne dorsale au niveau segmentaire L7 chez le chat. L'amplitude de cette réponse pressive était faible, un effet probablement attribuable au fait que de faibles quantités de L-glutamate étaient injectées. Nous avons utilisé ces petits volumes afin de minimiser la diffusion de la solution et de limiter l'injection aux couches I et II de la corne dorsale. Ces petites quantités pourraient expliquer que l'injection de L-glutamate n'ait pas provoqué d'augmentation significative de l'activité du nerf phrénique. Dans notre préparation, le seuil provoquant une réponse pressive semblerait donc être inférieur à celui provoquant une réponse ventilatoire, spéculation qui a son parallèle dans la littérature humaine. Ainsi spécifiquement, la composante pressive du chémoréflexe musculaire provenant des jambes a un seuil plus bas que celui de la composante cardio-accélétratrice (Alam and Smirk, 1937; Alam and Smirk, 1938).

L'injection d'un analogue de la substance P dans les couches superficielles de la corne dorsale n'a eu aucun effet sur la pression artérielle, la fréquence cardiaque et l'activité du nerf phrénique. Ces observations sont concordantes avec celles trouvées par Wilson et col. (Wilson et al., 1992) qui rapportaient que des injections intrathécales de la substance P chez des chats anesthésiés par chloralose n'avaient aucun effet sur la pression artérielle, la fréquence cardiaque et l'activité du nerf rénal. Une interprétation de ces résultats est que le premier rôle de la substance P dans les couches superficielles de la corne dorsale est d'amplifier les actions d'acides aminés excitateurs, tel que le L-glutamate. Cette interprétation doit cependant être faite avec précaution car nous n'avons injecté qu'un seul volume et une seule concentration d'un analogue de la substance P dans les couches superficielles de la corne dorsale.

Néanmoins cette interprétation est assez similaire à celle proposée lors d'études neurophysiologiques *in vitro* sur les rôles joués par le L-glutamate et la substance P dans l'excitation de neurones isolés de la corne dorsale provenant des couches I à III (Randic et al., 1990; Rusin et al., 1992). Dans ces études, la substance P potentialisait pour 65 % des cellules testées le courant d'entrée provoqué par le L-glutamate (Randic et al., 1990). L'effet

potentialisateur de la substance P paraissait dû à un effet prédominant sur les récepteurs NMDA, et à un moindre degré sur les récepteurs AMPA (Rusin et al., 1992).

Il a été montré que le L-glutamate et la substance P jouent un rôle important dans la transmission spinale d'un réflexe d'augmentation de la pression artérielle initié par la contraction statique de muscles squelettiques des membres postérieurs (Adreani et al., 1996; Hill et al., 1992; Hill et al., 1994; Wilson et al., 1992). Le bras afférent de cet arc réflexe comporte l'activation de fibres des groupes III (A delta) et IV (C) innervant les muscles du triceps sural (Kaufman et al., 1983; McCloskey and Mitchell, 1972). Il est raisonnable de spéculer qu'au moins certaines de ces fibres afférentes des groupes III et IV libèrent du glutamate et de la substance P à leur extrémité synaptique située dans les couches superficielles de la corne dorsale (Craig and Mense, 1983). Cette étude a permis de montrer l'effet potentialisateur sur la réponse pressive de l'interaction entre le L-glutamate et la substance P dans la corne dorsale. Ces résultats peuvent constituer une base dans l'étude des mécanismes de la réponse pressive tels que l'augmentation du tonus sympathique des artérioles.

## **DEUXIÈME ÉTUDE**

# EFFET DE LA STIMULATION DE L' AIRE LOCOMOTRICE HYPOTHALAMIQUE SUR LE CALIBRE DES VOIES AÉRIENNES

## I. *Résumé*

La dilatation des voies aériennes est une des nombreuses réponses végétatives à l'exercice. On considère que deux mécanismes peuvent provoquer ces réponses : la commande centrale et le réflexe musculaire. Il a été montré que l'activation de la commande centrale, réalisée par stimulation électrique et chimique de l'aire locomotrice mésencéphalique, provoquait une constriction des voies aériennes plutôt qu'une dilatation. Dans l'étude présente nous avons examiné chez des chats décérébrés et paralysés le rôle joué par l'aire locomotrice hypothalamique, dont la stimulation active aussi la commande centrale, sur la dilatation des voies aériennes à l'exercice. Nous avons trouvé que la stimulation électrique et chimique de l'aire locomotrice hypothalamique provoquait la locomotion fictive et pour la plus grande part une constriction des voies aériennes. La locomotion fictive, lorsqu'elle était spontanée, s'accompagnait aussi en général d'une constriction des voies aériennes. La commande centrale paraît donc jouer un rôle mineur dans la dilatation des voies aériennes observée dans des conditions physiologiques à l'exercice.

## **II. Introduction**

L'exercice dynamique provoque un grand nombre de réponses cardiovasculaires et respiratoires (Rowell, 1993), dont la dilatation des voies aériennes (Kagawa and Kerr, 1970; McIlroy et al., 1954; Warren et al., 1984). Le mécanisme neurologique responsable de cette bronchodilatation n'est pas connu mais la commande centrale est un candidat important et est défini comme l'activation parallèle de circuits locomoteur, ventilatoire et végétatifs lors de l'initiation de l'exercice (Krogh and Lindhard, 1913). La commande centrale n'est pas dépendante du rétrocontrôle provenant d'afférences périphériques (Eldridge et al., 1985).

Chez l'animal, la commande centrale peut être stimulée par l'activation de 2 sites : le noyau cunéiforme du mésencéphale (Eldridge et al., 1985; Garcia-Rill et al., 1985; Shik and Orlovsky, 1976) et une aire située dans ou proche de l'aire de Forel H<sub>2</sub> de l'hypothalamus postérieur (Eldridge et al., 1985; Smith et al., 1960). Le premier site a été appelé aire locomotrice mésencéphalique et le deuxième l'aire locomotrice hypothalamique (Waldrop et al., 1988). Dans une étude récente il a été montré que la stimulation électrique et chimique de l'aire locomotrice mésencéphalique augmentait la résistance pulmonaire totale. Cet effet était causé par l'activation des récepteurs cholinergiques sur la musculature lisse des voies aériennes (Motekaitis and Kaufman, 1996).

Cette découverte était surprenante car elle ne confortait pas l'hypothèse que la commande centrale contribuait à la dilatation des voies aériennes normalement observée à l'exercice. Dans cette étude nous avons cherché à conforter cette hypothèse en stimulant l'autre aire centrale, l'aire locomotrice hypothalamique (ALH). De plus, nous avons examiné l'effet de la locomotion fictive spontanée sur le calibre des voies aériennes.

## **III. Matériel et Méthodes**

### **A. Préparation générale.**

Pour l'anesthésie, les chats étaient placés dans une boîte en plexiglas dans laquelle passait un flux contenant un mélange d'halothane à 5% , d'oxyde nitrique et d'oxygène.

Lorsque les chats étaient anesthésiés, ils étaient retirés de la boîte et inhalaient le mélange gazeux à travers un masque nasal. Une sonde trachéale était mise en place après trachéotomie et l'animal était ventilé mécaniquement en utilisant un mélange gazeux avec 3% d'halothane. Un cathéter était mis en place dans une artère carotide commune ainsi que dans une veine jugulaire externe. Le thorax était ouvert par une incision intercostale bilatérale. Une pression expiratoire positive de 1 à 2 cm d'eau était maintenue afin de prévenir le collapsus des poumons. Les chats étaient placés dans un cadre stéréotaxique et étaient ensuite décérébrés à l'aide d'une spatule mousse passée à un angle antérieur de 70° à travers le tronc cérébral. L'incision commençait à 7 mm en avant de la scissure intercolliculaire. Tout le tissu nerveux antérieur à la section était enlevé, l'hémorragie contrôlée et l'espace intracrânien rempli de gel Agar. Après la décérébration le mélange halothane -oxyde nitrique était arrêté et la ventilation mécanique poursuivie sous air enrichi en oxygène.

Le nerf du muscle biceps fémoral était exposé et sectionné. L'extrémité proximale de ce nerf qui innerve le muscle ischio-jambier était couverte de vaseline et d'huile minérale et était placée sur une électrode d'enregistrement bipolaire. De même, la racine C5 du nerf phrénique était exposée et coupée et son extrémité centrale posée sur une électrode similaire. Les deux électrodes étaient connectées à des boîtiers de haute impédance (modèle HIP511, Grass) eux-mêmes connectés à des préamplificateurs (modèle P511, Grass). Les signaux des deux nerfs étaient visualisés sur un oscilloscope et intégrés (voir ci-dessous).

Le débit ventilatoire était mesuré par un pneumotachographe chauffé (n° OO, Fleisch) placé entre le ventilateur et la sonde trachéale. Le pneumotachographe était connecté à un transducteur de pression différentielle (modèle DP45-24, Valydine). La pression transpulmonaire était mesurée avec un transducteur de pression différentielle (modèle DP 45-14, Valydine), dont une extrémité était connectée à la sonde trachéale par une ouverture latérale hermétique ; l'autre extrémité était laissée ouverte à l'air ambiante. La résistance pulmonaire totale et la compliance dynamique étaient calculées cycle à cycle à l'aide d'un système de numérisation, d'analyse et d'archive (Po-ne-mah version 1.0). La méthode d'Amdur et Mead formait la base de ces calculs (Amdur and Mead, 1958). La pression artérielle était mesurée en connectant le cathéter carotidien à un transducteur (modèle P23XL, Statham). La fréquence cardiaque était calculée pulsation par pulsation à partir du signal de la pression artérielle (Po-ne-mah system).

## B. Protocoles

Avant de recueillir toute donnée, les chats étaient paralysés avec du bromure de pipecuronium (0.2 mg/kg iv). L'ALH était ensuite stimulée (10 – 20 Hz, 0.75 ms, 50 – 150 microA) avec l'intensité minimale du courant produisant une locomotion fictive. L'ALH était stimulée à l'aide d'une électrode monopolaire en acier inoxydable (modèle SNE-100, Rhodes) ; l'électrode indifférente était une pince crocodile attachée au scalp. Un stimulateur Grass S88 attachée à une unité isolée de courant constant PSIU-6 était utilisée pour passer du courant à travers l'électrode de stimulation. A la fin de l'étude, un courant anodal (4 mA, 10 s) était passé à travers la pointe de l'électrode pour marquer les sites de stimulation. La réaction du bleu de Prusse était utilisée pour visualiser les sites. L'index de calibre des voies aériennes choisi était la résistance pulmonaire totale.

Chez trois chats l'ALH était stimulée aussi bien électriquement que chimiquement. La picrotoxine (8mM) était injectée à travers un des deux capillaires en verre d'une pipette connectée à un générateur de pression Picospritzer (General valve). Le volume injecté dans l'ALH était de 200 nl chez 2 chats et de 100 nl chez un chat. L'intervalle entre les injections de picrotoxine ou entre les stimulations électriques était d'environ 20 minutes. Le deuxième capillaire de la pipette contenait du colorant bleu ciel de Chicago (2%) qui était injecté (100 nl) à la fin de l'étude pour marquer le site. L'ALH était identifiée en utilisant des critères fonctionnels : c'est à dire l'induction de décharges rythmiques du nerf du biceps fémoral (correspondant à la locomotion fictive) et l'augmentation de la pression artérielle, de la fréquence cardiaque et de l'activité du nerf phrénique lorsque l'ALH était stimulée électriquement ou chimiquement. Chez certains chats la résistance pulmonaire totale était enregistrée lorsque le nerf tibial était stimulé électriquement (10-20 Hz, 0.75 ms, 8 mA).

*Analyse des données.* Les valeurs de base pour la résistance pulmonaire totale et pour la compliance dynamique étaient déterminées en moyennant les valeurs cycle à cycle pour les 20 cycles respiratoires précédant le début de la stimulation. Le pic de réponse lors de la stimulation était déterminée en moyennant 5 cycles consécutifs qui présentaient le plus grand changement par rapport au contrôle pendant la locomotion fictive (LF). Les valeurs de base de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque étaient prises lorsqu'elles étaient stables et comparées au pics de réponse sélectionnés pendant la LF. La décharge du nerf phrénique était intégrée et quantifiée selon la méthode décrite par Eldridge (Eldridge, 1971). L'activité était

intégrée avec un intégrateur Gould utilisant une remise à zéro toutes les 0.1 secondes. L'activité du nerf du biceps fémoral était intégrée de la même façon que le nerf phrénique mais était sommée sur 5 secondes.

Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  erreur standard. Une analyse de variance à une entrée était utilisée avec pour seuil significatif un  $p < 0.05$ .

## **IV. Résultats**

### **A. Stimulation électrique de l'ALH**

La stimulation électrique de l'hypothalamus postérieur provoquait une LF chez 23 chats paralysés et décérébrés. En moyenne, la résistance pulmonaire totale augmentait pendant la LF depuis une valeur de base de  $29.0 \pm 1.4$  à un pic de  $31.6 \pm 1.8$   $\text{cmH}_2\text{O} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}$  ( $p < 0.01$ ,  $n=23$ ). La compliance dynamique a diminué pendant la LF chez ces 23 chats d'une valeur basale de  $4.08 \pm 0.18$  à une valeur minimale de  $3.87 \pm 0.19$   $\text{ml} / \text{cmH}_2\text{O}$  ( $p < 0.01$ ). Comme attendu, la pression artérielle moyenne a augmenté (de  $143 \pm 5$  à  $194 \pm 5$   $\text{mmHg}$ ,  $p < 0.01$ ) ainsi que la fréquence cardiaque (de  $210 \pm 9$  à  $244 \pm 8$  battements /min,  $p < 0.01$ ) et la décharge du nerf phrénique ( $187 \pm 15\%$  de la valeur de base,  $p < 0.01$ ).

Chez 16 des 23 chats étudiés, la résistance pulmonaire totale augmentait alors qu'elle diminuait chez les 7 chats restants (Fig. 9, 10 A et B, 11 A et B). Le délai entre le début de la LF et le début de l'augmentation de la résistance pulmonaire totale ( $n=16$ ) était de  $2.1 \pm 0.9$  s. Le délai entre le début de la LF et le début de la réponse pressive chez les chats présentant une augmentation de la résistance pulmonaire totale était seulement de  $0.1 \pm 0.3$  s.

Le délai entre le début de la LF et le début de la diminution de la résistance pulmonaire totale ( $n=7$ ) était de  $-1.9 \pm 1.1$ s. En d'autre terme, la réduction de la résistance pulmonaire totale commençait  $1.9 \pm 1.1$  s avant le début de la locomotion chez les chats présentant une réduction de la résistance pulmonaire totale. De plus, l'augmentation de la pression artérielle commençait  $3.3 \pm 1.7$  s avant le début de la LF.

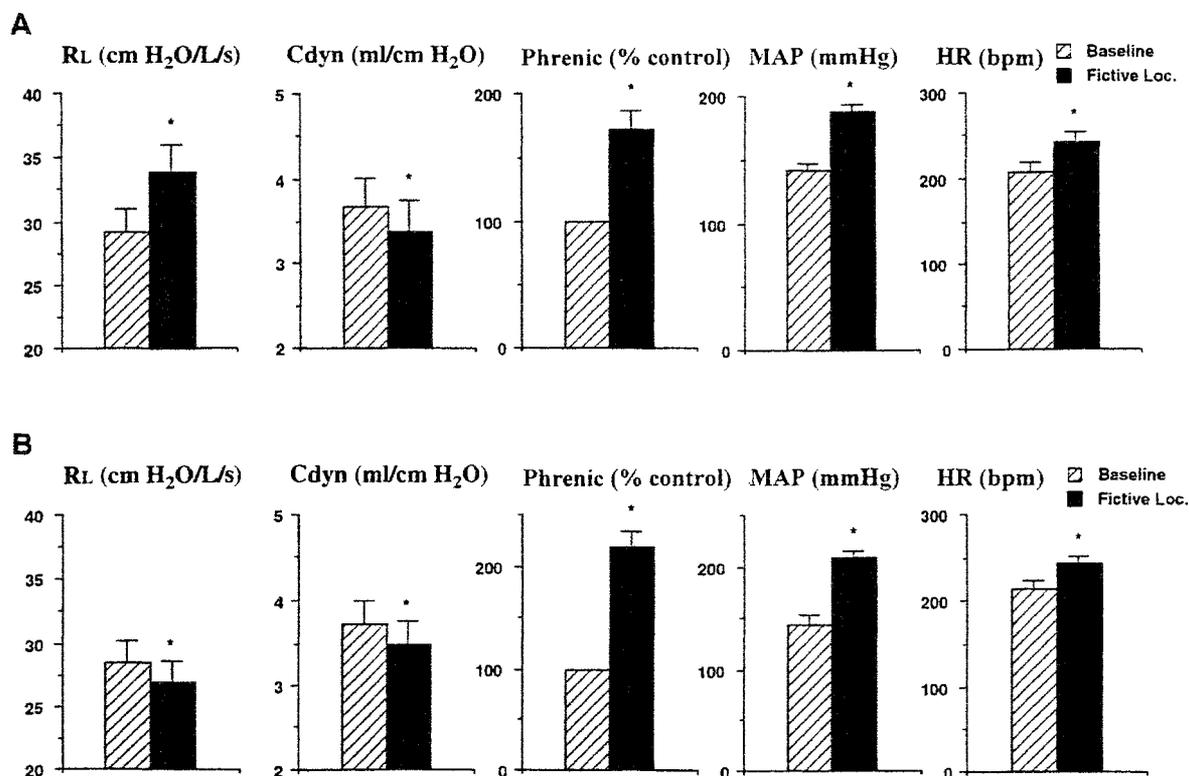


Fig. 9. Réponses cardiovasculaires, des voies aériennes et du nerf phrénique à la stimulation électrique de l'aire locomotrice hypothalamique (ALH). A : résultats de 16 chats chez qui la stimulation de l'ALH provoquait une constriction des voies aériennes. B : résultats de 7 chats chez qui la stimulation de l'ALH provoquait une dilatation des voies aériennes. R<sub>L</sub>, résistance pulmonaire totale ; Cdyn, compliance dynamique ; MAP, pression artérielle moyenne ; HR, fréquence cardiaque ; Loc, locomotion ; bpm, battements / min. \* significativement différent (p<0.05) de la valeur de base.

Nous avons examiné les effets du nadolol (1 mg /kg iv), un antagoniste bêta-adrénergique, puis du methyl nitrate d'atropine (1 mg /kg iv), un antagoniste muscarinique, sur les réponses des voies aériennes, du phrénique et cardiovasculaires à la LF. Ces antagonistes étaient administrés séquentiellement chez 8 des 16 chats présentant une augmentation de la résistance pulmonaire totale lors de la LF (Fig. 12) et chez 5 des 7 chats présentant une réduction de la résistance pulmonaire totale (Fig. 13). Nous avons trouvé que le nadolol augmentait la constriction des voies aériennes lors de la LF chez le premier groupe de chats tandis qu'il remplaçait la dilatation des vois aériennes par une constriction des voies aériennes dans le deuxième groupe de chats. L'atropine abolissait tout effet sur les voies aériennes lors de la LF.

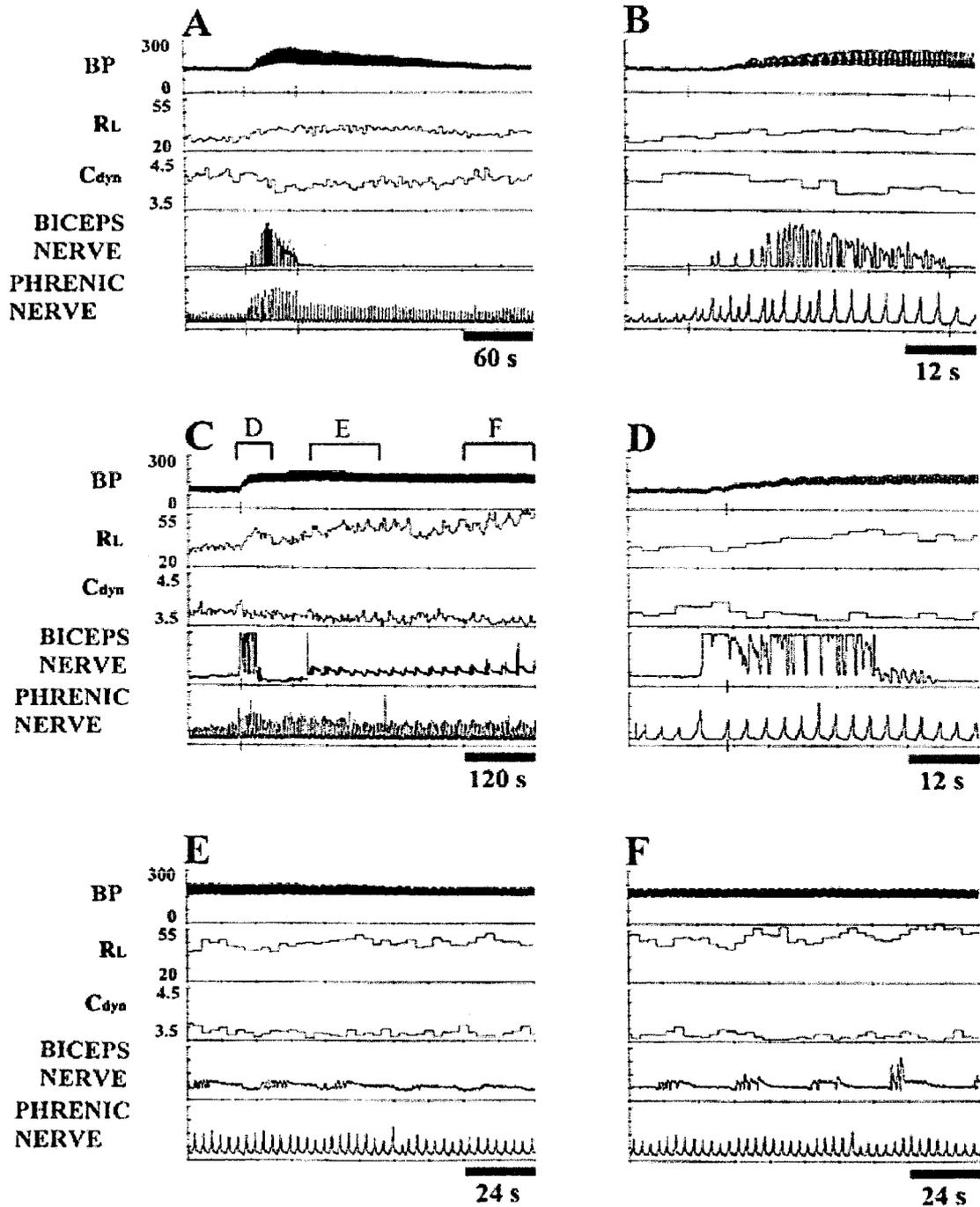


Fig. 10. Réponse des voies aériennes à la stimulation électrique et chimique de l'ALH. A et B : réponses à la stimulation électrique de l'ALH sur 2 échelles de temps différentes. La stimulation électrique était réalisée entre les 2 marques verticales situées sur l'axe du temps. C-F : réponses à la stimulation chimique de l'ALH (injection de 200 nl de microtoxine 8 mM). C : base de temps contractée ; D : période de temps marquée D dans C. En C, la sensibilité de l'amplificateur recevant le signal du nerf du biceps fémoral était ajusté premièrement par réduction puis par augmentation. La réduction de la sensibilité peut être aussi vu en D. E et F : réponses à l'injection de microtoxine dans l'ALH pendant les périodes marquées E et F dans C. En E et F, chaque décharge de l'activité « locomotrice » du nerf du biceps fémoral était associée à une augmentation de la résistance pulmonaire totale. BP, pression artérielle en mmHg. RL est exprimé en cmH<sub>2</sub>O.l<sup>-1</sup>.s et Cdyn en ml/cmH<sub>2</sub>O. Tous les tracés proviennent du même chat.

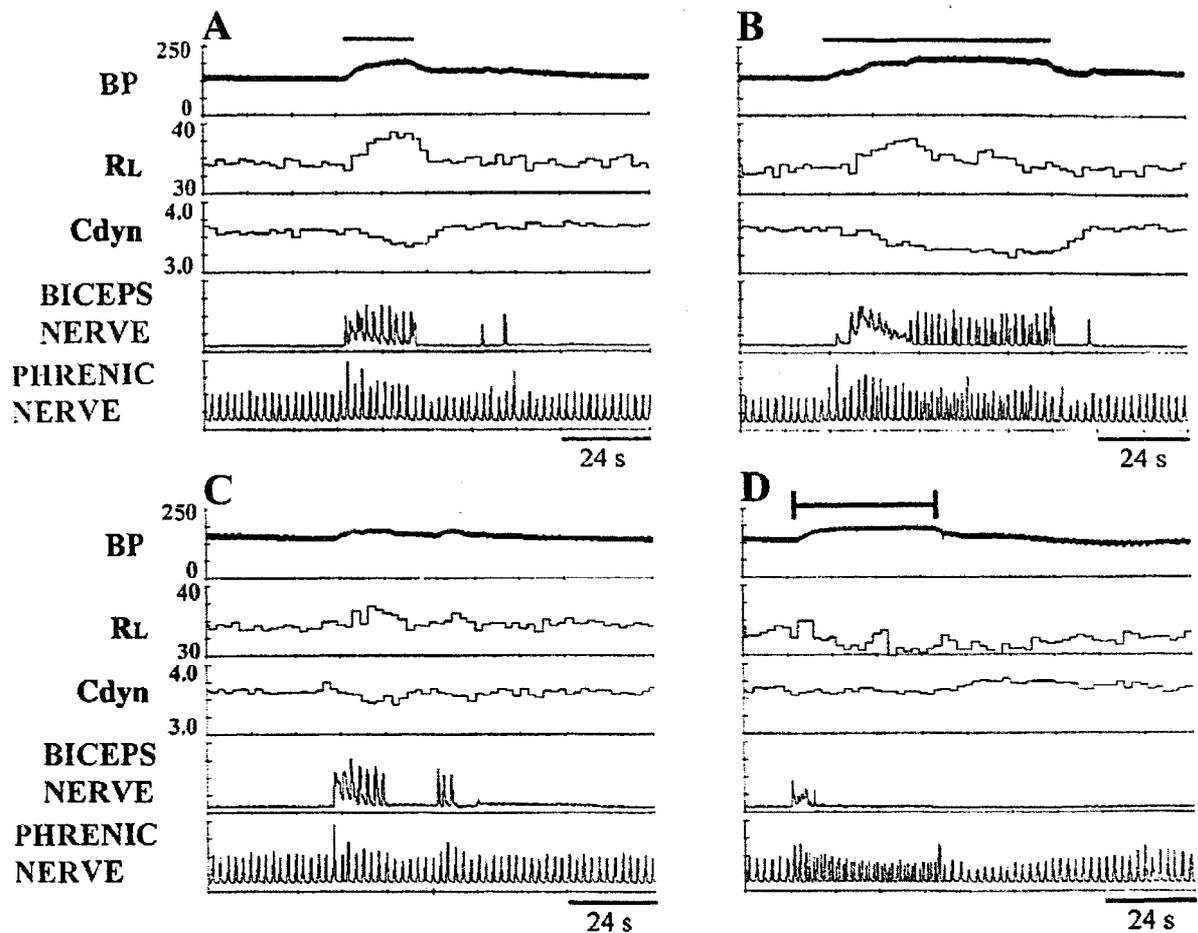


Fig. 11. Réponse des voies aériennes à la locomotion fictive spontanée ou induite par stimulation électrique de l'ALH. A et B : réponses à la stimulation électrique de l'ALH qui provoquait une locomotion fictive. Une constriction des voies aériennes apparaissait lors des deux essais reportés, l'une étant plus longue que l'autre. Les barres horizontales au dessus des tracés représentent les périodes de stimulation. C : réponse des voies aériennes lors d'une locomotion fictive spontanée. Une constriction des voies aériennes ainsi que l'augmentation de la pression artérielle et de l'activité du nerf phrénique apparaissaient lors de la locomotion fictive manifestée par l'activité rythmique du nerf du biceps fémoral. D : la stimulation électrique du nerf tibial provoquait une dilatation des voies aériennes (c'est à dire une réduction de la résistance pulmonaire totale). Les crochets au dessus du tracé représentent la période de stimulation. BP est exprimé en mmHg,  $R_L$  en  $\text{cmH}_2\text{O} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{s}$  et Cdyn en  $\text{ml} / \text{cmH}_2\text{O}$ . Tous les tracés proviennent du même chat.

## B. Stimulation chimique de l'ALH

Chez trois chats, nous avons comparé les réponses des voies aériennes, ventilatoire et cardiovasculaire, lors d'injection de picrotoxine (8mM) dans l'ALH aux réponses lors de la stimulation électrique de l'ALH. Chez chacun des trois chats testés, l'injection de picrotoxine et la stimulation électrique augmentaient la résistance pulmonaire totale, la pression artérielle, la fréquence cardiaque et la décharge du nerf phrénique et diminuaient la compliance dynamique (Fig. 13, C-F). La LF induite par la picrotoxine était longue en moyenne de  $23.7 \pm 3.7$  min. La LF commençait  $7 \pm 1.7$  min après l'injection de picrotoxine.

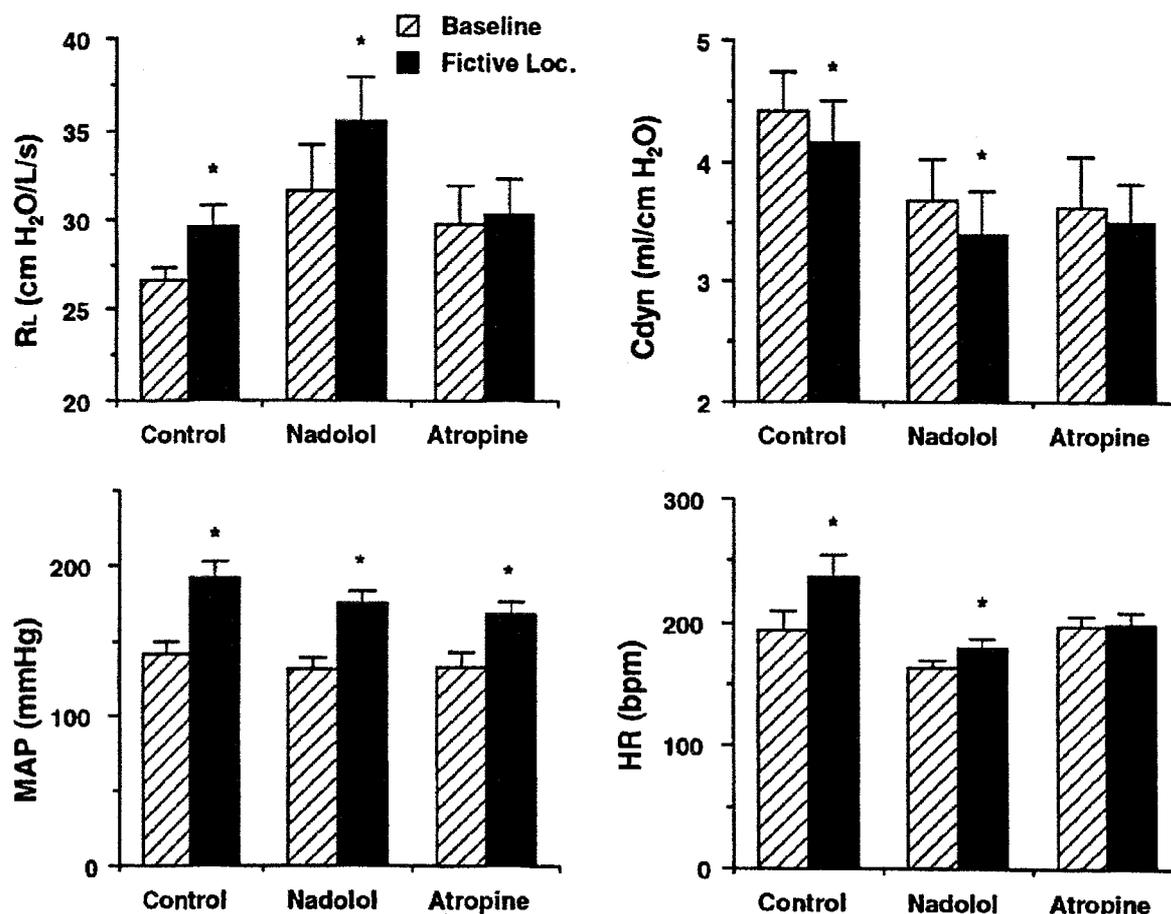


Fig. 12. Réponses des voies aériennes et cardiovasculaires à la stimulation électrique de l'ALH avant et après blocage végétatif chez 8 chats présentant une constriction des voies aériennes lors de la stimulation centrale.

\* Significativement différent ( $p < 0.05$ ) de la valeur de base.

### C. LF spontanée

Chez sept chats paralysés, la LF apparaissait spontanément, c'est à dire, sans stimulation chimique ou électrique de l'ALH. Chez cinq de ces chats, la résistance pulmonaire totale augmentait significativement ( $p < 0.05$  ; tableau 2, Fig. 11C), alors que chez deux chats elle diminuait légèrement (valeurs non montrées). La LF induite par stimulation électrique de l'ALH, changeait la résistance pulmonaire totale dans la même direction que celle apparaissant spontanément chez 6 des chats (Fig. 11B). Chez le chat restant, nous n'avons pas pu induire de LF par la stimulation électrique de l'ALH, même si elle apparaissait spontanément. Chez chacun des 7 chats, la LF spontanée ou induite par stimulation électrique augmentait la pression artérielle, la fréquence cardiaque et la décharge du phrénique. L'amplitude de ces augmentations était comparable chez les chats présentant une augmentation ou une diminution de la résistance pulmonaire totale.

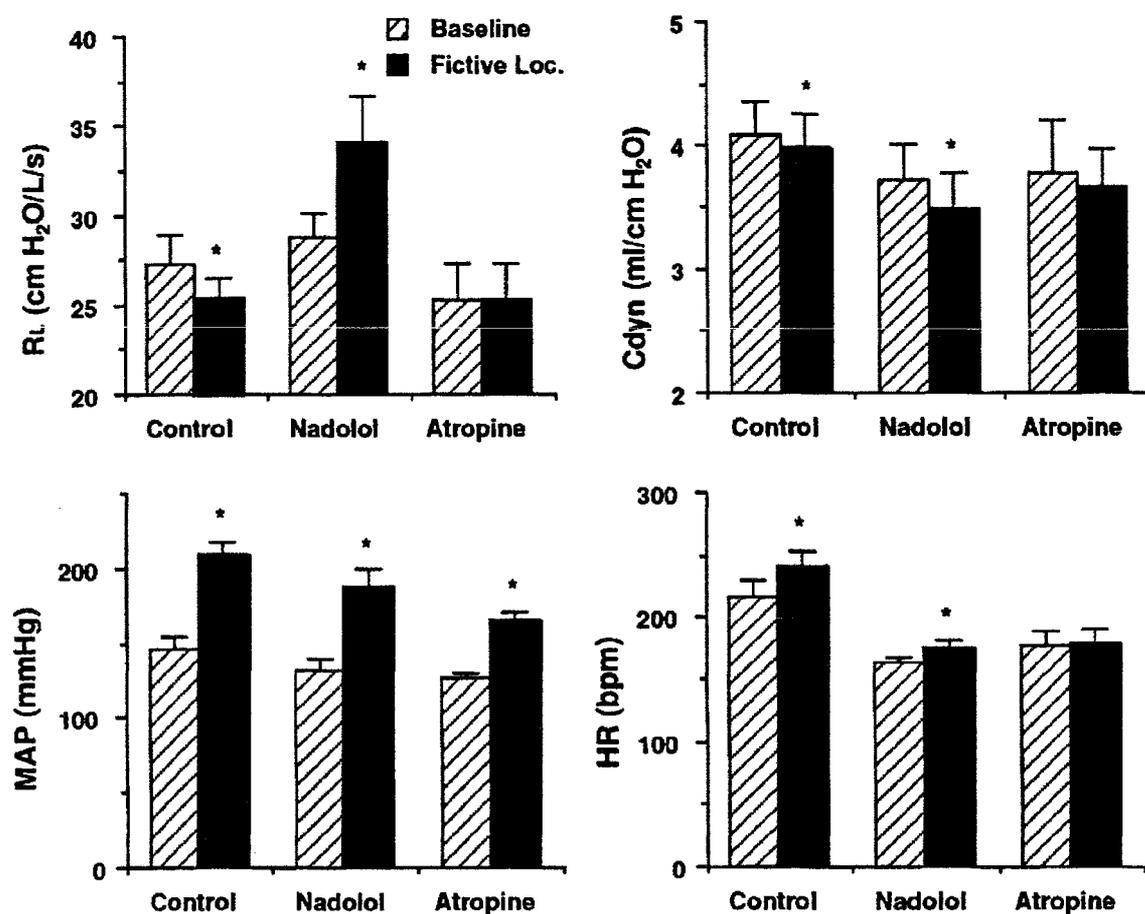


Fig. 13. Réponses des voies aériennes et cardiovasculaires à la stimulation électrique de l'ALH avant et après blocage végétatif chez 5 chats présentant une dilatation des voies aériennes lors de la stimulation centrale. \* Significativement différent ( $p < 0.05$ ) de la valeur de base.

## D. Histologie

Les analyses histologiques révélèrent que tous les sites, stimulés électriquement ou chimiquement étaient dans l'ALH comme définie dans la littérature (Eldridge et al., 1985; Waldrop et al., 1988) (Fig. 14).

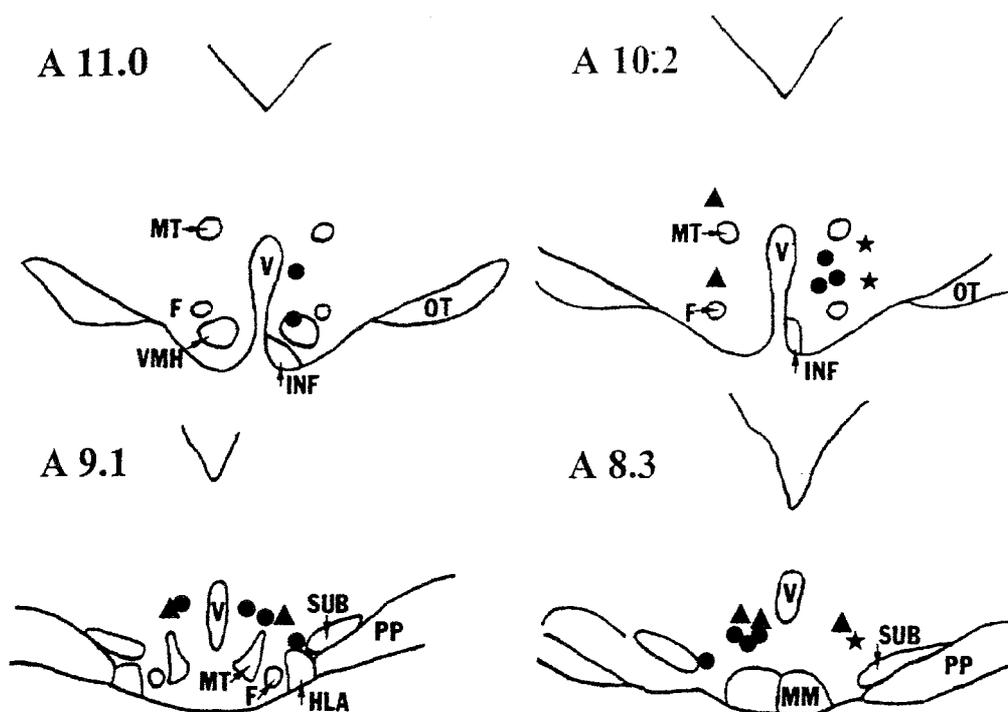


Fig. 14. Analyse histologique des sites de stimulation ayant provoqué une locomotion fictive. ●, Sites dans l'hypothalamus postérieur dont la stimulation électrique provoquait une constriction des voies aériennes; ◐, sites dans l'hypothalamus postérieur dont la stimulation provoquait une dilatation des voies aériennes; \*, 3 sites stimulés chimiquement par l'injection de picrotoxine. Ces sites ont aussi provoqué une constriction des voies aériennes. MT, tractus mamillaire; F, fornix; VMH, hypothalamus ventromédian; INF, noyau infundibulaire; OT, tractus optique; V, ventricule; SUB, noyau subthalamique; HLA, aire hypothalamique latérale; MM, noyau mamillaire médian; PP, pédoncules. (Diagramme tiré (Waldrop et al., 1988))

## E. Stimulation du nerf tibial

Chez 16 chats paralysés, le nerf tibial était stimulé électriquement avec une intensité du courant qui recrute les fibres C. Chez 12 des 16 chats, la résistance pulmonaire totale diminuait (de  $29.4 \pm 2.9$  à  $25.3 \pm 1.9$   $\text{cmH}_2\text{O.l}^{-1}.\text{s}$ ,  $p < 0.05$ ) et chez les 4 chats restants elle augmentait (de  $29.9 \pm 2.8$  à  $32.5 \pm 3.0$   $\text{cmH}_2\text{O.l}^{-1}.\text{s}$ ,  $p < 0.05$ ). Sur l'ensemble des 16 chats, la stimulation du nerf tibial diminuait significativement la résistance pulmonaire totale (de  $29.6 \pm 2.2$  à  $27.1 \pm 1.7$   $\text{cmH}_2\text{O.l}^{-1}.\text{s}$ ,  $p < 0.05$ ). Dans chaque cas, la stimulation du nerf tibial augmentait la pression artérielle et la décharge du nerf phrénique.

Tableau 2. Effets de la locomotion fictive spontanée ou induite par stimulation électrique de l'ALH sur les voies aériennes et les fonctions ventilatoire et cardiovasculaire.

	SF (n = 5)		HLR (n = 4)	
	Baseline	Peak response	Baseline	Peak response
<b>R<sub>L</sub>, cmH<sub>2</sub>O·l<sup>-1</sup>·s</b>	<b>30.9 ± 4.5*</b>	<b>35.1 ± 5.8</b>	<b>30.7 ± 5.0*</b>	<b>35.0 ± 6.2</b>
<b>C<sub>dyn</sub>, ml/cmH<sub>2</sub>O</b>	<b>4.17 ± 0.65*</b>	<b>3.97 ± 0.60</b>	<b>3.52 ± 0.19</b>	<b>3.39 ± 0.14</b>
<b>MAP, mmHg</b>	<b>147 ± 12.4*</b>	<b>173 ± 9.4</b>	<b>142 ± 15.4</b>	<b>173 ± 6.1</b>
<b>HR, beats/min</b>	<b>227 ± 7.6*</b>	<b>246 ± 18.6</b>	<b>234 ± 19.7</b>	<b>257 ± 20.4</b>
<b>PNA, %baseline</b>	<b>100</b>	<b>134 ± 12</b>	<b>100</b>	<b>148 ± 10</b>

Les valeurs, exprimées en moyenne ± erreur standard, sont issues de 5 chats présentant une augmentation de la résistance pulmonaire totale (R<sub>L</sub>) lors de la locomotion fictive spontanée (SP) ; chez un chat, la stimulation électrique n'a pas provoquée de locomotion fictive ; ainsi les résultats de la stimulation de l'aire locomotrice subthalamique (HLR) proviennent de 4 chats. C<sub>dyn</sub>, compliance dynamique ; MAP, pression artérielle moyenne ; HR, fréquence cardiaque ; PNA, activité du nerf phrénique. \* Significativement différent (p<0.05) du pic de réponse.

## V. DISCUSSION

Nous avons examiné le rôle de l'ALH dans le contrôle du calibre des voies aériennes. De façon spécifique nous avons testé l'hypothèse que l'activation de cette région est responsable de la dilatation des voies aériennes survenant lors de l'exercice dynamique (Kagawa and Kerr, 1970; McIlroy et al., 1954; Warren et al., 1984). Nos critères pour une activation réussie de l'ALH et donc de la commande centrale, étaient fonctionnels. Ils incluaient une augmentation de la pression artérielle, de la fréquence cardiaque, de la décharge du phrénique et l'apparition d'une LF, chacun de ces critères devant être présent pour que les résultats soient inclus dans notre analyse.

Dans leur ensemble, nos résultats ne sont pas en faveur du rôle de l'ALH dans la dilatation des voies aériennes lors d'un exercice dynamique. Par exemple, chez environ 70 % des chats testés, la stimulation de l'ALH provoquait une constriction des voies aériennes. Par ailleurs, la dilatation des voies aériennes provoquée chez 30 % des chats était d'amplitude modeste. De plus, la constriction des voies aériennes provoquée par la stimulation électrique n'était pas causée par l'activation de fibre de passage, parce que le même effet était obtenu par l'injection de picrotoxine, un antagoniste du GABA qui bloque les canaux chlore au niveau des corps cellulaires et des dendrites (Simmonds, 1980).

Quand la stimulation de l'ALH provoquait une dilatation des voies aériennes, la réponse était changée par le blocage des récepteurs béta-adrénergiques en une constriction des voies aériennes et était ensuite abolie par l'atropine. Nous pouvons offrir deux explications à la dilatation des voies aériennes provoquée par la stimulation de l'ALH. Premièrement, cette stimulation activait des récepteurs béta-adrénergiques situés sur les muscles lisses des voies aériennes. Cette activation pourrait résulter de la libération de neurotransmetteurs par les nerfs sympathiques post-ganglionnaires ou de la libération d'adrénaline par la glande médullosurrénale (Stoddard et al., 1986). Deuxièmement, la réponse pressive à la stimulation de l'ALH, induit un baroréflexe dont une composante est la dilatation des voies aériennes (Schultz et al., 1987). Nous ne savons pas quelle explication est exacte mais quand la dilatation des voies aériennes était provoquée par la stimulation de l'ALH, la réponse pressive était plus importante, en moyenne de 18 mmHg, que lorsqu'une constriction des voies aériennes était provoquée par la stimulation de l'ALH (Fig. 9). Cette augmentation relative de la pression artérielle peut être la conséquence d'une activation adrénergique importante. Chez les 7 chats présentant une dilatation en réponse à la stimulation de l'ALH, l'effet conjugué de

l'activation adrénérique et du baroréflexe a pu être suffisant pour s'opposer à la constriction des voies aériennes habituellement observée.

La stimulation électrique de l'ALH provoquait le plus souvent une constriction des voies aériennes dont témoigne l'augmentation de la résistance pulmonaire totale. Cette augmentation n'était pas affectée par le blocage des récepteurs beta-adrénériques mais abolie par le blocage des récepteurs muscariniques. Ces résultats sont en accord avec d'autres études qui montrent que l'effet constricteur de la stimulation du tronc cérébral procède d'une activation de fibres cholinergiques innervant les muscles lisses des voies aériennes (Haselton et al., 1992; Motekaitis et al., 1994).

Si la commande centrale n'est pas le mécanisme neurologique majeur provoquant la dilatation des voies aériennes à l'exercice, quels autres mécanismes sont mis en jeu ? Le réflexe d'Hering-Breuer et le réflexe musculaire sont deux hypothèses possibles. Les deux réflexes provoquent une bronchodilatation par la réduction du tonus cholinergique des muscles lisses des voies aériennes (Bowes et al., 1984; Kaufman and Rybicki, 1984; Kaufman et al., 1985; Longhurst, 1984; Widdicombe and Nadel, 1963). Le réflexe d'Hering-Breuer met en jeu des récepteurs d'étirement à adaptation lente. L'activité de ces récepteurs est augmentée par l'augmentation du volume courant et de la fréquence ventilatoire survenant lors de l'exercice. Le réflexe musculaire met en jeu des afférences du groupe III et IV (McCloskey and Mitchell, 1972). L'activité de ces fibres afférentes fines augmente lors de l'exercice dynamique (Adreani et al., 1997; Pickar et al., 1994).

Notre conclusion que l'activation de l'ALH n'est pas le mécanisme majeur de la dilatation des voies aériennes à l'exercice s'applique à l'arbre trachéo-bronchique mais pas aux voies aériennes supérieures. Dans notre étude les chats étaient paralysés ce qui évitait la neurotransmission de l'ALH jusqu'aux muscles squelettiques. De plus, la sonde trachéale était placée sous le larynx, ce qui excluait les voies aériennes supérieures du calcul de la résistance pulmonaire totale et de la compliance dynamique. Par conséquent, le rôle de la commande centrale dans le contrôle des voies aériennes supérieures pendant l'exercice reste à déterminer.

Le fait que les chats de notre étude étaient paralysés et ventilés avait une autre conséquence : le rétrocontrôle anormal exercé par les récepteurs pulmonaires d'étirement sur les neurones du tronc cérébral contrôlant le calibre des voies aériennes et la ventilation. Le

trafic afférent provenant de ces récepteurs atteignait le tronc cérébral avec un déphasage par rapport à la commande respiratoire centrale. C'est pourquoi nous ne pouvons pas exclure que ce facteur ait été responsable de la difficulté de provoquer une dilatation majeure des voies aériennes lors de la stimulation de l'ALH. En utilisant cette préparation une dilatation des voies aériennes pouvait être provoquée soit par la stimulation du nerf tibial (résultats de cette étude) soit par la contraction statique du muscle triceps sural (Motekaitis and Kaufman, 1996).

Il n'y a pas de doute que la commande centrale joue un rôle important dans le contrôle des fonctions cardiovasculaire et respiratoire lors de l'exercice (Kaufman and Forster, 1996; Waldrop et al., 1996). Néanmoins elle semble jouer un rôle mineur dans la dilatation des voies aériennes survenant lors de l'exercice dynamique. Cette conclusion est basée sur l'hypothèse que les aires locomotrices subthalamique et mésencéphalique du chat décérébré non anesthésié constitue le substratum neuro-anatomique de la commande centrale. D'autres régions du tronc cérébral pourraient aussi participer à la commande centrale de l'exercice. Leur effet sur le calibre des voies aériennes mériterait d'être exploré.

## **TROISIÈME ÉTUDE**

# EFFET INHIBITEUR DE L'ACTIVATION D'AFFÉRENCES CUTANÉES CERVICALES SUR LA LOCOMOTION FICTIVE INDUITE PAR STIMULATION CENTRALE CHEZ LE CHAT DÉCÉRÉBRÉ

## I. *Résumé*

Le réflexe d'immobilité, un état d'immobilité qui peut être déclenché par diverses stimulations sensorielles chez beaucoup de vertébrés, est sous le contrôle inhibiteur du néo-cortex ce qui explique la faible susceptibilité à ce réflexe d'animaux au néo-cortex développé tels que le chat. Les buts de l'étude étaient de tester la capacité du chat décérébré et paralysé à développer l'équivalent d'un réflexe d'immobilité en utilisant le modèle de locomotion fictive (LF) et de caractériser les composantes afférentes et efférentes de ce réflexe. La LF, induite par la stimulation de l'aire locomotrice mésencéphalique, était définie par la présence de décharges rythmiques alternées des nerfs des muscles antagonistes tibial antérieur et gastrocnémien médian. L'analyse de ces deux nerfs se portait sur leur décharges tonique et rythmique, cette dernière étant habituellement ajoutée à la décharge tonique.

Nous avons testé l'effet inhibiteur sur la LF de divers stimuli mécaniques appliqués sur la peau du cou et caractérisé davantage les fibres cutanées cervicales impliquées. Nous avons démontré que l'application sur la peau du cou de stimuli mécaniques non douloureux, tels que la traction ou la pression, inhibaient la LF. Ainsi le chat décérébré est plus susceptible de déclencher un réflexe d'immobilité que le chat intact chez qui ce réflexe n'est pas provoqué par une pression sur la peau.

La stimulation électrique d'un ou plusieurs nerfs cutanés cervicaux inhibait la LF chez 7 des 8 chats testés. Les fibres inhibitrices appartiennent probablement au groupe A delta selon les paramètres de stimulation mais non au groupe C puisque la stimulation de ces dernières sélectionnées par refroidissement des nerfs ne modifiait pas ou stimulait la LF. A une faible intensité de stimulation mécanique ou électrique des afférences cervicales, la décharge tonique du nerf du muscle tibial antérieur était partiellement inhibée et associée

parfois à une faible inhibition de la décharge rythmique. A une intensité de stimulation plus élevée induisant l'inhibition maximale de la LF, l'activité tonique et rythmique des deux nerfs des muscles tibial antérieur et gastrocnémien médian étaient habituellement fortement inhibée. L'activation d'afférences cervicales inhibait aussi la contraction tonique fictive induite par la stimulation de l'ALM chez quelques chats. La séquence d'inhibition (réduction de la décharge tonique suivie de l'inhibition de la LF) ainsi que la réduction associée de la pression artérielle suggère fortement l'implication de la FR dans le réflexe d'immobilité. L'existence de ce type de réflexe inhibiteur chez l'homme ayant des lésions au niveau de structures télencéphaliques contrôlant la motricité est discutée.

## II. Introduction

Le réflexe d'immobilité, est un état d'immobilité qui peut être provoqué par différents types de stimulation sensorielle chez beaucoup d'espèces de vertébrés (Hennig et al., 1981; Klemm, 1971b; Reese et al., 1982; Webster et al., 1981). Ce réflexe d'immobilité est provoqué par l'application sur le dos de diverses stimulations mécaniques telles que pression, traction, préhension ou pincement de la peau (De la Cruz and Junquera, 1993; Klemm, 1971b; Klemm, 1976; Korczynski and Korda, 1988). Ce réflexe provoque une inhibition du mouvement et habituellement une hypotonie bien que l'effet sur le tonus musculaire varie selon l'espèce et la méthode d'induction (Carli, 1969; Klemm, 1971b; Volgyesi, 1966). Le réflexe d'immobilité est sous le contrôle de la FR pontobulbaire (Braun and Pivik, 1983; Klemm, 1971a; Mileikovsky and Nozdrachev, 1997) et sous l'influence inhibitrice du néocortex (Klemm, 1976). Les études montrant l'influence inhibitrice du néocortex ont été réalisées principalement chez des lapins et rats (Klemm, 1976). Le réflexe d'immobilité n'a pas été étudié chez un animal peu susceptible ayant un néo-cortex plus développé dans des conditions où le contrôle cortical est supprimé.

Le but de notre étude était d'examiner le degré de susceptibilité du chat adulte décérébré au réflexe d'immobilité, en testant l'effet inhibiteur sur la LF de stimuli mécaniques appliqués sur le tronc. La LF réalisée chez l'animal paralysé est définie par des décharges rythmiques et alternées de nerfs de muscles antagonistes de membres. Ce modèle de LF est intéressant car il permet de préciser certaines caractéristiques des composantes afférentes et efférentes du réflexe d'immobilité. Ainsi Viala et col. ont montré que l'exercice d'une pression sur la peau de la région dorsolombaire, qui par ailleurs provoque un réflexe d'immobilité chez le lapin intact (Klemm, 1976), inhibe la LF chez le lapin paralysé et décortiqué (Viala and Buser, 1974). Viala et col. ont montré que la LF chez le lapin était inhibée par l'activation de fibres cutanées lombaires appartenant au groupe A delta mais était excitée par les fibres C de ces nerfs (Viala et al., 1978).

Utilisant le modèle de la LF induite par stimulation centrale chez le chat nous avons étudié les composantes afférentes et efférentes d'un réflexe communément observé, consistant en une immobilité du chat lorsqu'il est saisi et élevé par la peau du cou. Nous avons ainsi étudié l'effet de la stimulation d'afférences cutanées cervicales sur la LF induite par stimulation de l'aire locomotrice mésencéphalique (ALM) chez le chat décérébré. Le bras afférent du réflexe était étudié en exerçant différents types de stimuli mécaniques sur la peau

cervicale et en appliquant des stimulations électriques sur des nerfs cutanés cervicaux afin de caractériser en partie les fibres inhibitrices impliquées. Le bras efférent du réflexe était étudié en observant les 2 composantes tonique et rythmique de la décharge des nerfs innervant 2 muscles antagonistes d'un membre postérieur. La décharge tonique est définie comme la décharge quasiment continue du nerf et la décharge rythmique comme la partie discontinue de l'activité nerveuse qui est ajoutée à la part tonique survenant lors de la LF induite par stimulation centrale. Nous avons étudié le lien entre l'inhibition de la décharge tonique et celle de la décharge rythmique cette dernière semblant consécutive à la première. L'effet de la stimulation de nerfs cervicaux était aussi étudiée chez quelques chats présentant une contraction tonique fictive lors de la stimulation de l'ALM. Le site d'action centrale des fibres cutanées inhibitrices est discutée. Ce type de réflexe inhibiteur pourrait exister et avoir une influence significative chez l'homme ayant des lésions au niveau de structures télencéphaliques contrôlant la motricité. Ce mécanisme pourrait expliquer la réduction de la spasticité obtenue par des stimulations électriques d'une région cutanée du dos chez l'hémiplégique.

### **III. *Matériel et Méthodes***

#### **A. Anesthésie et préparation générale**

L'anesthésie était induite par une injection intramusculaire associant de la kétamine (10 à 15 mg/kg) et de la xylazine (3 mg/kg) suivie si nécessaire d'injections intraveineuses discontinues de thiopenthal (10 mg/kg, 1 ou 2 fois) pour maintenir un niveau adéquate d'anesthésie jusqu'à la décérébration. Une sonde trachéale était insérée après trachéotomie pour assurer la ventilation mécanique des poumons. Un cathéter artériel était placé dans l'artère carotide commune droite afin d'assurer la surveillance de la pression artérielle centrale en utilisant un transducteur Grass P122 et afin de vérifier régulièrement les gaz du sang. L'artère carotide commune gauche était ligaturée juste avant la décérébration. Un cathéter était inséré dans une veine jugulaire externe pour l'administration de solutés. La température rectale était maintenue à environ 38°C avec un coussin et une lampe chauffants. La fréquence cardiaque était calculée à partir d'un électrocardiogramme recueilli par des électrodes thoraciques.

La tête du chat était fixée sur un cadre de stéréotaxie (La précision cinématographique, Asnières), le crâne était ouvert afin de réaliser une décérébration par section précolliculo-postmamillaire. Le tissu nerveux situé en avant de la section était ôté, l'hémorragie intracrânienne contrôlée et la cavité crânienne remplie d'un gel d'Agar. Une injection intraveineuse de dexaméthazone (2 à 4 mg) était réalisée afin de réduire l'œdème du tronc cérébral survenant souvent après la décérébration. Une solution de macromolécules était administrée par voie veineuse après la décérébration si besoin pour contrôler la pression artérielle. Les chats étaient paralysés avec du bromure de pancuronium (0.2 mg /kg IV en discontinu). Un délai de 4 à 6 heures suivant l'anesthésie et la décérébration était habituellement nécessaire pour obtenir une LF.

### **B. Stimulation de l'ALM et identification de la LF**

Le nerf innervant le chef médian du muscle gastrocnémien (NGM) et le nerf du muscle tibial antérieur (NTA) étaient délicatement exposés dans un bassin rempli d'huile minérale dont les berges étaient formées par la peau dans la région du creux poplité. Chaque nerf était sectionné et l'extrémité proximale posée sur une électrode bipolaire connectée à un préamplificateur (modèle P511, société Grass). L'activité nerveuse était visualisée sur un oscilloscope, enregistrée sur bande magnétique et numérisée (Chart Mac Lab). Une fenêtre de discrimination (Neurolog system modèle NL 201, Digitimer Ltd) était utilisée pour exclure le bruit de fond de l'activité et sélectionner les potentiels d'action. Le nombre de potentiels d'action était comptabilisé toutes les 0.1 secondes en utilisant un intégrateur (Neurolog modèle NL 601) afin de déterminer la fréquence de décharge (fig. 15). Les fréquences de décharge des NTA et NGM ainsi que la fréquence cardiaque étaient échantillonnées à 40 Hz et la pression artérielle à 100 Hz et les courbes correspondantes visualisées sur ordinateur en utilisant le logiciel Chart Mac Lab. Une décharge tonique du nerf était définie comme l'augmentation continue de son activité au dessus de l'activité basale survenant lors de la stimulation de l'ALM et une décharge rythmique comme une fluctuation régulière de l'amplitude de l'activité détectée par l'analyse visuelle. L'ALM, était stimulée par une électrode de stimulation unipolaire en acier inoxydable placée aux coordonnées stéréotaxiques définies dans la littérature (Eldridge et al., 1985; Shik and Orlovsky, 1976). Un stimulateur Grass S88 était connecté à une unité de courant constant isolé (PSIU-6) afin de passer du courant à travers l'électrode de stimulation qui était enfoncée par incréments pour trouver le site de l'ALM. La stimulation était réalisée avec des impulsions rectangulaires de 1 ms

répétées à 30-40 Hz en utilisant l'intensité minimale efficace. L'ALM était identifiée sur les critères fonctionnels suivants associés dans la LF : production de décharges rythmées et alternées des NTA et NGM, augmentation de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque.

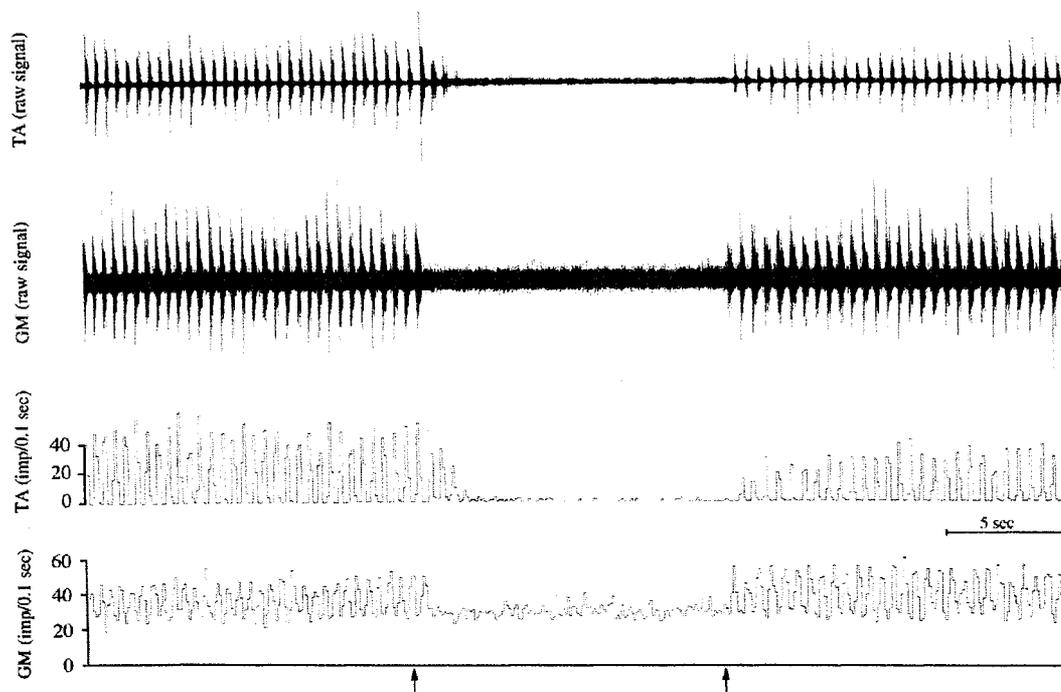


Fig. 15 : Décharges rythmiques alternées des nerfs des muscles tibial antérieur et gastrocnémien médian provoquées par la stimulation de l'aire locomotrice mésencéphalique chez le chat décérébré et paralysé. L'activité brute des nerfs est représentée sur les deux premiers tracés et la fréquence correspondante des potentiels d'action est représentée sur les deux tracés suivants. L'activité du nerf du tibial antérieur n'a qu'une composante rythmique alors que celle du nerf du gastrocnémien médian à une composante tonique et rythmique. La stimulation électrique de deux nerfs cutanés cervicaux, délimitée par deux flèches, provoque une inhibition totale maintenue de la décharge rythmique des deux nerfs.

Comme la LF induite par la stimulation de l'ALM avait une durée limitée (1 à 10 min), plusieurs stimulations de l'ALM séparées par un temps de repos étaient nécessaires pour réaliser le protocole. Chez quelques chats la stimulation de l'ALM qui provoquait initialement une LF provoquait aussi une contraction tonique fictive, c'est à dire la décharge tonique isolée des nerfs moteurs enregistrés. L'effet de l'activation des afférences cervicales étaient aussi testée sur la seule décharge tonique de ces nerfs.

## C. Activation des afférences cutanées cervicales

L'effet de l'activation des afférences cutanées cervicales sur la LF était testée soit en appliquant des stimuli physiologiques sur la peau du cou soit en stimulant électriquement les nerfs cutanés cervicaux.

### 1. Stimulation physiologique

Plusieurs stimulations mécaniques non douloureuses ont été testées. La première réalisée chez 6 chats consistait à saisir à la main délicatement la peau du cou puis à l'élever progressivement. Pour étudier l'effet de la seule traction de la peau un système simple était testé chez deux chats. La peau du cou était rasée, séchée et collée sur une bande adhésive qui était tractée verticalement par des poids par l'intermédiaire d'une ficelle et de deux poulies. La bande adhésive recouvrait environ la moitié du cou (4 cm sur l'axe longitudinal et 8 cm sur l'axe transversal de l'animal) mais la traction s'exerçait sur une plus grande surface. Différents poids de traction étaient testés (200 à 1000g). Une pression exercée sur la peau était aussi testée chez un chat en déposant des « selles » (4 sur 8cm) de différents poids reposant de part et d'autre de l'axe sagittal de la colonne vertébrale cervicale, thoracique ou lombaire. Une caresse bougeant les poils du cou était testée chez un chat.

Des stimuli mécaniques douloureux étaient aussi testés soit en pinçant fortement la peau du cou à l'aide de pinces chez 3 chats, soit en saisissant et en tirant fortement la peau du cou chez 1 chat.

### 2. Stimulation électrique

Le cou était placé presque à l'horizontale en surélevant l'épine dorsale au niveau de la troisième vertèbre thoracique à l'aide d'une pince. La peau du cou était incisée le long de la ligne médiane et attachée de façon lâche à un cadre pour former un petit bassin dans lequel de l'huile minérale chaude était versé. Les nerfs appartenant aux dermatomes C5 et C6 étaient soigneusement disséqués et coupés. L'extrémité distale du bout proximal des nerfs étaient placée sur une électrode de stimulation bipolaire.

Afin de déterminer le seuil T d'apparition de l'onde électrique des fibres les plus excitables des nerfs cervicaux, une électrode unipolaire était placée du côté proximal afin d'enregistrer l'électroneurogramme. Le choc de stimulation déclenchait l'enregistrement

numérisé à une haute fréquence d'échantillonnage (Scope Mac Lab). Des chocs de 0.1 ou 0.5 ms étaient utilisés à différentes intensités pour déterminer le seuil T et le seuil d'apparition de l'onde C. L'onde A delta ne pouvait pas être distinguée de l'onde des fibres du groupe A à cause de la faible longueur du nerf (2 à 3 cm) entre les électrodes de stimulation et d'enregistrement.

Les nerfs cutanés cervicaux étaient stimulés par des trains d'impulsions rectangulaires de 0.1 ou 0.5 ms à 50 Hz et à différentes intensités, exprimées en multiples du seuil T, pour déterminer l'effet inhibiteur sur les décharges et rythmique. La durée de stimulation des nerfs cervicaux étaient habituellement entre 10 et 25 secondes mais était plus longue chez certains chats afin de tester la persistance de l'inhibition de la locomotion.

L'effet du recrutement de plusieurs nerfs cervicaux était parfois étudiée en stimulant 1, 2 ou 4 nerfs à la fois.

Pour identifier les fibres myélinisées et les fibres C non myélinisées, les nerfs cervicaux étaient refroidis chez quelques chats. En effet, la conduction des potentiels d'action est totalement bloquée pour les fibres myélinisées mais pas pour les fibres C lorsque la température du nerf est entre 6 et 8°C (Franz and Iggo, 1968). Les nerfs cervicaux étaient placés dans le creux d'une thermode située entre les électrodes de stimulation et d'enregistrement. La thermode était perfusée avec une solution alcoolisée réfrigérée pour bloquer la conduction nerveuse qui était restaurée en perfusant une solution chaude. Un petit thermocouple (Physitemp Instruments Inc, modèle BAT-12, Clifton NJ) était soigneusement inséré au contact proche de la surface des nerfs pour mesurer les changements de température lors du refroidissement et du réchauffement. Avec cette installation, la température enregistrée par le thermocouple correspond étroitement à la température du nerf (Franz and Iggo, 1968).

### **3. Analyse des données et statistiques**

La fréquence de décharge des NTA et NGM, la fréquence cardiaque et la pression artérielle pendant les décharges tonique et rythmique de la LF ou pendant la contraction tonique fictive étaient moyennées sur les 10 secondes précédant la stimulation cervicale. La décharge tonique était calculée en moyennant l'activité continue dépassant le niveau d'activité basale du nerf (avant la stimulation de l'ALM). L'activité rythmique nerveuse, qui s'ajoutait habituellement à l'activité tonique pendant la LF, était calculée en moyennant l'amplitude des pics de la décharge discontinue dépassant le niveau de l'activité tonique. Pendant la

stimulation cervicale, des changements de plus de 15 % de l'activité nerveuse basale étaient considérés comme positifs. Quand une dépression de l'activité nerveuse était observée, les variables étaient analysées pendant l'activité minimale des NTA et NGM (moyenne sur 5 secondes). Les données de base et celles obtenues lors de la stimulation cervicale étaient comparées en utilisant un *t*-test apparié de Student. Le critère de significativité était  $p < 0.05$ . Toutes les variables sont rapportées sous forme de moyenne  $\pm$  erreur standard.

#### **IV. Résultats**

Seize chats adultes (2.6 – 3.7 kg) étaient étudiés : 14 chats ont présenté une décharge rythmique soit des deux NTA et NGM ( $n = 10$ ) soit du NTA seul ( $n = 4$ ). Ces décharges rythmiques considérées comme LF (Eldridge et al., 1985) étaient toutes associées à une augmentation de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque. La LF apparaissait soit après stimulation de l'ALM ( $n = 12$ ) soit spontanément ( $n = 2$ ). Typiquement la stimulation de l'ALM provoquait initialement une décharge tonique des nerfs moteurs sur laquelle s'ajoutait une décharge rythmique. Cette décharge de type tonico-rythmique était maintenue pour tous les NGM et pour 10 NTA (fig. 19), alors que pour les 4 NTA restants la décharge devenait seulement rythmique après l'activation initiale (fig. 15). Une contraction statique fictive apparaissait parfois lors de la stimulation de l'ALM chez 2 des 14 chats précédents et chez 2 autres chats.

##### **A. Stimulation physiologique de la peau du cou**

Différentes stimulations mécaniques non douloureuses étaient appliquées sur la peau du cou. La peau était saisie à la main puis tractée verticalement chez 6 chats (voir Tableau 3). Cette manœuvre induisait une réduction de la décharge tonique du NTA ( $-73 \pm 12\%$  de la valeur de base) et de la décharge rythmique du NTA ( $-71 \pm 15\%$ ) (fig 16). Chez les trois chats présentant une décharge du NGM seule la décharge tonique était réduite partiellement ( $-38 \pm 15\%$ ). La pression artérielle augmentait pendant cette manœuvre chez 4 chats (de  $157 \pm 23$  à  $164 \pm 23$  mmHg,  $p=0.07$ ) tandis qu'elle diminuait fortement chez un chat (de 160 à 140 mmHg). La pression artérielle était trop instable chez le dernier chat pour être analysée. La fréquence cardiaque n'était pas modifiée.

Tableau 3 : Effets de la traction manuelle de la peau du cou sur les composantes tonique et rythmique de la locomotion fictive.

	Décharge du NTA (imp. /0.1 sec)			Décharge du NGM (imp. /0.1 sec)		
	n	Base	Traction	n	Base	Traction
Tonique	6	7.9 ± 1.7	1.9 ± 0.9 *	3	8.3 ± 0.7	4.9 ± 0.8
Rythmic	6	9.4 ± 1.6	2.8 ± 1.5 *	3	6.1 ± 1.4	6.1 ± 1.4

n = nombre d'animaux, valeurs = moyennes ± ES, traction versus base : \* p<0.05

La traction isolée de la peau était étudiée chez 2 chats qui présentaient seulement des décharges du NTA pendant la stimulation de l'ALM. Chez 1 chat une traction de 400 g provoquait une légère réduction de la décharge tonique (-35 %) alors que des tractions supérieures (600 et 1000g) réduisaient les décharge tonique et rythmique jusqu'à respectivement -75 % et -60 % de la valeur de base (fig. 17). La réduction de la décharge tonique (-75%) était plus importante (-90%) lorsqu'un léger pincement transversal était ajouté à la traction verticale de la peau (fig. 17). Chez le second chat présentant seulement une décharge rythmique, une traction de 200 g induisait une légère réduction de la décharge rythmique (-15 %) alors qu'une traction de 400 g la stoppait. La pression artérielle n'était pas modifiée lors d'une réduction modérée de la décharge rythmique et était faiblement augmentée ou réduite lors de réductions plus importantes.

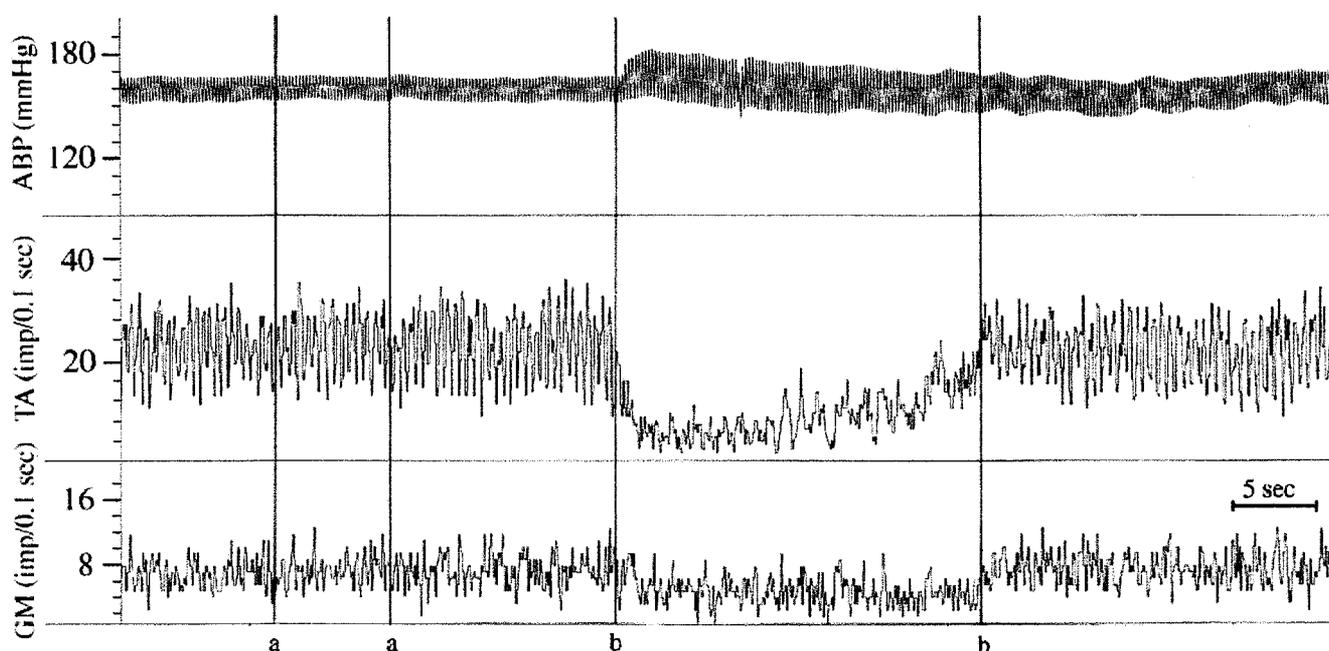


Fig. 16 : Effet de stimulations mécaniques de la peau du cou sur la locomotion fictive induite par stimulation de l'ALM. La traction de la peau saisie à la main (b-b), provoquait une réduction des décharges tonique et rythmique du nerf du tibial antérieur (TA), une réduction de la décharge tonique du nerf du gastrocnémien médian (GM) et une élévation de la pression artérielle (ABP). Le mouvement passif des poils du cou (a-a) ne modifiait aucune de ces variables.

Une “selle” était posée sur le dos d'un chat et son effet sur la LF testé. Une pression de 200 g sur le cou provoquait une inhibition partielle de la décharge rythmique du NTA (-25 %) alors qu'une pression de 400g stoppait la décharge rythmique (fig. 18 A). Une pression de 600 g appliquée au niveau thoracique moyen ou au niveau lombaire provoquait une réduction marquée de la décharge rythmique du NTA (fig. 18 B et C). Pendant ces tests la pression artérielle n'était pas modifiée significativement.

Le mouvement des poils du cou provoqué chez un chat ne modifiait pas la LF (Fig. 16).

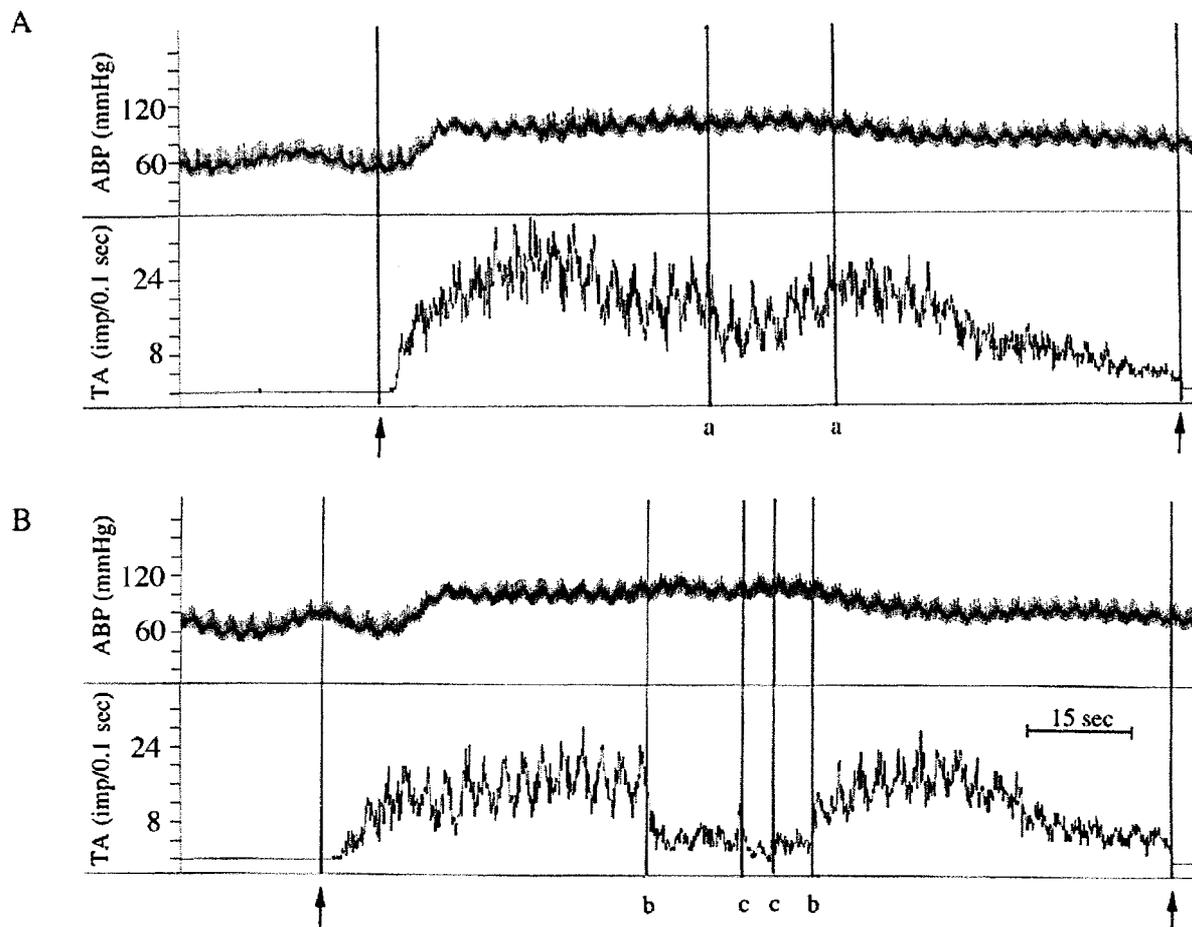


Fig. 17 : Une traction de la peau du cou était exercée chez un chat présentant une décharge du nerf du muscle tibial antérieur (TA) lors de la stimulation de l'aire locomotrice mésencéphalique (ALM). Une force de traction de 400 g (a-a) provoquait une faible inhibition de la décharge tonique (A) alors qu'une traction de 1000g (b-b) provoquait une réduction importante des décharges tonique et rythmique (B). Lorsqu'un pincement modéré (c-c) était ajouté à la traction de la peau il accentuait la réduction d'activité du nerf. Ainsi l'action inhibitrice de divers stimuli mécaniques peut s'additionner. Le début et la fin de la stimulation de l'ALM sont représentés par deux flèches.

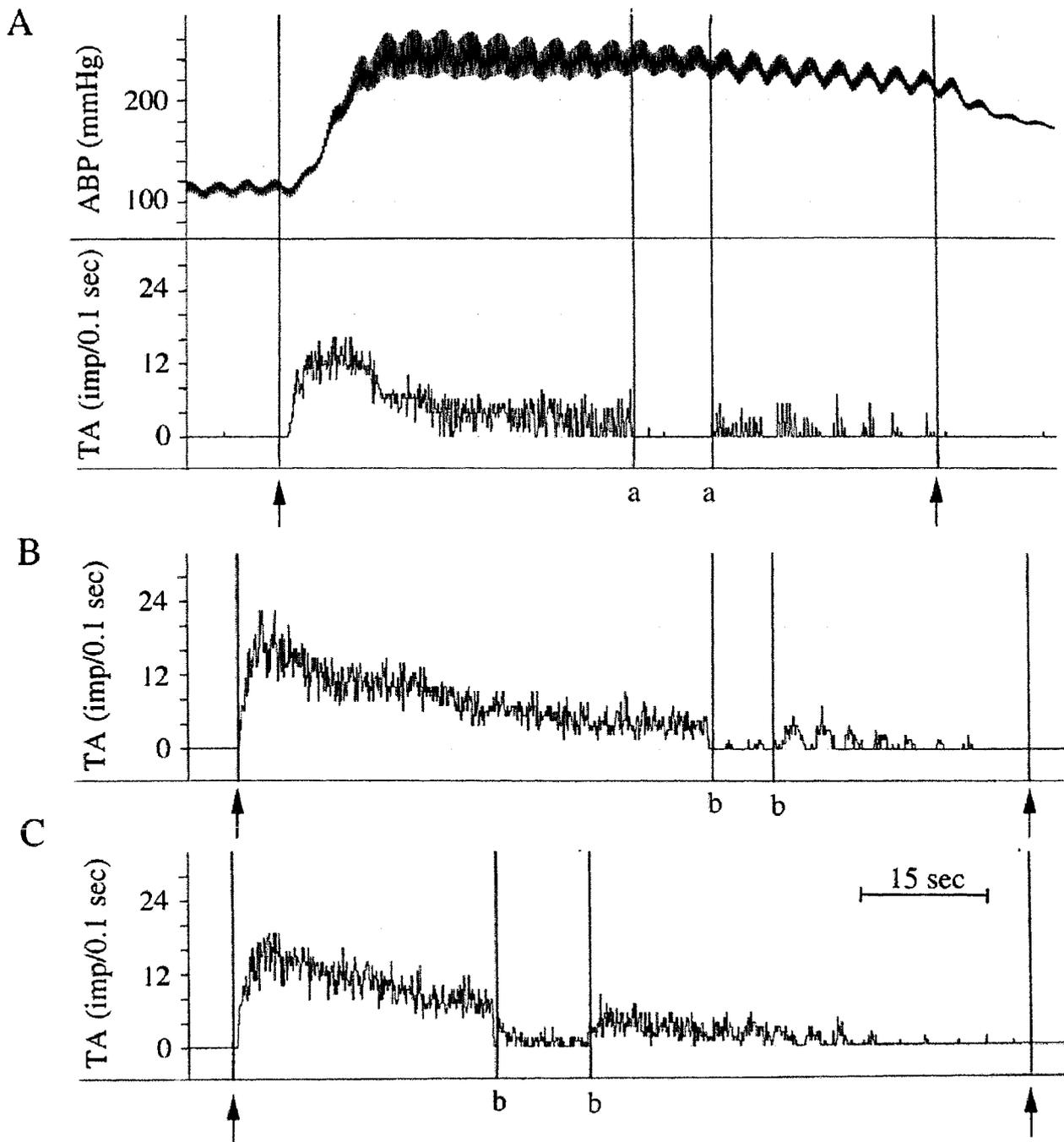


Fig. 18 : Effet d'une pression exercée à différents niveaux du dos chez un chat présentant une décharge transitoire du nerf du tibial antérieur (TA) à la stimulation de l'ALM. En (A), une pression de 400g appliquée sur la peau du cou (a-a) inhibe totalement l'activité nerveuse, sans modification nette de la pression artérielle (ABP). Une pression de 600g (b-b) appliquée au niveau thoracique (T4-T6) en (B) ou lombaire (L4-L6) en (C) inhibe aussi l'activité du nerf du TA. Le début et la fin de la stimulation de l'ALM sont représentés par deux flèches.

Des stimuli mécaniques douloureux étaient appliqués sur la peau du cou de quelques chats. Le pincement appuyé de la peau induisait soit aucun changement de l'activité du NTA et de la pression artérielle chez 2 chats soit une légère réduction de l'activité du NTA (-10 %) et de la pression artérielle (239 à 233 mmHg) chez un chat. Chez un autre chat la peau était saisie et élevée soit modérément soit fortement. La manœuvre modérée provoquait une réduction partielle de l'activité du NTA (-30 %) et du NGM (-10 %) et une faible augmentation de la pression artérielle (190 à 195 mmHg). La manœuvre forte supposée être douloureuse provoquait une augmentation des décharges toniques du NTA (+ 150 %) et du NGM (+50 %) et une augmentation marquée de la pression artérielle (140 à 200 mmHg).

### **B. Stimulation électrique des nerfs cutanés cervicaux**

La stimulation d'un ou de deux nerfs cutanés cervicaux provoquait une inhibition de la LF chez 7 des 8 chats testés. Chez un chat, la stimulation d'un nerf cervical ne semblait pas modifier la LF mais l'analyse était difficile à cause de l'irrégularité marquée de celle-ci. Ainsi les descriptions qui suivent concernent les 7 chats chez qui une inhibition de la LF était obtenue. Typiquement lorsque l'intensité de stimulation des nerfs cervicaux était relativement faible, une inhibition incomplète et transitoire de la décharge tonique était obtenue alors que la décharge rythmique était peu ou pas inhibée (fig. 19). Lorsque l'intensité de la stimulation était plus élevée, une inhibition importante de la décharge tonique était associée à une inhibition totale ou marquée de la décharge rythmique maintenue pendant la stimulation cervicale (fig. 19).

L'intensité minimale de la stimulation cervicale produisant une inhibition partielle de la LF était testée chez 6 chats (voir tableau 4). Elle provoquait toujours une inhibition de la décharge tonique du NTA ( $-39 \pm 5\%$  de la valeur de base,  $n=4$ ) alors que l'inhibition de la décharge rythmique du NTA ( $-24 \pm 13\%$ ,  $n=6$ ) n'apparaissait que pour 3 des 6 chats. L'inhibition de la décharge tonique et de la décharge rythmique du NGM (respectivement  $-12 \pm 8\%$  et  $-16 \pm 10\%$ ,  $n=5$ ) n'apparaissait que pour 2 des 5 chats. La pression artérielle et la fréquence cardiaque n'étaient pas modifiées lors de l'inhibition minimale de la LF.

Lors de l'inhibition maximale de la LF (voir tableau 4), la décharge tonique et la décharge rythmique du NTA diminuaient fortement, respectivement  $-81 \pm 12\%$  ( $n=5$ ) et  $-94 \pm 4\%$  ( $n = 7$ ), alors que l'inhibition de l'activité du NGM était moins importante, portant sur la décharge tonique des 7 chats ( $-49 \pm 18\%$ ) et sur la décharge rythmique de 5 des 7 chats ( $-43 \pm 9\%$ ,  $n = 7$ ). L'inhibition de la LF commençait moins de 1 à 3 sec après le début de la stimulation cervicale et cessait soit à l'arrêt de la stimulation cervicale chez 5 chats soit pendant la stimulation chez 2 (à 10 et 16 sec). La figure 15 montre une inhibition complète des décharge rythmique des 2 nerfs moteurs survenant strictement lors de la stimulation cervicale. La pression artérielle moyenne diminuait toujours lors de la stimulation cervicale (de  $156 \pm 12$  à  $148 \pm 12$  mmHg,  $p<0.01$ ) (fig. 19) mais la fréquence cardiaque n'était pas significativement modifiée ( $237 \pm 10$  à  $234 \pm 10$  bpm,  $p=0.08$ ).

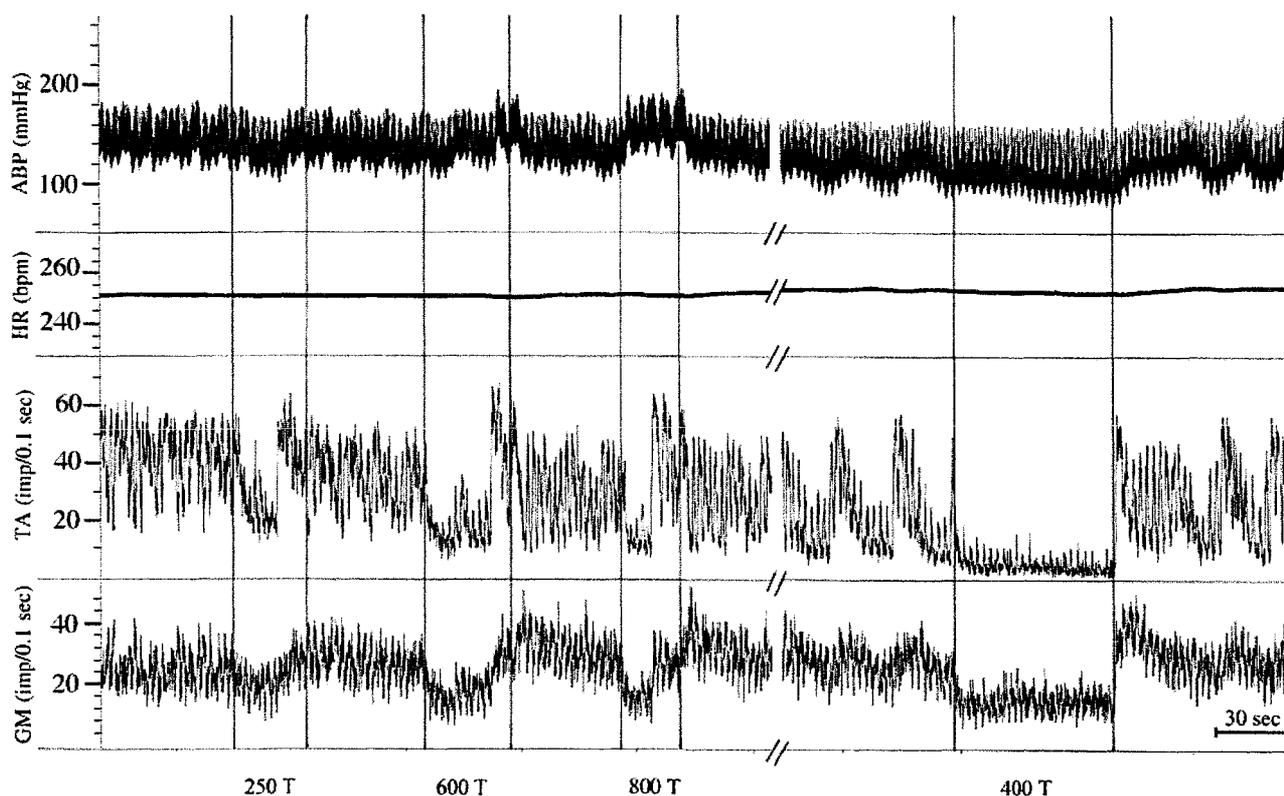


Fig. 19 : Effet de la stimulation électrique de deux nerfs cutanés cervicaux sur la LF induite par stimulation de l'ALM. L'activité des nerfs du tibial antérieur (TA) et du gastrocnémien médian (GM) est composée d'une décharge tonique à laquelle s'ajoute une décharge rythmique. Une stimulation relativement faible (250 fois le seuil nerveux T) induisait transitoirement une réduction nette de la décharge tonique mais faible de la décharge rythmique. La stimulation cervicale la plus efficace (400T) maintenait une inhibition marquée des décharges nerveuses tonique et rythmique associée à une réduction de la pression artérielle. Une stimulation cervicale plus intense (800T), recrutant plus de fibres C, inhibait moins la LF.

Tableau 4: Inhibition minimale et maximale de la locomotion fictive induite par stimulation électrique de nerfs cutanés cervicaux.

		Décharge du NTA (imp. /0.1 sec)			Décharge du NGM (imp. /0.1 sec)		
		n	Base	Stim.	n	Base	Stim.
ILF min.	Tonique	4	10.7 ± 3.4	6.5 ± 2.1 *	5	12.0 ± 5.0	10.7 ± 5.3
	Rythmique	6	24.0 ± 3.7	19.1 ± 4.9	5	15.0 ± 6.2	14.5 ± 6.4
ILF max.	Tonique	5	8.5 ± 2.1	2.1 ± 1.4 *	7	5.3 ± 1.5	3.7 ± 1.5 *
	Rythmique	7	23.4 ± 3.9	1.0 ± 0.6 *	6	16.1 ± 4.0	7.7 ± 1.8 *

NTA and NGM: nerfs des muscles tibial antérieur et gastrocnémien médian ; n, nombre d'animaux. Stim.: stimulation électrique. ILF min. et max.: respectivement, inhibition minimale et maximale de la locomotion fictive. Valeurs exprimées en moyenne ± ES. \* p<0.05 vs base.

L'intensité de la stimulation cervicale modulait l'intensité de l'inhibition de la LF selon le nombre de nerfs cervicaux stimulés. Les inhibitions minimales et maximales étaient atteintes avec des intensités de stimulation respectivement de 40 à 250 fois le seuil T et 300-530 T pour 1 nerf et respectivement de 25-200 T et 130 –500 T pour 2 nerfs. Pour un chat donné l'intensité de l'inhibition de la LF augmentait avec l'intensité de la stimulation des nerfs cervicaux probablement par le recrutement de fibres inhibitrices. Ce mécanisme était conforté par les résultats obtenus chez un chat dont 2 ou 4 nerfs cervicaux étaient stimulés simultanément. L'intensité minimale de la stimulation cervicale pour inhiber la LF était de 33 T pour 2 nerfs et de 2.6 T pour 4 nerfs (fig. 20).

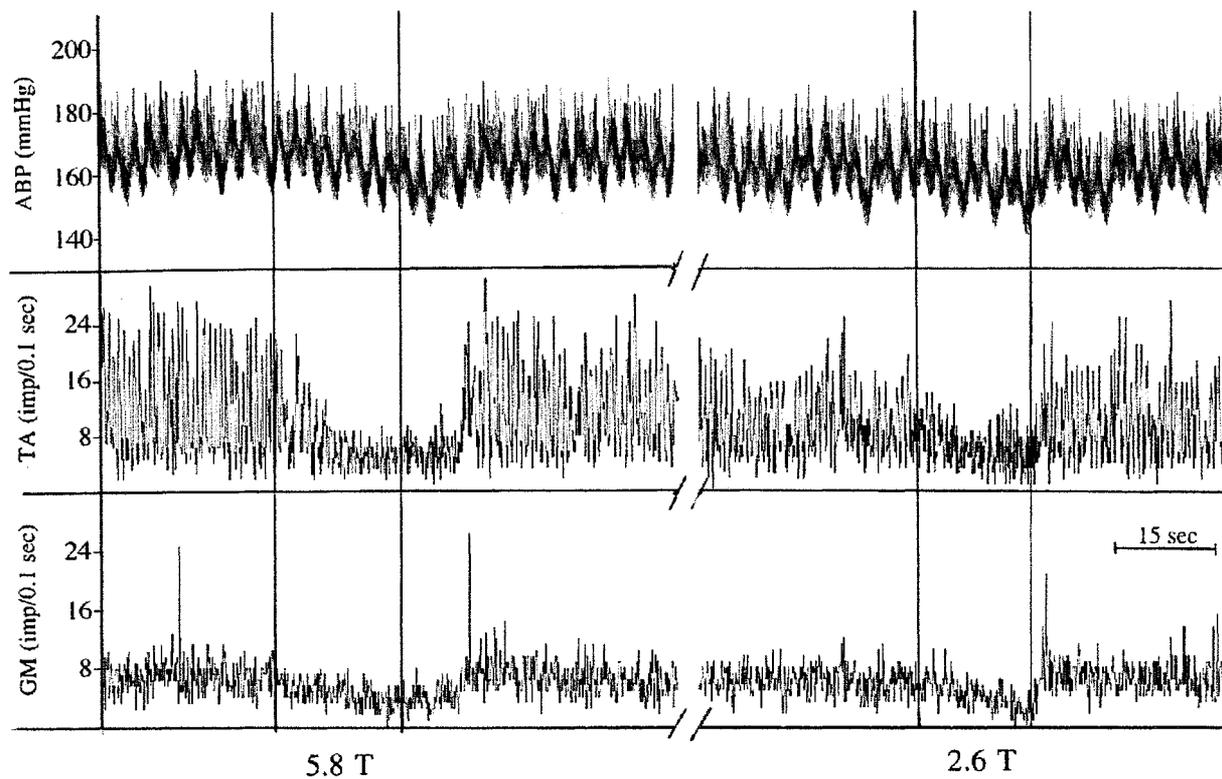


Fig. 20 : Effet de la stimulation électrique simultanée de quatre nerfs cervicaux sur la LF induite par stimulation de l'ALM. Une faible stimulation cervicale (2.6T) provoquait une nette inhibition partielle de l'activité des nerfs du tibial antérieur (TA) et du gastrocnémien médian (GM) associée à une chute de la pression artérielle (ABP). Une stimulation cervicale plus importante (5.8T) mais encore en deçà du seuil d'excitation des fibres C (6T), provoquait une inhibition marquée de la LF se prolongeant 10 secondes après l'arrêt de la stimulation.

La stimulation de nerfs cervicaux était testée sur la contraction statique fictive induite par stimulation de l'ALM chez 4 chats. La décharge tonique du NTA était toujours inhibée ( $-64 \pm 17\%$ ) alors que la décharge tonique du NGM était soit partiellement inhibée ( $n=2$ ,  $-20$  et  $-25\%$ ), non modifiée ( $n = 1$ ) ou augmentée ( $n=1$ ,  $+12\%$ ) (fig. 21). La pression artérielle moyenne pendant l'inhibition de la décharge tonique était réduite chez 2 chats (166 à 159 et 144 à 137 mmHg), inchangée chez 1 chat et trop instable pour être analysée chez 1 chat. La fréquence cardiaque n'était pas modifiée ( $251 \pm 13$  to  $251 \pm 13$  bpm,  $n=4$ ).

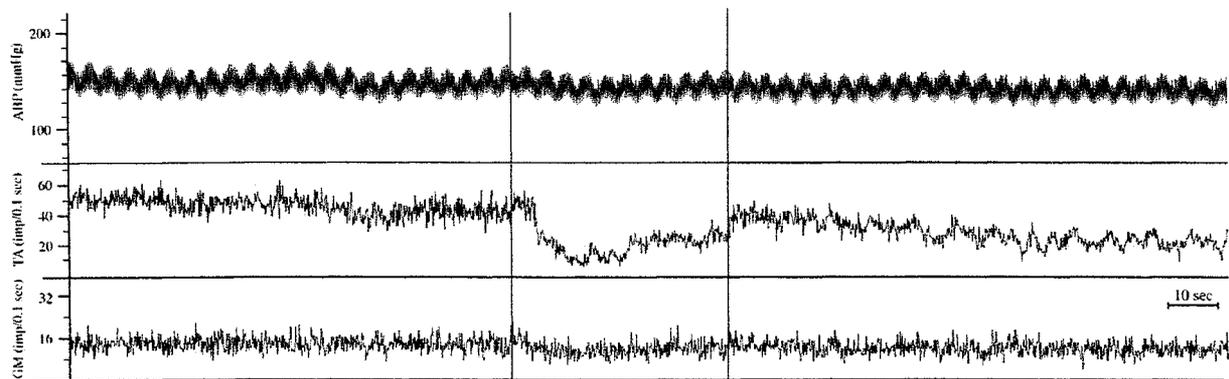


Fig. 21 : Effet de la stimulation électrique de deux nerfs cervicaux sur la contraction statique fictive induite par la stimulation de l'ALM. La stimulation cervicale, délimitée par 2 lignes verticales, réduit la décharge tonique des nerfs du tibial antérieur (TA) et du gastrocnémien médian (GM) mais ne modifie pas nettement la pression artérielle (ABP). A noter qu'une composante rythmique est apparue dans l'activité du nerf du TA principalement après l'arrêt de la stimulation cervicale.

Les fibres cutanées cervicales impliquées dans l'inhibition de la LF étaient davantage caractérisées. La stimulation de 4 nerfs cervicaux chez 1 chat (fig. 20) provoquait une inhibition de la LF avec une intensité minimale (2.6 T) inférieure au seuil d'apparition des ondes C (6 T). Ce résultat suggère que les fibres C ne sont pas impliquées dans l'inhibition de la LF. Pour confirmer cette hypothèse nous avons refroidi chez quelques chats les nerfs cutanés cervicaux stimulés à une température (6.1 – 7.6°C) qui inhibe la conduction des fibres myélinisées mais pas celle des fibres C. La stimulation des nerfs refroidis ne modifiait pas la LF (n=2) ou augmentait la décharge tonique du NTA pendant la LF (n =1, fig. 22). Dans les 3 cas, l'inhibition de la LF en réponse à la stimulation cervicale réapparaissait comme auparavant quant la température des nerfs excédait à nouveau 23°C (fig. 22). Chez 1 chat présentant une contraction statique fictive, le refroidissement des nerfs cervicaux stoppait de façon réversible l'inhibition de la décharge tonique des nerfs moteurs lors de la stimulation cervicale.

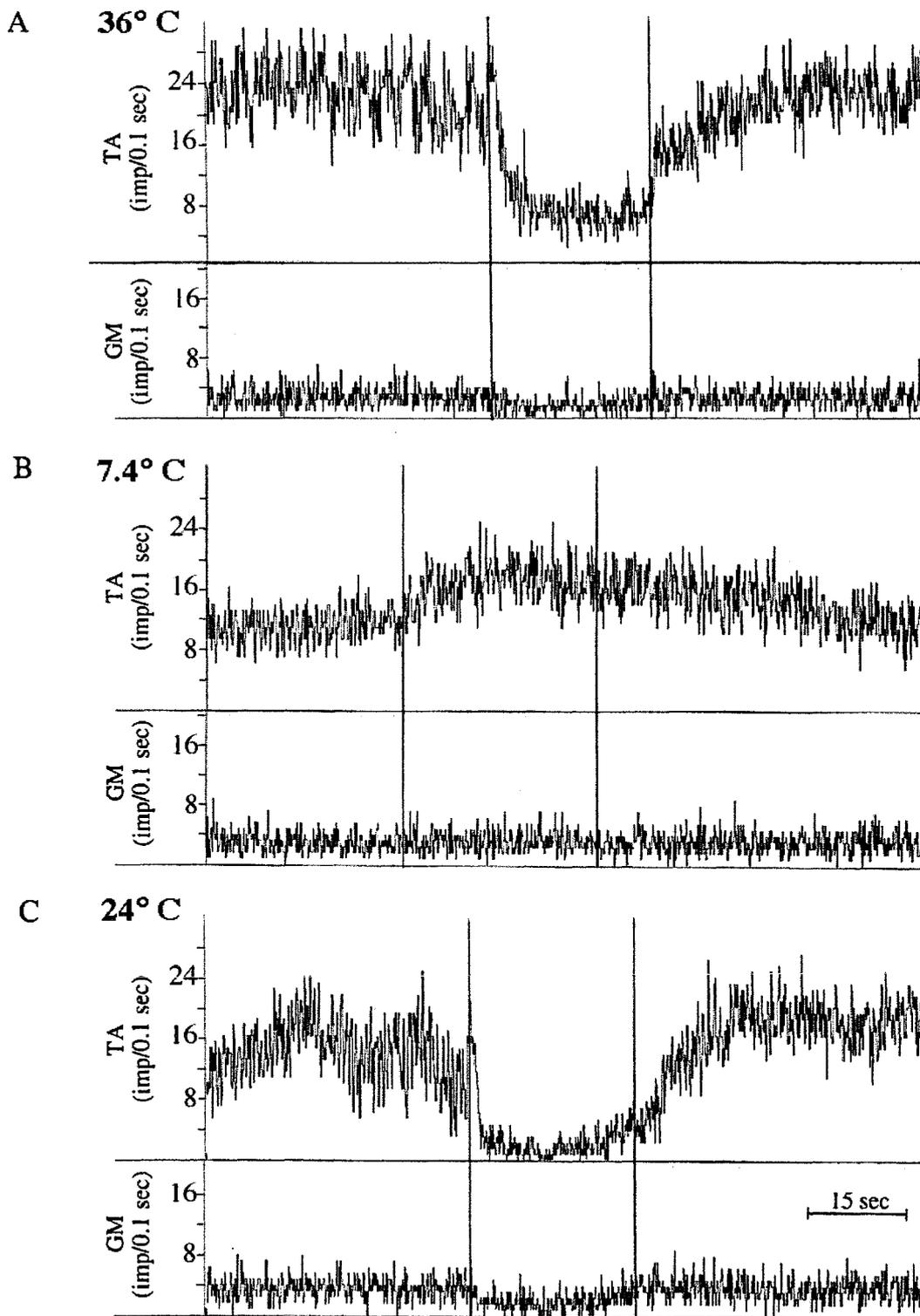


Fig. 22 : Effet du refroidissement de deux nerfs cutanés cervicaux stimulés électriquement sur l'inhibition de la LF. A – La stimulation électrique des nerfs cervicaux (38°) réduisait l'activité des nerfs des muscles TA et GM. B – La stimulation des nerfs cervicaux refroidis à 6.1°C, ne laissant que la conduction des fibres C, augmentait l'activité du nerf du TA et ne changeait pas celle du nerf du GM. C – La stimulation des nerfs cervicaux réchauffés (23°C) provoquait une inhibition de la LF comparable à celle obtenue avant refroidissement (A)

## V. *Discussion*

Nous avons démontré que l'activation d'afférences cutanées cervicales inhibe la LF induite par stimulation de l'ALM chez le chat mésencéphalique paralysé. La stimulation physiologique ou électrique des afférences cutanées cervicales provoquait une réduction des décharges tonique et rythmique des NTA et NGM. La décharge du NTA était constamment inhibée alors que celle du NGM, nerf d'un muscle extenseur, était variablement inhibée. Ce type d'inhibition reflète bien l'extension des membres postérieurs observée chez le chaton intact lorsqu'il est soulevé par la peau du cou.

### A. Notre modèle de LF

La stimulation électrique de l'ALM chez le chat provoquait soit une locomotion fictive soit une contraction tonique fictive (c'est à dire la seule décharge tonique des nerfs moteurs) comme rapporté dans la littérature (Degtyarenko and Kaufman, 2000; Jordan et al., 1979; Shik et al., 1966). La LF que nous avons habituellement obtenue était caractérisée par une décharge rythmique s'ajoutant à une décharge tonique des nerfs des muscles antagonistes en réponse à la stimulation de l'ALM comme déjà rapporté (Viala and Buser, 1969b). Le membre, où les nerfs moteurs ont été enregistrés, était positionné en extension assez importante ce qui pourrait expliquer la seule activité rythmique du nerf du fléchisseur (NTA) obtenue chez quelques chats. En effet, chez l'animal paralysé la position du membre postérieur joue un rôle important dans le patron moteur de la LF : une activité prédominante des nerfs des fléchisseurs par rapport aux nerfs des extenseurs apparaît lorsque la cheville (Viala, 1967) ou la hanche (Kriellaars et al., 1994) sont en extension passive.

### B. Nature des stimuli physiologiques et fibres impliquées dans l'inhibition de la LF

Des stimuli mécaniques exercés sur la peau du cou, tels qu'une traction ou une pression mais pas la mobilisation des poils provoquait une inhibition de la LF. Inversement, l'application de stimuli douloureux sur la peau n'avait pas d'effet ou stimulait la LF. Le réflexe d'immobilité est souvent induit par de telles stimulations mécaniques chez de multiples vertébrés tels que la grenouille, le poulet ou les rongeurs . Une pression exercée sur le dos du chat décérébré au niveau cervical, thoracique ou lombaire provoquait une inhibition de la locomotion, ce qui n'existe pas chez le chat adulte intact. Ce résultat peut être expliqué par l'observation de Klemm (Klemm, 1971b) qui a montré chez le rat que le néo-cortex inhibe les structures du tronc cérébral impliquées dans le réflexe d'immobilité. Cet auteur a postulé que des mammifères d'un rang élevé ayant un néo-cortex développé, peu susceptibles au

réflexe d'immobilité, deviendraient susceptibles à ce réflexe si le néo-cortex était enlevé. Notre étude chez le chat décérébré semble confirmer ce mécanisme.

L'amplitude de la dépression de la LF était liée à l'intensité de la stimulation mécanique appliquée à la peau. De même, un effet intégré des stimulations mécaniques était rapporté chez la grenouille (Bonnet and Saboul, 1935) et le lapin (Klemm, 1966) chez qui la durée de l'immobilité réflexe augmentait alors que l'intensité et /ou la surface de contact augmentaient. De plus, le fait d'ajouter un pincement modéré à une traction de la peau augmentait l'amplitude de l'inhibition de la LF. Ces résultats suggèrent que l'amplitude de la dépression de la LF est liée au recrutement d'afférences inhibitrices répondant à plusieurs stimuli mécaniques non spécifiques.

Nous avons pu caractériser davantage les fibres cutanées cervicales impliquées dans l'inhibition de la LF. La stimulation simultanée de 4 nerfs cervicaux à une intensité inférieure à celles des seuils d'apparition de l'onde C des nerfs provoquait une inhibition de la décharge rythmique du NTA qui persistait jusqu'à 10 secondes après l'arrêt de la stimulation (fig. 20). Une telle persistance de l'inhibition de la LF n'était pas observée en stimulant 1 ou 2 nerfs à une intensité élevée recrutant les fibres C. De plus, la stimulation sélective des fibres C cervicales, après refroidissement des nerfs, ne produisait aucun changement voire produisait une stimulation de la LF ou de la contraction tonique fictive. Ces résultats suggèrent que les fibres C n'inhibent pas mais plutôt stimulent la LF. Cela expliquerait que chez certains chats l'inhibition maximale de la LF, obtenue à une certaine intensité de stimulation, devenait moins importante lorsqu'une intensité plus élevée, recrutant plus de fibres C, était utilisée (fig. 19). Viala et col. (Viala et al., 1978) ont montré chez le lapin décérébré que la LF était aussi stimulée par l'activation de fibres cutanées du groupe C mais inhibée par l'activation de fibres cutanées du groupe A delta. Dans notre étude, les fibres myélinisées inhibitrices appartiennent vraisemblablement au groupe A delta dans la mesure où l'inhibition maximale de la LF était obtenue à une intensité très élevée de stimulation cervicale : une telle intensité de stimulation recrutait probablement encore des fibres du groupe A delta, fibres myélinisées les moins excitables, alors que les fibres fortement myélinisées étaient probablement déjà totalement recrutées à une intensité moindre de stimulation (Rybicki and Kaufman, 1985). De plus les stimuli mécaniques cutanés tels que la pression profonde et la traction, inhibitrices sur la LF, mettent en jeu principalement des fibres afférentes du groupe A delta (Hunt and McIntyre, 1960; Maruhashi et al., 1952).

### C. Sites d'interaction entre la LF et les afférences cutanées cervicales.

Le mécanisme central de l'inhibition de la LF peut être approché à partir des caractéristiques de l'inhibition. L'inhibition de la LF s'appliquait toujours à la décharge tonique du NTA suggérant un rôle important de l'inhibition du tonus musculaire. En effet, lors d'une inhibition modérée de la LF, la décharge tonique était toujours réduite tandis que la décharge rythmique ne l'était pas ou peu et lors de l'inhibition maximale de la LF, les deux décharges tonique et rythmique étaient fortement réduites. De plus lorsqu'un chat présentait une contraction tonique fictive à la stimulation de l'ALM, la décharge tonique correspondante était réduite par la stimulation des afférences cervicales. Ces résultats suggèrent fortement la mise en jeu de structures de la FR contrôlant le tonus postural et la locomotion. La stimulation de l'ALM, utilisée dans notre modèle de locomotion, provoque l'activation de zones de la région ventro-médiane de la FR pontobulbaire (Garcia-Rill and Skinner, 1987a; Garcia-Rill and Skinner, 1987b) où est située la majorité des neurones réticulospinaux contrôlant l'activité tonique des motoneurones et les centres spinaux générateur de rythmes locomoteurs (Drew et al., 1986; Drew and Rossignol, 1984; Garcia-Rill and Skinner, 1987b; Kinjo et al., 1990; Nolan and Waldrop, 1997; Perreault et al., 1993; Perreault et al., 1994). Mori et col. ont montré l'importance du contrôle associé du tonus postural et de la locomotion (Mori et al., 1992). Ainsi un certain niveau de tonus postural est nécessaire pour que la locomotion soit possible. Si le tonus postural est abaissé, par la stimulation de l'aire tegmentale dorsale pontique ou de neurones de la FR pontique médiane, il provoque l'arrêt de la locomotion induite par stimulation de l'ALM (Iwakiri et al., 1995; Mori et al., 1982; Mori et al., 1978). Mori et collaborateurs ont ainsi décrit un système inhibiteur prenant origine au niveau du noyau réticulaire pontique oral et exerçant principalement par l'intermédiaire du noyau réticulaire gigantocellulaire du bulbe une inhibition tonique généralisée ou non réciproque des motoneurones alpha innervant les muscles fléchisseurs et extenseurs des membres postérieurs (Iwakiri et al., 1995; Mori, 1989; Mori et al., 1992). L'inhibition consécutive de la LF est caractérisée principalement par une réduction de l'amplitude de l'activité EMG des muscles fléchisseurs et extenseurs plutôt que par un changement du cycle de marche (Shimoda et al., 1991). De même, notre étude montre que la stimulation cervicale induit seulement une inhibition de l'amplitude des décharges rythmiques des nerfs moteurs mais pas de changement dans le cycle de marche (fig 19). Notre étude suggère qu'une stimulation mécanique cervicale, telle que la traction, connue pour activer largement la formation

réticulée du tronc cérébral (Scheibel, 1984; Wolstencroft, 1964), induit une inhibition de la locomotion fictive par activation du système inhibiteur décrit par Mori et collaborateurs (Mori, 1989).

D'autre part lors de l'inhibition de la LF, la pression artérielle était réduite lors de la stimulation électrique des afférences cervicales tandis qu'elle était variablement affectée (augmentation ou réduction) lors de la traction de la peau du cou. Il a été montré qu'une stimulation électrique de nerfs cutanés utilisant des impulsions de forte intensité (supérieure à 25 T) à une fréquence de 50 Hz, ce qui correspond aux caractéristiques de stimulation de notre étude, provoque un réflexe somatosympathique comportant une augmentation de la pression artérielle (Coote and Perez-Gonzalez, 1970; Sato and Schmidt, 1973). De même, l'activation de mécanorécepteurs cutanés à seuil élevé, stimulés dans notre étude lors d'une traction ou lors d'une pression importante appliquées à la peau, provoque une augmentation réflexe de la pression artérielle (Johansson, 1962; Sato and Schmidt, 1973). Ces réflexes somatosympathiques, qui mettent en jeu un mécanisme spinal et supraspinal (Morrison and Reis, 1989; Sato and Schmidt, 1973), ne peuvent expliquer la réduction de la pression artérielle associée à l'inhibition de la LF. Rappelons que la locomotion fictive comprend une augmentation de la pression artérielle mettant en jeu un mécanisme centrale (Eldridge et al., 1985). L'inhibition induite de la LF pourrait s'accompagner d'une inhibition associée de la pression artérielle par un mécanisme central. Le centre vasomoteur situé dans le bulbe ventrolatéral est probablement inhibé. Ce centre, situé juste à côté des neurones réticulospinaux contrôlant la locomotion, est activé lors de la locomotion par stimulation de l'ALM ou de l'ALH (Millhorn et al., 1987; Nolan and Waldrop, 1997; Waldrop et al., 1988). Ce centre est inhibé par la partie rostrale du noyau réticulaire gigantocellulaire qui constitue le principal centre inhibiteur de l'activité cardiovasculaire et respiratoire (Chan, 1984; Chan et al., 1986; Richard and Stremel, 1990; Richard et al., 1989). Il a été montré que l'activation du noyau réticulaire gigantocellulaire diminuait la réponse cardiorespiratoire lors de l'exercice induit par stimulation centrale (Richard et al., 1989; Stremel et al., 1990). Ainsi le noyau réticulaire gigantocellulaire, qui exerce une action inhibitrice sur le tonus des muscles et sur la réponse cardiorespiratoire à l'exercice, est très probablement impliqué dans l'inhibition de la LF. De plus, les stimuli cutanés mécaniques tels que pression profonde et traction, nociceptives ou non, par l'intermédiaire de voies extralemniscales, activent largement la FR dont le noyau réticulaire gigantocellulaire (Bowsher et al., 1968; Bowsher and Petit, 1966;

Casey, 1968; Palestini et al., 1957; Scheibel and Scheibel, 1965a; Scheibel and Scheibel, 1965b; Scheibel et al., 1955; Wolstencroft, 1961; Wolstencroft, 1964).

L'implication de la FR dans le réflexe d'immobilité a été montrée chez le lapin intact (Klemm, 1971a ; Klemm, 1976). Le réflexe d'immobilité était associé à une augmentation de l'activité multi-unitaire de différentes zones de la FR incluant la région bulbaire gigantocellulaire.



#### D. Réflexions concernant le réflexe d'inhibition motrice chez l'homme

Le réflexe d'immobilité est très répandu chez les vertébrés, les vertébrés supérieurs d'un haut rang exerçant un contrôle néocortical inhibiteur sur ce réflexe. Nous avons montré que la susceptibilité du chat à ce réflexe augmentait lorsqu'il était décérébré et donc privé des structures télencéphaliques inhibitrices. La stimulation mécanique ou électrique d'afférences cutanées du cou ou du dos provoquait une inhibition du tonus musculaire, isolé ou associée à une locomotion. Un tel réflexe d'inhibition motrice pourrait exister chez l'homme et ne se manifester que lors de lésions de structures télencéphaliques inhibitrices, telles que lors d'accident vasculaires cérébraux (AVC). Ce réflexe inhibiteur pourrait inhiber la spasticité rencontrée chez des sujets ayant subi un AVC (Katz and Rymer, 1989). Wang et col. ont rapporté récemment que des séances de 45 minutes de stimulation électrique de la peau en regard de la 12<sup>ème</sup> vertèbre thoracique et de la 1<sup>ère</sup> lombaire étaient suivies d'une réduction de la spasticité du triceps sural chez des patients hémiparétiques post AVC (Wang et al., 1998). Les auteurs précisaient que les mécanismes responsables de cet effet n'étaient toujours pas clairs et ont évoqué plusieurs mécanismes tels que l'inhibition autogénique Ib, l'inhibition par les neurones de Renshaw, l'inhibition réciproque, la réduction d'excitabilité des motoneurones par l'intermédiaire de la stimulation électrique directe de synapses inhibitrices. Nous proposons que la stimulation de la peau ou de fibres afférences par voie transcutanée a pu participer à la réduction de la spasticité par la mise en jeu d'un réflexe d'inhibition motrice empruntant un arc spino-réticulo-spinal. Ce mécanisme, qui offrirait des perspectives thérapeutiques, mérite d'être approfondi chez l'homme.

**CONCLUSIONS**  
**ET**  
**PERSPECTIVES**

## CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

L'exercice comporte diverses modalités d'activité musculaire associées à un cortège de modifications végétatives et ventilatoire. De nombreux mécanismes neurophysiologiques du contrôle de ces activités restent méconnus et sont l'objet d'une littérature abondante. Les axes de recherche du laboratoire sont la régulation cardiorespiratoire à l'exercice et la nouvelle thématique d'étude de réflexes modifiant l'activité musculaire et la locomotion. L'apport de techniques neurophysiologiques expérimentales, auxquelles je me suis formé, a permis de développer ces axes de recherche. Les deux premières études, dans le cadre de la régulation cardiorespiratoire à l'exercice, abordent des mécanismes centraux liés à la réponse pressive et bronchomotrice à l'exercice. La troisième étude aborde un mécanisme réflexe d'inhibition du tonus musculaire et de la locomotion.

La première étude, portait sur l'effet cardiorespiratoire de la substance P et du glutamate colocalisés dans les terminaisons médullaires d'afférences musculaires mises en jeu à l'exercice. Nous avons montré que la réponse pressive liée à l'injection de glutamate dans les couches I et II de la corne dorsale était potentialisée par l'injection au même site d'un analogue de la substance P. L'étude de l'activité sympathique vasopressive en utilisant ce modèle permettrait de préciser le mécanisme de la réponse pressive. D'autre part, notre étude a montré une augmentation de l'activité ventilatoire lors de l'injection de glutamate chez quelques chats, cette réponse respiratoire n'était cependant pas significative sur l'ensemble des animaux. Le rôle du glutamate dans la réponse respiratoire reste à préciser.

La deuxième étude a permis de montrer l'existence d'une bronchoconstriction globale associée à la locomotion fictive spontanée ou induite par stimulation de l'aire locomotrice hypothalamique chez le chat décérébré et paralysé. Cet effet avait été montré lors de la stimulation de l'autre aire locomotrice située dans le mésencéphale. Cette bronchoconstriction résultait en fait de deux composantes opposées, l'une cholinergique bronchoconstrictive (prédominante) et l'autre bêta-adrénergique bronchodilatatrice. La commande centrale de l'exercice semble donc provoquer une bronchoconstriction qui s'opposerait à l'effet bronchodilatateur d'origine périphérique. Il est intéressant de

considérer que chez des sujets asthmatiques la composante émotionnelle peut provoquer ou accentuer une crise d'asthme (Dekker and Groen, 1956 ; Rumbak et al., 1993; Tal and Miklich, 1976 ). L'hypothalamus, centre neurovégétatif important, pourrait avoir un rôle dans ces manifestations, ce que suggère l'effet bronchoconstricteur de la stimulation de l'aire locomotrice hypothalamique. L'effet de la stimulation d'autres aires de l'hypothalamus sur la bronchomotricité serait particulièrement intéressant à explorer.

La troisième étude montre que l'activation mécanique ou électrique d'afférences cutanées du cou inhibe le tonus et l'activité locomotrice de nerfs de muscles antagonistes des membres postérieurs chez le chat décérébré et paralysé. Ce réflexe d'inhibition motrice, provoqué par des stimuli mécaniques cutanés non nociceptifs, semble impliquer un arc spino-réticulo-spinal. La suppression de structures télencéphaliques désinhibe ce réflexe chez le chat. Un tel réflexe d'inhibition motrice pourrait exister chez l'homme et ne se manifester que lors de lésions de structures télencéphaliques inhibitrices, telles que lors d'accident vasculaires cérébraux (AVC). Ce mécanisme pourrait notamment participer à la réduction de la spasticité du triceps sural obtenue lors de la stimulation électrique de la peau de la région thoraco-lombaire du dos chez des sujets présentant une hémiparésie d'origine centrale (Wang et al., 1998).

Les prochaines études expérimentales permettront de mieux caractériser les modalités du réflexe d'inhibition motrice. L'effet de différentes modalités de stimulations mécaniques et électriques sur plusieurs régions du dos sera étudié sur la locomotion fictive mais aussi sur la locomotion active sur tapis roulant. En effet, la mise en jeu d'afférences somatiques lors de la locomotion active pourrait influencer le réflexe d'inhibition motrice, ce qui reste à préciser. D'autre part, l'effet de la stimulation d'afférences cutanées du dos sera testé sur la spasticité importante et continue obtenue chez le chat après une section mésencéphalique basse (sous le colliculus inférieur). Cela permettra de plus de préciser l'implication de l'aire locomotrice mésencéphalique dans ce réflexe inhibiteur.

L'effet de la stimulation mécanique et électrique de la peau du dos sur le tonus musculaire et la marche sera étudié chez l'homme présentant une hémiparésie ou une paraparésie spastique d'origine centrale. Différentes modalités de stimulation mécanique et électrique seront testées sur différents territoires cutanés du dos. La spasticité musculaire sera évaluée en condition statique et la marche sera évaluée par une exploration

biomécanique tridimensionnelle, chez des enfants atteints d'infirmité motrice cérébrale et chez des sujets âgés ayant subi un accident ischémique cérébral. La mise en évidence de ce mécanisme d'inhibition du tonus musculaire et de la motricité chez l'homme offrirait une nouvelle perspective thérapeutique de ces pathologies.



**RÉFÉRENCES**

**BIBLIOGRAPHIQUES**

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES



- Abols IA, and Basbaum AI (1981) Afferent connections of the rostral medulla of the cat: a neural substrate for midbrain-medullary interactions in the modulation of pain. *J Comp Neurol* 201:285-97.
- Adreani CM, Hill JM, and Kaufman MP (1996) Intrathecal blockade of both NMDA and non-NMDA receptors attenuates the exercise pressor reflex in cats. *J Appl Physiol* 80:315-22.
- Adreani CM, Hill JM, and Kaufman MP (1997) Responses of group III and IV muscle afferents to dynamic exercise. *J Appl Physiol* 82:1811-7.
- Alam M, and Smirk FH (1937) Observation in man upon a blood pressure raising reflex arising from the voluntary muscles. *J. Physiol.* 89:372-383.
- Alam M, and Smirk FH (1938) Observations in man on a pulse-accelerating reflex from the voluntary muscles of the legs. *J. Physiol.* 3:247-252.
- Albe-Fessard D (1965) Organisation of somatic central projection. In WD Neff (ed.): *Contributions to sensory physiology*. New York: Academic Press, pp. 101-167.
- Amassian VE, and DeVito RV (1954) Unit activity in reticular formation and nearby structures. *J. Neurophysiol.* 17:157-178.
- Amdur M, and Mead J (1958) Mechanics of respiration in unanesthetized guinea pigs. *Am. J. Physiol.* 192:364-368.
- Andersson O, Forssberg H, Grillner S, and Wallen P (1981) Peripheral feedback mechanisms acting on the central pattern generators for locomotion in fish and cat. *Can J Physiol Pharmacol* 59:713-26.
- Andersson O, and Grillner S (1981) Peripheral control of the cat's step cycle. I. Phase dependent effects of ramp-movements of the hip during "fictive locomotion". *Acta Physiol Scand* 113:89-101.
- Arshavsky Y, Gelfand IM, and Orlovsky GN (1983) The cerebellum and control of rhythmical movements. *TINS* 6:417-422.
- Bauer RM, Iwamoto GA, and Waldrop TG (1990) Discharge patterns of ventrolateral medullary neurons during muscular contraction. *Am J Physiol* 259:R606-11.
- Bauer RM, Waldrop TG, Iwamoto GA, and Holzwarth MA (1992) Properties of ventrolateral medullary neurons that respond to muscular contraction. *Brain Res Bull* 28:167-78.

- Bayev KV, Beresovskii VK, Kebkalo TG, and Savoskina LA (1988) Afferent and efferent connections of brainstem locomotor regions: study by means of horseradish peroxidase transport technique. *Neuroscience* 26:871-91.
- Bell C, Sierra G, Buendia N, and Segundo JP (1964) Sensory properties of neurons in the mesencephalic reticular formation. *J. Neurophysiol.* 27:961-987.
- Bennett JA, Kidd C, Latif AB, and McWilliam PN (1981) A horseradish peroxidase study of vagal motoneurons with axons in cardiac and pulmonary branches of the cat and dog. *Q. J. Exp. Physiol.* 66:145-154.
- Beresovskii VK, and Bayev KV (1988) New locomotor regions of the brainstem revealed by means of electrical stimulation. *Neuroscience* 26:863-9.
- Berezovskii VK (1991) [The brain stem pathways of locomotion initiation]. *Neirofiziologiiia* 23:488-505.
- Berezovskii VK, Kebkalo TG, and Savos'kina LA (1986) [Afferent connections of the mesencephalic locomotor area of the cat brain]. *Neirofiziologiiia* 18:763-73.
- Bessou P, and Perl ER (1969) Response of cutaneous sensory units with unmyelinated fibers to noxious stimuli. *J. Neurophysiol.* 32:1025-1043.
- Bonnet V, and Saboul R (1935) [Contribution to the study of animal hypnosis. Central nervous modification and mechanism of subordination in hypnosis in frog]. *J. Physiol. Pathol. Gen.* 33:887-906.
- Bowes G, Shakin EJ, Phillipson EA, and Zamel N (1984) An efferent pathway mediating reflex tracheal dilation in awake dogs. *J Appl Physiol* 57:413-8.
- Bowsher D, Albe-Fessard D, and Mallart A (1963) Central extralemniscal afferents. *J. Anat. (Lond.)* 97:151-152.
- Bowsher D, Mallart A, Petit D, and Albe-Fessard D (1968) A bulbar relay to the centre median. *J. Neurophysiol.* 31:288-300.
- Bowsher D, and Petit D (1966) Single unit analysis of ventromedial medullary reticular formation in cat. *J. Physiol. (Lond.)* 186:117-118P.
- Braun CM, and Pivik RT (1983) Effects of brainstem lesions on tonic immobility in the rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Brain Res Bull* 10:127-35.
- Brodal A (1956) Anatomical aspects of the reticular formation of the pons and medulla oblongata. *Prog. Neurobiol.* 1:240.
- Brodal A, and Rossi G (1955) Ascending fibers in brain stem reticular formation of cat. *Arch. Neurol. Psychiatry* 74:68-87.

- Brooks VB, and T TW (1981) Cerebellar control of posture and movement.: Handbook of Physiology. Sect 1, Vol II. Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc., pp. 877-946.
- Burgess PR, and Perl ER (1967) Myelinated afferent fibres responding specifically to noxious stimulation of the skin. *J. Physiol. (Lond.)* 190:541-562.
- Bussel B, Roby-Brami A, Azouvi P, Biraben A, Yakovleff A, and Held JP (1988) Myoclonus in a patient with spinal cord transection. Possible involvement of the spinal stepping generator. *Brain* 111:1235-45.
- Bussel B, Roby-Brami A, Neris OR, and Yakovleff A (1996) Evidence for a spinal stepping generator in man. Electrophysiological study. *Acta Neurobiol Exp* 56:465-8.
- Bussel B, Roby-Brami A, Yakovleff A, and Bennis N (1989) Late flexion reflex in paraplegic patients. Evidence for a spinal stepping generator. *Brain Res Bull* 22:53-6.
- Carli G (1969) Dissociation of electrocortical activity and somatic reflexes during rabbit hypnosis. *Arch. ital. Biol.* 107:219-234.
- Casey KL (1968) Sensory responses of medial medullary reticular neurons: natural stimuli and fiber spectrum. *Proc. XXIV int. Congr. Physiol. Sci.*, pp. n. 231.
- Cervero F, and Iggo A (1980) The substantia gelatinosa of the spinal cord: a critical review. *Brain* 103:717-72.
- Chan SH (1984) Evaluation of the cardiovascular regulatory mechanisms in the medulla oblongata of the rat: low-intensity electrical activation. *J Auton Nerv Syst* 11:317-22.
- Chan SH (1985) Arterial pressure- and cardiac rhythm-related single-neuron activities in the nucleus reticularis gigantocellularis of the rat. *J Auton Nerv Syst* 13:99-109.
- Chan SH, Chan JY, and Ong BT (1986) Anatomic connections between nucleus reticularis rostroventrolateralis and some medullary cardiovascular sites in the rat. *Neurosci Lett* 71:277-82.
- Chase MH, Morales FR, Boxer PA, Fung SJ, and Soja PJ (1986) Effect of stimulation of the nucleus reticularis gigantocellularis on the membrane potential of cat lumbar motoneurons during sleep and wakefulness. *Brain Res* 386:237-44.
- Chen Z, Hedner J, and Hedner T (1990) Substance P in the ventrolateral medulla oblongata regulates ventilatory responses. *J Appl Physiol* 68:2631-9.
- Connelly JC, McCallister LW, and Kaufman MP (1987) Stimulation of the caudal ventrolateral medulla decreases total lung resistance in dogs. *J Appl Physiol* 63:912-7.
- Coote JH, and Perez-Gonzalez JF (1970) The response of some sympathetic neurones to volley in various afferent nerves. *J. Physiol. (Lond)* 208:261-278.

- Craig AD (1995) Distribution of brainstem projections from spinal lamina I neurons in the cat and the monkey. *J. Comp. Neurol.* 361:225-248.
- Craig AD, and Mense S (1983) The distribution of afferent fibers from the gastrocnemius-soleus muscle in the dorsal horn of the cat, as revealed by the transport of horseradish peroxidase. *Neurosci Lett* 41:233-8.
- De Biasi S, and Rustioni A (1988) Glutamate and substance P coexist in primary afferent terminals in the superficial laminae of spinal cord. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85:7820-4.
- De la Cruz F, and Junquera J (1993) The immobility response elicited by clamping, bandaging and grasping in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Behav Brain Res* 54:165-9.
- Degtyarenko AM, and Kaufman MP (2000) Fictive locomotion and scratching inhibit dorsal horn neurons receiving thin fiber afferent input. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 279:R394-403.
- Dekker E, and Groen J (1956) Reproducible psychogenic attacks of asthma. *J. Psychosom. Res.* 1:58-67.
- Drapeau G, D'Orleans-Juste P, Dion S, Rhaleb NE, Rouissi NE, and Regoli D (1987) Selective agonists for substance P and neurokinin receptors. *Neuropeptides* 10:43-54.
- Drew T, Cabana T, and Rossignol S (1996) Responses of medullary reticulospinal neurones to stimulation of cutaneous limb nerves during locomotion in intact cats. *Exp Brain Res* 111:153-68.
- Drew T, Dubuc R, and Rossignol S (1986) Discharge patterns of reticulospinal and other reticular neurons in chronic, unrestrained cats walking on a treadmill. *J Neurophysiol* 55:375-401.
- Drew T, and Rossignol S (1984) Phase-dependent responses evoked in limb muscles by stimulation of medullary reticular formation during locomotion in thalamic cats. *J Neurophysiol* 52:653-75.
- Drew T, and Rossignol S (1990) Functional organization within the medullary reticular formation of intact unanesthetized cat. II. Electromyographic activity evoked by microstimulation. *J Neurophysiol* 64:782-95.
- Eldridge FL (1971) Relationship between phrenic nerve activity and ventilation. *Am J Physiol* 221:535-43.

- Eldridge FL, Millhorn DE, Kiley JP, and Waldrop TG (1985) Stimulation by central command of locomotion, respiration and circulation during exercise. *Respir Physiol* 59:313-37.
- Fedirchuk B, Nielsen J, Petersen N, and Hultborn H (1998) Pharmacologically evoked fictive motor patterns in the acutely spinalized marmoset monkey (*Callithrix jacchus*). *Exp Brain Res* 122:351-61.
- Feraboli-Lohnherr D, Barthe JY, and Orsal D (1999) Serotonin-induced activation of the network for locomotion in adult spinal rats. *J Neurosci Res* 55:87-98.
- Feraboli-Lohnherr D, Orsal D, Yakovleff A, Gimenez y Ribotta M, and Privat A (1997) Recovery of locomotor activity in the adult chronic spinal rat after sublesional transplantation of embryonic nervous cells: specific role of serotonergic neurons. *Exp Brain Res* 113:443-54.
- Fontani G, and Meucci M (1983) Dorsolateral PAG neurons: tonic immobility and morphine effect in freely moving rabbits. *Physiol Behav* 31:213-8.
- Ford TW, Bennett JA, Kidd C, and McWilliam PN (1990) Neurones in the dorsal motor vagal nucleus of the cat with non-myelinated axons projecting to the heart and lungs. *Exp. Physiol.* 75:459-473.
- Forsberg H, and Grillner S (1973) The locomotion of the acute spinal cat injected with clonidine i.v. *Brain Res* 50:184-6.
- Forsberg H, Grillner S, and Halbertsma J (1980a) The locomotion of the low spinal cat. I. Coordination within a hindlimb. *Acta Physiol Scand* 108:269-81.
- Forsberg H, Grillner S, Halbertsma J, and Rossignol S (1980b) The locomotion of the low spinal cat. II. Interlimb coordination. *Acta Physiol Scand* 108:283-95.
- Forsberg H, Grillner S, and Rossignol S (1975) Phase dependent reflex reversal during walking in chronic spinal cats. *Brain Res* 85:103-7.
- Franz DN, and Iggo A (1968) Conduction failure in myelinated and non-myelinated axons at low temperatures. *J Physiol (Lond)* 199:319-45.
- Garcia-Rill E, Houser CR, Skinner RD, Smith W, and Woodward DJ (1987) Locomotion-inducing sites in the vicinity of the pedunculopontine nucleus. *Brain Res Bull* 18:731-8.
- Garcia-Rill E, and Skinner RD (1987a) The mesencephalic locomotor region. I. Activation of a medullary projection site. *Brain Res* 411:1-12.
- Garcia-Rill E, and Skinner RD (1987b) The mesencephalic locomotor region. II. Projections to reticulospinal neurons. *Brain Res* 411:13-20.

- Garcia-Rill E, Skinner RD, and Fitzgerald JA (1985) Chemical activation of the mesencephalic locomotor region. *Brain Res* 330:43-54.
- Gerber G, and Randic M (1989) Excitatory amino acid-mediated components of synaptically evoked input from dorsal roots to deep dorsal horn neurons in the rat spinal cord slice. *Neurosci Lett* 106:211-9.
- Gimenez y Ribotta M, Orsal D, Feraboli-Lohnherr D, Privat A, Provencher J, and Rossignol S (1998) Kinematic analysis of recovered locomotor movements of the hindlimbs in paraplegic rats transplanted with monoaminergic embryonic neurons. *Ann N Y Acad Sci* 860:521-3.
- Grillner S, Ekeberg, El Manira A, Lansner A, Parker D, Tegner J, and Wallen P (1998) Intrinsic function of a neuronal network - a vertebrate central pattern generator. *Brain Res Brain Res Rev* 26:184-97.
- Grillner S, and Wallen P (1985) Central pattern generators for locomotion, with special reference to vertebrates. *Annu Rev Neurosci* 8:233-61.
- Grillner S, and Zangger P (1979) On the central generation of locomotion in the low spinal cat. *Exp Brain Res* 34:241-61.
- Hagan RM, Ireland SJ, Jordan CC, Beresford IJ, Deal MJ, and Ward P (1991) Receptor-selective, peptidase-resistant agonists at neurokinin NK-1 and NK-2 receptors: new tools for investigating neurokinin function. *Neuropeptides* 19:127-35.
- Haselton JR, Padrid PA, and Kaufman MP (1991) Activation of neurons in the rostral ventrolateral medulla increases bronchomotor tone in dogs. *J Appl Physiol* 71:210-6.
- Haselton JR, Solomon IC, Motekaitis AM, and Kaufman MP (1992) Bronchomotor vagal preganglionic cell bodies in the dog: an anatomic and functional study. *J Appl Physiol* 73:1122-9.
- Henneman E (1980a) Motor functions of the brain stem and basal ganglia. In VB Mountcastle (ed.): *Medical physiology*. St Louis: The C. V. Mosby Cie, pp. 787-812.
- Henneman E (1980b) Organization of the motoneuron pool: the size principle. In VB Mountcastle (ed.): *Medical physiology*. St Louis: The C. V. Mosby Cie, pp. 718-741.
- Hennig CW, Carl EB, Aldrich S, Fazio JK, and Hughes CA (1981) Differential effects of alpha-adrenergic antagonists on tonic immobility in domestic fowl. *Pharmacol Biochem Behav* 15:739-42.
- Hermann DM, Luppi PH, Peyron C, Hinckel P, and Jouvet M (1997) Afferent projections to the rat nuclei raphe magnus, raphe pallidus and reticularis gigantocellularis pars alpha

- demonstrated by iontophoretic application of cholera toxin (subunit b). *J Chem Neuroanat* 13:1-21.
- Hill JM, Pickar JG, and Kaufman MP (1992) Attenuation of reflex pressor and ventilatory responses to static contraction by an NK-1 receptor antagonist. *J Appl Physiol* 73:1389-95.
- Hill JM, Pickar JG, and Kaufman MP (1994) Blockade of non-NMDA receptors attenuates reflex pressor response to static contraction. *Am J Physiol* 266:H1769-76.
- Hokfelt T, Kellerth JO, Nilsson G, and Pernow B (1975) Substance p: localization in the central nervous system and in some primary sensory neurons. *Science* 190:889-90.
- Hunt CC, and McIntyre AK (1960) An analysis of fibre diameter and receptor characteristics of myelinated cutaneous afferents fibres in cat. *J. Physiol. (Lond.)* 153:99-112.
- Iggo A (1960) Cutaneous mechanoreceptors with afferents C fibres. *J. Physiol. (Lond.)* 152:337-353.
- Inglis WL, and Winn P (1995) The pedunculo-pontine tegmental nucleus: where the striatum meets the reticular formation. *Prog Neurobiol* 47:1-29.
- Ito M, Udo M, and Mano N (1970) Long inhibitory and excitatory pathways converging onto cat reticular and Deiters' neurons and their relevance to reticulofugal axons. *J. Neurophysiol.* 33:210-226.
- Iwakiri H, Oka T, Takakusaki K, and Mori S (1995) Stimulus effects of the medial pontine reticular formation and the mesencephalic locomotor region upon medullary reticulospinal neurons in acute decerebrate cats. *Neurosci Res* 23:47-53.
- Iwamoto GA, Brtva RD, and Waldrop TG (1991) Cardiorespiratory responses to chemical stimulation of the caudal most ventrolateral medulla in the cat. *Neurosci Lett* 129:86-90.
- Iwamoto GA, and Kaufman MP (1987) Caudal ventrolateral medullary cells responsive to muscular contraction. *J Appl Physiol* 62:149-57.
- Iwamoto GA, Waldrop TG, Kaufman MP, Botterman BR, Rybicki KJ, and Mitchell JH (1985) Pressor reflex evoked by muscular contraction: contributions by neuraxis levels. *J Appl Physiol* 59:459-67.
- Jammes Y (1988) Tonic sensory pathways of the respiratory system. *Eur Respir J* 1:176-83.
- Jammes Y (1989) [Tracheobronchial muscle tonus and its reflex control]. *Arch Int Physiol Biochim* 97:A15-35.

- Jammes Y, Delpierre S, Vanuxem P, Vanuxem D, and Grimaud C (1975) [The role of afferent barosensory neurons in respiratory and bronchomotor control]. *Arch Int Physiol Biochim* 83:1-14.
- Jammes Y, Mathiot MJ, Roll JP, Prefaut C, Berthelin F, Grimaud C, and Milic-Emili J (1981) Ventilatory responses to muscular vibrations in healthy humans. *J Appl Physiol* 51:262-9.
- Jammes Y, and Mei N (1979) Assessment of the pulmonary origin of bronchoconstrictor vagal tone. *J Physiol (Lond)* 291:305-16.
- Johansson B (1962) Circulatory response to stimulation of somatic afferents. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 198:1-91.
- Jordan LM (1998) Initiation of locomotion in mammals. *Ann N Y Acad Sci* 860:83-93.
- Jordan LM, Pratt CA, and Menzies JE (1979) Locomotion evoked by brain stem stimulation: occurrence without phasic segmental afferent input. *Brain Res* 177:204-7.
- Kagawa J, and Kerr HD (1970) Effects of brief graded exercise on specific airway conductance in normal subjects. *J Appl Physiol* 28:138-44.
- Katz RT, and Rymer WZ (1989) Spastic hypertonia: mechanisms and measurement. *Arch Phys Med Rehabil* 70:144-55.
- Kaufman MP, and Forster HV (1996) Reflexes controlling circulatory, ventilatory, and airway responses to exercise.: *Hanbook of Physiology. Exercise: Regulation and Intregation of Multiple Systems*. Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc., pp. 381-447.
- Kaufman MP, Longhurst JC, Rybicki KJ, Wallach JH, and Mitchell JH (1983) Effects of static muscular contraction on impulse activity of groups III and IV afferents in cats. *J Appl Physiol* 55:105-12.
- Kaufman MP, and Rybicki KJ (1984) Muscular contraction reflexly relaxes tracheal smooth muscle in dogs. *Respir Physiol* 56:61-72.
- Kaufman MP, Rybicki KJ, and Mitchell JH (1985) Hindlimb muscular contraction reflexly decreases total pulmonary resistance in dogs. *J Appl Physiol* 59:1521-6.
- Kawahara K, and Suzuki M (1991) Descending inhibitory pathway responsible for simultaneous suppression of postural tone and respiration in decerebrate cats. *Brain Res* 538:303-9.
- Kawahara M, Kitahata LM, Collins JG, and Homma E (1982) Thiopental suppression of neurons of the nucleus reticularis gigantocellularis of the cat. *Anesth Analg* 61:763-6.

- Kikuchi H, Kitahata LM, Collins JG, Kawahara M, and Nio K (1980) Halothane-induced changes in neuronal activity of cells of the nucleus reticularis gigantocellularis of the cat. *Anesth Analg* 59:897-901.
- Kinjo N, Atsuta Y, Webber M, Kyle R, Skinner RD, and Garcia-Rill E (1990) Medioventral medulla-induced locomotion. *Brain Res Bull* 24:509-16.
- Klemm WR (1966) A method to encourage extensive study of animal hypnotic behavior. *J Exp Anal Behav* 9:63-4.
- Klemm WR (1971a) EEG and multiple-unit activity in limbic and motor systems during movement and immobility. *Physiol Behav* 7:337-43.
- Klemm WR (1971b) Neurophysiologic studies of the immobility reflex ("animal hypnosis"). *Neurosci Res* 4:165-212.
- Klemm WR (1976) Identity of sensory and motor systems that are critical to the immobility reflex ("animal hypnosis"). *J Neurosci Res* 2:57-69.
- Kohyama J, Shimohira M, and Iwakawa Y (1994) Brainstem control of phasic muscle activity during REM sleep: a review and hypothesis. *Brain Dev* 16:81-91.
- Korczynski R, and Korda P (1988) Immobility reflex evoked by vertical lifting of the rat. *Acta Neurobiol Exp* 48:145-59.
- Krieg WJS (1942) *Functionnal neuroanatomy*. Philadelphia: McGraw-Hill Book Co.
- Kriellaars DJ, Brownstone RM, Noga BR, and Jordan LM (1994) Mechanical entrainment of fictive locomotion in the decerebrate cat. *J Neurophysiol* 71:2074-86.
- Krogh A, and Lindhard J (1913) The regulation of respiration and circulation during the initial stages of muscular work. *J. Physiol. (Lond.)* 47:112-136.
- Lee MS, Rinne JO, and Marsden CD (2000) The pedunclopontine nucleus: its role in the genesis of movement disorders. *Yonsei Med J* 41:167-84.
- Lindsley DB (1952) Brain stem influences on spinal motor activity. *Res. Publ. Res. Assoc. Nerv. Ment. Dis.* 30:174-.
- Lindsley DB, Schreiner LH, and Magoun HW (1949) An electromyographic study of spasticity. *J. Neurophysiol.* 12:197.
- LLoyd TC (1980) Reflex effects of left heart pulmonary vascular distension on airway smooth muscle. *Ann. Rev. Physiol.* 49:620-626.
- Longhurst JC (1984) Static contraction of hindlimb muscles in cats reflexly relaxes tracheal smooth muscle. *J Appl Physiol* 57:380-7.

- Lopez-Rodriguez F, Kohlmeier KA, Yamuy J, Morales FR, and Chase MH (1995) Muscle atonia can be induced by carbachol injections into the nucleus pontis oralis in cats anesthetized with alpha-chloralose. *Brain Res* 699:201-7.
- Magni F, and Willis WD (1963) Identification of reticular formation neurons by intracellular recording. *Arch. Ital. Biol.* 101:681-702.
- Magoun HW (1950) Caudal and cephalic influences of brain stem reticular formation. *Physiol. Rev.* 30:459.
- Magoun HW, and Rhines R (1946) An inhibitory mechanism in the bulbar reticular formation. *J. Neurophysiol.* 9:165.
- Magoun HW, and Rhines R (1947) Spasticity: the stretch reflex and extrapyramidal systems. Springfield: Charles C. Thomas.
- Maruhashi J, Mizuguchi K, and Tasaki I (1952) Action currents in single afferent nerve fibres elicited by stimulation of the skin of the toad and the cat. *J. Physiol. (Lond.)* 117:129-151.
- McAllen RM, and Spyer KM (1978) Two types of vagal preganglionic motoneurons projecting to the heart and lungs. *J. Physiol. (Lond.)* 282:353-364.
- McBride RL (1971) Mechanisms of induction and maintenance of the immobility reflex ("animal hypnosis") in rabbits. Doctoral dissertation, Texas A&M University.
- McCloskey DI, and Mitchell JH (1972) Reflex cardiovascular and respiratory responses originating in exercising muscle. *J Physiol (Lond)* 224:173-86.
- McGraw CP, and Klemm WR (1969) Mechanisms of the immobility reflex ("animal hypnosis"). III. Neocortical inhibition in rats. *Commun. Behav. Biol.* 3:53-59.
- McIlroy MB, Marshall R, and Christie RV (1954) The work of breathing in normal subjects. *Clin. Sci. (Lond.)* 13:127-136.
- Mileikovskii B (1990) [The medial portion of the reticular giant-cell nucleus as an element of the brain stem inhibiting locomotor activity]. *Fiziol Zh SSSR Im I M Sechenova* 76:1627-9.
- Mileikovskii B (1991) [The interaction of the thalamic parafascicular complex with the brain stem centers that inhibit locomotor activity]. *Fiziol Zh SSSR Im I M Sechenova* 77:70-5.
- Mileikovsky BY, and Nozdrachev AD (1997) Neuronal reactions in the dorsolateral pontine area during the immobility response in rats. *Fiziol Zh Im I M Sechenova* 83:80-93.

- Millhorn DE, Eldridge FL, Waldrop TG, and Kiley JP (1987) Diencephalic regulation of respiration and arterial pressure during actual and fictive locomotion in cat. *Circ Res* 61:153-9.
- Mitchell JH, Kaufman MP, and Iwamoto GA (1983) The exercise pressor reflex: its cardiovascular effects, afferent mechanisms, and central pathways. *Annu Rev Physiol* 45:229-42.
- Monassi CR, Hoffmann A, and Menezal-de-Oliveira L (1994) Participation of the periaqueductal gray matter in the modulation of tonic immobility in the guinea pig. *Braz J Med Biol Res* 27:1243-8.
- Monassi CR, Hoffmann A, and Menezal-de-Oliveira L (1997) Involvement of the cholinergic system and periaqueductal gray matter in the modulation of tonic immobility in the guinea pig. *Physiol Behav* 62:53-9.
- Mori S (1987) Integration of posture and locomotion in acute decerebrate cats and in awake, freely moving cats. *Prog Neurobiol* 28:161-95.
- Mori S (1989) Contribution of postural muscle tone to full expression of posture and locomotor movements: multi-faceted analyses of its setting brainstem- spinal cord mechanisms in the cat. *Jpn J Physiol* 39:785-809.
- Mori S, Kawahara K, Sakamoto T, Aoki M, and Tomiyama T (1982) Setting and resetting of level of postural muscle tone in decerebrate cat by stimulation of brain stem. *J Neurophysiol* 48:737-48.
- Mori S, Matsui T, Kuze B, Asanome M, Nakajima K, and Matsuyama K (1998) Cerebellar-induced locomotion: reticulospinal control of spinal rhythm generating mechanism in cats. *Ann N Y Acad Sci* 860:94-105.
- Mori S, Matsui T, Kuze B, Asanome M, Nakajima K, and Matsuyama K (1999) Stimulation of a restricted region in the midline cerebellar white matter evokes coordinated quadrupedal locomotion in the decerebrate cat. *J Neurophysiol* 82:290-300.
- Mori S, Matsuyama K, Kohyama J, Kobayashi Y, and Takakusaki K (1992) Neuronal constituents of postural and locomotor control systems and their interactions in cats. *Brain Dev* 14 *Suppl*:S109-20.
- Mori S, Nishimura H, Kurakami C, Yamamura T, and Aoki M (1978) Controlled locomotion in the mesencephalic cat: distribution of facilitatory and inhibitory regions within pontine tegmentum. *J Neurophysiol* 41:1580-91.

- Mori S, Sakamoto T, Ohta Y, Takakusaki K, and 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.
- Morrison SF, and Reis DJ (1989) Reticulospinal vasomotor neurons in the RVL mediate the somatosympathetic reflex. *Am J Physiol* 256:R1084-97.
- Motekaitis AM, and Kaufman MP (1996) Stimulation of the mesencephalic locomotor region constricts the airways of cats. *Respir Physiol* 106:263-71.
- Motekaitis AM, Solomon IC, and Kaufman MP (1994) Stimulation of parabrachial nuclei dilates airways in cats. *J Appl Physiol* 76:1712-8.
- Myers JL (1966) *Fundamentals of experimental design*. Boston, MA.
- Nadel JA, and Widdicombe JG (1962) Effect of changes in blood gas tensions and carotid sinus pressure on tracheal volume and total lung resistance to airflow. *J. Physiol. (Lond.)* 163:13-33.
- Noga BR, Kettler J, and Jordan LM (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* 8:2074-86.
- Nolan PC, and Waldrop TG (1997) Integrative role of medullary neurons of the cat during exercise. *Exp Physiol* 82:547-58.
- Ohtani M, Kikuchi H, Kitahata LM, Taub A, Toyooka H, Hanaoka K, and Dohi S (1979) Effects of ketamine on nociceptive cells in the medial medullary reticular formation of the cat. *Anesthesiology* 51:414-7.
- Orlovskii GN (1969) [Spontaneous and induced locomotion of the thalamic cat]. *Biofizika* 14:1095-1102.
- Orsal D, Feraboli-Lohnherr D, and Barthe JY (1997) [Can transplantation of neurons facilitate motor recovery in paraplegics? Study of an animal model]. *C R Seances Soc Biol Fil* 191:669-93.
- Orsal D, Perret C, and Cabelguen JM (1986) Evidence of rhythmic inhibitory synaptic influences in hindlimb motoneurons during fictive locomotion in the thalamic cat. *Exp Brain Res* 64:217-24.
- Orsal D, Perret C, and Cabelguen JM (1988) Comparison between ventral spinocerebellar and rubrospinal activities during locomotion in the cat. *Behav Brain Res* 28:159-62.
- Palestini M, Rossi GF, and Zanchetti A (1957) An electrophysiological analysis of pontine reticular regions showing different anatomical organisation. *Arch. Ital. Biol.* 95:97-109.

- Pavlasek J, and Hricovini M (1984) Effect of pentobarbital on neurones in the reticular formation of the brain stem: ionophoretic study in the rat. *Gen Physiol Biophys* 3:463-73.
- Perreault MC, Drew T, and Rossignol S (1993) Activity of medullary reticulospinal neurons during fictive locomotion. *J Neurophysiol* 69:2232-47.
- Perreault MC, Rossignol S, and Drew T (1994) Microstimulation of the medullary reticular formation during fictive locomotion. *J Neurophysiol* 71:229-45.
- Pickar JG, Hill JM, and Kaufman MP (1994) Dynamic exercise stimulates group III muscle afferents. *J Neurophysiol* 71:753-60.
- Pompeiano O (1973) Reticular Formation. In A Iggo (ed.): *Handbook of Sensory Physiology. Volume II: Somato-sensory System*. Berlin - Heidelberg - New York: Springer-Verlag, pp. 381-488.
- Randic M, Hecimovic H, and Ryu PD (1990) Substance P modulates glutamate-induced currents in acutely isolated rat spinal dorsal horn neurones. *Neurosci Lett* 117:74-80.
- Ratner SC (1967) Comparative aspects of hypnosis. In JE Gordon (ed.): *Handbook of clinical and experimental hypnosis*. New York: Macmillan, pp. 550-587.
- Reese WG, Newton JE, and Angel C (1982) Induced immobility in nervous and normal Pointer dogs. *J Nerv Ment Dis* 170:605-13.
- Richard CA, and Stremel RW (1990) Involvement of the raphe in the respiratory effects of gigantocellular area activation. *Brain Res Bull* 25:19-23.
- Richard CA, Waldrop TG, Bauer RM, Mitchell JH, and Stremel RW (1989) The nucleus reticularis gigantocellularis modulates the cardiopulmonary responses to central and peripheral drives related to exercise. *Brain Res* 482:49-56.
- Richardson CA, Herbert DA, and Mitchell RA (1984) Modulation of pulmonary stretch receptors and airway resistance by parasympathetic efferents. *J. Appl. Physiol.* 58:1842-1849.
- Rossi GF, and Brodal A (1957) Terminal distribution of spino-reticular fibers in the cat. *AMA Arch. Neurol. Psychiatry.* 78:439-453.
- Rowell LB (1993) *Human Cardiovascular Control*. Oxford, UK: Oxford Univ. Press.
- Rumbak MJ, Kelso TM, Arheart KL, and Self TH (1993) Perception of anxiety as a contributing factor of asthma: indigent versus nonindigent. *J. Asthma* 30:165-169.
- Rusin KI, Ryu PD, and Randic M (1992) Modulation of excitatory amino acid responses in rat dorsal horn neurons by tachykinins. *J Neurophysiol* 68:265-86.

- Rybicki KJ, and Kaufman MP (1983) Atropine prevents the reflex tracheal relaxation arising from the stimulation of intestinal and skeletal muscle afferents in dogs. *Brain Res* 270:159-61.
- Rybicki KJ, and Kaufman MP (1985) Stimulation of group III and IV muscle afferents reflexly decreases total pulmonary resistance in dogs. *Respir Physiol* 59:185-95.
- Sato A, and Schmidt RF (1973) Somatosympathetic reflexes: afferent fibers, central pathways, discharge characteristics. *Physiol Rev* 53:916-47.
- Scheibel AB (1955) Axonal afferent patterns in the bulbar reticular formation. *Anat. Rec.* 121:361-362.
- Scheibel AB (1984) The brain stem reticular core and sensory function. In AP Soc. (ed.): *Handbook of Physiology. Section 1: The Nervous System. Vol. III Sensory Processes, Part 1.* Bethesda, MD, pp. 213-256.
- Scheibel ME, and Scheibel AB (1958) Structural substrates for integrative patterns in the brain stem reticular core. In PLD Jasper H H, Knighton R S, Noshay W C, Costello R T. (ed.): *Reticular Formation of the Brain.* Boston, MA, pp. 31-55.
- Scheibel ME, and Scheibel AB (1965a) Periodic sensory non-responsiveness in reticular neurones. *Arch. ital. Biol.* 103:300-316.
- Scheibel ME, and Scheibel AB (1965b) The response of reticular units to repetitive stimuli. *Arch. ital. Biol.* 103:279-299.
- Scheibel ME, and Scheibel AB (1966) The organization of the nucleus reticularis thalami: a Golgi study. *Brain Res.* 1:43-62.
- Scheibel ME, Scheibel AB, Mollica A, and Moruzzi G (1955) Convergence and interaction of afferent impulses on single units of reticular formation. *J. Neurophysiol.* 18:309-331.
- Schultz HD, Pisarri TE, Coleridge HM, and Coleridge JC (1987) Carotid sinus baroreceptors modulate tracheal smooth muscle tension in dogs. *Circ Res* 60:337-45.
- Shik ML, Orlovskii GN, and Severin FV (1966) [Organization of locomotor synergism]. *Biofizika* 11:879-86.
- Shik ML, and Orlovsky GN (1976) Neurophysiology of locomotor automatism. *Physiol Rev* 56:465-501.
- Shik ML, Severin FV, and Orlovskii GN (1967) [Structures of the brain stem responsible for evoked locomotion]. *Fiziol Zh SSSR Im I M Sechenova* 53:1125-32.
- Shimoda N, Tanaka H, Oka T, Takakusaki K, and Mori S (1991) Effects of intrapontine applications of carbachol and serotonin upon posture and locomotion in decerebrate

- cats. In GS Shimamura M, Edgerton VR (ed.): *Neurological Basis of Human Locomotion*. Tokyo: Japan Scientific Societies Press, pp. 51-56.
- Simmonds MA (1980) Evidence that bicuculline and picrotoxin act at separate sites to antagonize gamma-aminobutyric acid in rat cuneate nucleus. *Neuropharmacology* 19:39-45.
- Smith OA, Rushmer RF, and Lasher EP (1960) Similarity of cardiovascular responses to exercise and to diencephalic stimulation. *Am; J. Physiol.* 198:1139-1142.
- Soja PJ, Morales FR, Baranyi A, and Chase MH (1987) Effect of inhibitory amino acid antagonists on IPSPs induced in lumbar motoneurons upon stimulation of the nucleus reticularis gigantocellularis during active sleep. *Brain Res* 423:353-8.
- Stoddard SL, Bergdall VK, Townsend DW, and Levin BE (1986) Plasma catecholamines associated with hypothalamically-elicited flight behavior. *Physiol Behav* 37:709-15.
- Stremel RW, Waldrop TG, Richard CA, and Iwamoto GA (1990) Cardiorespiratory responses to stimulation of the nucleus reticularis gigantocellularis. *Brain Res Bull* 24:1-6.
- Takakusaki K, Shimoda N, Matsuyama K, and Mori S (1994) Discharge properties of medullary reticulospinal neurons during postural changes induced by intrapontine injections of carbachol, atropine and serotonin, and their functional linkages to hindlimb motoneurons in cats. *Exp Brain Res* 99:361-74.
- Tal A, and Miklich DR (1976) Emotionally induced decreases in pulmonary flow rates in asthmatic children. *Psychosom. Med.* 38:190-200.
- Teschke EJ, Maser JD, and Gallup G (1975) Cortical involvement in tonic immobility ("animal hypnosis"): effect of spreading cortical depression. *Behav. Biol.* 13:139-143.
- Tibes U (1977) Reflex inputs to the cardiovascular and respiratory centers from dynamically working canine muscles. Some evidence for involvement of group III or IV nerve fibers. *Circ Res* 41:332-41.
- Tomori Z, and Widdicombe JG (1969) Muscular, bronchomotor and cardiovascular reflexes elicited by mechanical stimulation of the respiratory tract. *J. Physiol. (Lond.)* 200:25-49.
- Urban L, and Randic M (1984) Slow excitatory transmission in rat dorsal horn: possible mediation by peptides. *Brain Res* 290:336-41.
- Valverde F (1961) Reticular formation of the pons and medulla oblongata. A Golgi study. *J. Comp. Neurol.* 116:71-99.
- Valverde F (1962) Reticular formation of the albino rat's brain stem. Cytoarchitecture and corticofugal connections. *J. Comp. Neurol.* 119:25-53.

- Viala D, and Buser P (1969a) The effects of DOPA and 5-HTP on rhythmic efferent discharges in hind limb nerves in the rabbit. *Brain Res* 12:437-43.
- Viala D, and Buser P (1971) [Methods of obtaining locomotor rhythms in the spinal rabbit by pharmacological treatments (DOPA, 5-HTP, D-amphetamine)]. *Brain Res* 35:151-65.
- Viala G (1967) [Variability of the configuration of efferent discharges of supraspinal origin in rabbits]. *J Physiol (Paris)* 59:307.
- Viala G, and Buser P (1969b) [Stereotyped rhythmic motor activities in the rabbit. A study of their general characteristics]. *Exp Brain Res* 8:346-63.
- Viala G, and Buser P (1974) [Inhibition of spinal locomotor activity by a special method of somatic stimulation in rabbits]. *Exp Brain Res* 21:275-84.
- Viala G, Orsal D, and Buser P (1978) Cutaneous fiber groups involved in the inhibition of fictive locomotion in the rabbit. *Exp Brain Res* 33:257-67.
- Volgyesi FA (1966) Hypnosis of man and animals. London: Ballière, Tindall and Cassel.
- Walberg F, Pompeiano O, Westrum LE, and Hauglie-Hanssen E (1962) Fastigio-reticular fibers in cat. An experimental study with silver methods. *J. Comp. Neurol.* 119:187-199.
- Waldrop TG, Bauer RM, and Iwamoto GA (1988) Microinjection of GABA antagonists into the posterior hypothalamus elicits locomotor activity and a cardiorespiratory activation. *Brain Res* 444:84-94.
- Waldrop TG, Eldridge FL, Iwamoto GA, and Mitchell JH (1996) Central neural control of respiration and circulation during exercise.: *Handbook of Physiology. Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems.* Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc., pp. 333-380.
- Waldrop TG, Mullins DC, and Henderson MC (1986) Effects of hypothalamic lesions on the cardiorespiratory responses to muscular contraction. *Respir Physiol* 66:215-24.
- Waldrop TG, Rybicki KJ, and Kaufman MP (1984) Chemical activation of group I and II muscle afferents has no cardiorespiratory effects. *J Appl Physiol* 56:1223-8.
- Waldrop TG, and Stremel RW (1989) Muscular contraction stimulates posterior hypothalamic neurons. *Am J Physiol* 256:R348-56.
- Wang RY, Tsai MW, and Chan RC (1998) Effects of surface spinal cord stimulation on spasticity and quantitative assessment of muscle tone in hemiplegic patients. *Am J Phys Med Rehabil* 77:282-7.
- Warren JB, Jennings SJ, and Clark TJ (1984) Effect of adrenergic and vagal blockade on the normal human airway response to exercise. *Clin Sci* 66:79-85.



- Webster DG, Lanthorn TH, Dewsbury DA, and Meyer ME (1981) Tonic immobility and the dorsal immobility response in twelve species of muroid rodents. *Behav Neural Biol* 31:32-41.
- Widdicombe JG (1963) Regulation of tracheobronchial smooth muscle. *Physiol. Rev.* 43:1-37.
- Widdicombe JG, and Nadel JA (1963) Reflex effects of lung inflation on tracheal volume. *J. Appl. Physiol.* 18:681-686.
- Wilson LB, Wall PT, Matsukawa K, and Mitchell JH (1992) Effect of spinal microinjections of an antagonist to substance P or somatostatin on the exercise pressor reflex. *Circ Res* 70:213-22.
- Wilson VJ, and W PB (1981) Vestibulospinal and reticulospinal systems: Handbook of Physiology. Section 1: The Nervous System. Vol. II: Motor Control part 1. Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc., pp. 667-702.
- Wolstencroft JH (1961) Effects of afferent stimulation on reticulo-spinal neurons. *J. Physiol. (Lond.)* 157:26P.
- Wolstencroft JH (1964) Reticulospinal neurons. *J. Physiol. (Lond.)* 174:91-108.
- Wong MK, Hill JM, and Kaufman MP (1995) Pressor responses to stimulation of non-NMDA receptors in the superficial laminae of the cat spinal cord. *Brain Res* 683:149-52.
- Yamuy J, Jimenez I, Morales F, Rudomin P, and Chase M (1994) Population synaptic potentials evoked in lumbar motoneurons following stimulation of the nucleus reticularis gigantocellularis during carbachol-induced atonia. *Brain Res* 639:313-9.
- Zemlan FP, Behbehani MM, and Beckstead RM (1984) Ascending and descending projections from nucleus reticularis magnocellularis and nucleus reticularis gigantocellularis: an autoradiographic and horseradish peroxidase study in the rat. *Brain Res* 292:207-20.

Nombre de références bibliographiques : 232

## **PUBLICATIONS**



Short communication

## Substance P analogues potentiate the pressor response to microinjection of L-glutamate into laminae I and II of the cat dorsal horn

Christian A. Beyaert, Janeen M. Hill, Marc P. Kaufman \*

*Division of Cardiovascular Medicine, Departments of Internal Medicine and Human Physiology, University of California, Davis, TB 172, Bioletti Way, Davis, CA 95616, USA*

Accepted 11 March 1997

### Abstract

Microinjection of a substance P analogue (1 mM; 7 or 10 nl) into laminae I and II of the L<sub>7</sub> dorsal horn of decerebrate cats significantly potentiated ( $P < 0.05$ ) the increase in arterial pressure evoked by microinjection of L-glutamate (109 mM; 7 or 10 nl) into these spinal sites. Microinjection of the substance P analogues (i.e., GR73638 and [Sar<sup>9</sup>,Met(O<sub>2</sub>)<sup>11</sup>]-substance P) which were selective NK-1 receptor agonists, had no impact on the cardioacceleration evoked by microinjection of L-glutamate ( $P > 0.05$ ). In addition, microinjection of these analogues had no effect on the modest and non-significant increase in phrenic nerve discharge evoked by L-glutamate. We conclude that stimulation of NK-1 receptors in the superficial laminae of the dorsal horn potentiates the pressor responses to microinjection of L-glutamate.

*Keywords:* Sympathetic nervous system; Neuropeptide; Excitatory amino acid; Spinal cord

Thinly myelinated and unmyelinated afferents whose endings innervate hindlimb skin, muscle, bone and joint are believed to synapse in laminae I, II and V of the dorsal horn of the spinal cord [4,5]. The spinal terminals of these thin fiber afferents are known to contain both glutamate, an excitatory amino acid, and substance P, a peptide [6,13]. The former is believed to function as a fast, short acting neurotransmitter [9,23], which acts on NMDA and AMPA receptors, whereas the latter is believed to function as a slow, long lasting neurotransmitter [20], which acts on neurokinin 1 (NK-1) receptors.

Recently, microinjection of glutamate into laminae I and II of the L<sub>7</sub> dorsal horn of either decerebrate or chloralose-anesthetized cats has been shown to increase arterial blood pressure [22]. This finding is consistent with the view that the release of L-glutamate by thin fiber afferents innervating the periphery is capable of increasing sympathetic outflow to the blood vessels. The effect of microinjection of a NK-1 receptor agonist on this pressor response to glutamate microinjection into laminae I and II of the dorsal horn is unknown. Consequently, we exam-

ined the effects of prior microinjection of a substance P analogue on the pressor, chronotropic and ventilatory responses to glutamate microinjection into laminae I and II of the dorsal horn.

Cats were anesthetized with Halothane (5%) mixed with oxygen and nitrous oxide (2:3). A carotid artery, external jugular vein and the trachea were cannulated. The cats were then decerebrated at the mid-collicular level and all neural tissue rostral to the section was removed from the cranial vault. Bleeding was controlled and the gaseous anesthetic was discontinued. The cats were placed in a Kopf spinal unit, after which a lumbar laminectomy was performed. The lungs were ventilated mechanically (Harvard) and the cats were paralyzed with pipecuronium bromide (0.2 mg/kg, i.v., every 2 h). A cervical branch of the phrenic nerve was isolated, desheathed and placed under petroleum jelly on recording electrodes. Phrenic nerve discharge was recorded (Grass P511) and integrated (Gould) using the method described by Eldridge [8]. This integral served as an index of ventilation. Arterial blood pressure was measured by attaching the carotid arterial catheter to a Statham P23XL transducer. An electrocardiogram was recorded. Heart rate was calculated beat to beat from the electrocardiogram by a Gould Biotach. Arterial blood pressure, heart rate, and integrated phrenic nerve discharge were recorded (Gould TA4000).

\* Corresponding author. Fax: +1 (916) 754-8935;  
E-mail: mpkauffman@ucdavis.edu

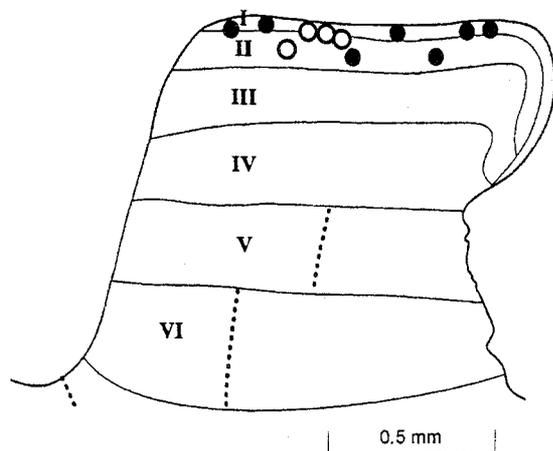


Fig. 1. Distribution of the 11 sites whose microinjection (7 or 10 nl) with L-glutamate (109 mM) increased mean arterial pressure. Closed circles ( $n = 7$ ) represent sites in which microinjection of a substance P analogue (7 or 10 nl; 1 mM) potentiated the pressor response to microinjection of L-glutamate. Open circles ( $n = 4$ ) represent sites in which microinjection of the analogue had no effect on the pressor response to L-glutamate microinjection. Schematic represents the L<sub>7</sub> dorsal horn of the cat [18].

Glass triple barrel pipettes (tip size: 30–60  $\mu\text{M}$ ) were filled with the following solutions: L-glutamate (109 mM), one of two substance P (1 mM) analogues, and Chicago Sky Blue dye (5%). The two substance P analogues were GR73632 ( $n = 3$ ) and [Sar<sup>9</sup>,Met(O<sub>2</sub>)<sup>11</sup>]-substance P ( $n = 8$ ). Both compounds are highly selective NK-1 receptor agonists [7,10]. Moreover, GR73632 is resistant to degradation by tissue peptidases [10]. The pipette was attached

to a Kopf micromanipulator and its tip was positioned near the L<sub>7</sub> dorsal root entry zone. The pipette was advanced in 100  $\mu\text{m}$  increments until the microinjection of L-glutamate (7 or 10 nl) through the first barrel evoked a pressor response. If an increase in arterial pressure was observed, 20 min later the same volume of L-glutamate was again microinjected. If this second application of L-glutamate evoked a pressor response almost identical to that evoked by the first application, then after a 20 min interval a substance P analogue (7 or 10 nl) was microinjected through the second barrel of the pipette. The volume of substance P analogue that was microinjected always equaled that of the L-glutamate injected. Finally, L-glutamate was microinjected a third time, and the interval between this microinjection and the previous microinjection of the analogue to substance P averaged  $265 \pm 119$  s (range: 73 to 1500 s). Mean arterial pressure, heart rate and the integral of phrenic nerve discharge were recorded for 2 min before, during, and for 2 min after each microinjection.

At the end of the experiment, Chicago Sky Blue dye (10–50 nl) was microinjected through the third barrel of the pipette to mark the site under study. The spinal cord was removed, placed in formyl saline for 48 h, and subsequently frozen and sectioned (40  $\mu\text{M}$ ). The dye spot was found to confirm that each site was in either lamina I or II.

All values are reported as mean  $\pm$  S.E.M. Significance was determined with a repeated measures ANOVA. Sheffé post-hoc tests were used where appropriate [16]. The criterion for significance was  $P < 0.05$ .

Table 1

Potentiating effect of microinjection of a substance P analogue (Sub P) on the pressor response to microinjection of L-glutamate into laminae I and II of the dorsal horn

		Glut 1	Glut 2	Sub P	Glut 3
Mean arterial pressure (mmHg)	baseline	134 $\pm$ 8	136 $\pm$ 8	138 $\pm$ 8	140 $\pm$ 7
	peak	144 $\pm$ 9 <sup>a</sup>	147 $\pm$ 9 <sup>a</sup>	143 $\pm$ 9	158 $\pm$ 9 <sup>b</sup>
	onset latency (s)	3.2 $\pm$ 0.3	2.9 $\pm$ 0.4	–	2.5 $\pm$ 0.4
	peak latency (s)	13.5 $\pm$ 1.8	12.4 $\pm$ 1.5	–	10.3 $\pm$ 0.8
	<i>n</i>	11	11	11	11
	Heart rate (b.p.m.)	baseline	211 $\pm$ 15	220 $\pm$ 14	220 $\pm$ 16
peak		218 $\pm$ 14 <sup>a</sup>	225 $\pm$ 13	222 $\pm$ 15	229 $\pm$ 14 <sup>a</sup>
onset latency (s)		1.2 $\pm$ 0.4	–	–	1.1 $\pm$ 0.7
peak latency (s)		9.3 $\pm$ 1.7	–	–	7.4 $\pm$ 1.0
<i>n</i>		11	11	11	11
Phrenic nerve discharge (% of baseline)		baseline	100	100	100
	peak	113 $\pm$ 7	112 $\pm$ 9	101 $\pm$ 1	107 $\pm$ 4
	onset latency (s)	–	–	–	–
	peak latency (s)	–	–	–	–
	<i>n</i>	11	11	10	10

Values are means  $\pm$  S.E.M.; *n*, number of sites. Onset and peak latencies were calculated from the end of microinjection, which took 1–3 s. Note that the values represent seven sites from which microinjection of a substance P analogue potentiated the pressor response to microinjection of L-glutamate and four sites from which microinjection of the analogue had no effect on this pressor response

<sup>a</sup> Significant difference ( $P < 0.05$ ) between baseline and peak effect.

<sup>b</sup> Significant difference ( $P < 0.05$ ) between the pressor response to the third microinjection of L-glutamate (Glut 3) and the pressor response to either the first (Glut 1) or second (Glut 2) microinjection of this amino acid.

L-Glutamate, microinjected into laminae I and II of the dorsal horn, evoked significant ( $P < 0.05$ ) and repeatable increases in mean arterial pressure in each of 11 sites (1 from each cat; Fig. 1). The first microinjection of L-glutamate increased heart rate ( $P < 0.05$ ), but the second did not ( $P > 0.05$ ; Table 1). L-Glutamate microinjection had no significant ( $P > 0.05$ ) effect on phrenic nerve discharge when averaged for the 11 sites (Table 1). Nevertheless, L-glutamate microinjection did increase heart rate and phrenic nerve discharge in seven of the 11 sites giving rise to pressor responses (Fig. 2). Subsequent microinjection of a substance P analogue into these 11 sites had no significant effect on any of the variables measured (Table 1). The third microinjection of L-glutamate, which on average occurred about 4.5 min after the microinjection of a substance P analogue, evoked a pressor response that was significantly greater ( $P < 0.05$ ) than that evoked by either of the first two microinjections of L-glutamate. This 'potentiation' by a substance P analogue of the pressor response to L-glutamate microinjection was found in seven of the 11 sites (Fig. 3); moreover, it was significant ( $P < 0.05$ ) when averaged for all the sites tested (i.e.,  $n = 11$ ; Table 1). In two cats, L-glutamate was microinjected 75 and 95 s after substance P was microinjected. Microinjection of L-glutamate at this time evoked an increase in arterial pressure that was no different than that evoked by microinjection of L-glutamate before substance P was introduced into the dorsal horn. Subsequent microinjection of L-glutamate about 20 min after microinjection of substance P yielded a 'potentiated' pressor response in these two cats.

Of the 11 sites tested, eight were microinjected with

[Sar<sup>9</sup>,Met(O<sub>2</sub>)<sup>11</sup>]-substance P and the remaining three with GR73632. The former compound potentiated the pressor response to microinjection of L-glutamate in five of the eight sites tested, while the latter compound potentiated this response to L-glutamate in two of the three sites tested. The effects caused by the two compounds were very similar and, therefore, the data obtained with the two were combined (i.e., Table 1, Figs. 1 and 3).

In three experiments, which served as controls, saline (7 or 10 nl) instead of a substance P analogue was microinjected into laminae I and II of the dorsal horn. The pH of the saline solution was 2.8, the same as that of the solutions containing the substance P analogue and L-glutamate. Microinjection of saline by itself had no effect on mean arterial pressure, heart rate, or phrenic nerve discharge. Moreover, it did not have any effect on the pressor response to microinjection of L-glutamate. For example, before microinjection of saline, microinjection of L-glutamate increased mean arterial pressure from  $143 \pm 7$  to  $152 \pm 6$  mmHg; afterwards, microinjection of this excitatory amino acid increased mean arterial pressure from  $137 \pm 7$  to  $145 \pm 6$  mmHg ( $n = 3$ ). Microinjection of saline had no impact on the ventilatory or chronotropic effects of microinjection of L-glutamate.

We have shown that microinjection of substance P analogues, which were selective NK-1 receptor agonists, potentiated the pressor response to microinjection of L-glutamate into the superficial laminae (i.e., I and II) of the cat's L<sub>7</sub> dorsal horn. The magnitude of this pressor response to L-glutamate was modest, an effect which is probably attributable to the fact that small volumes, and as a consequence, small amounts of L-glutamate were mi-

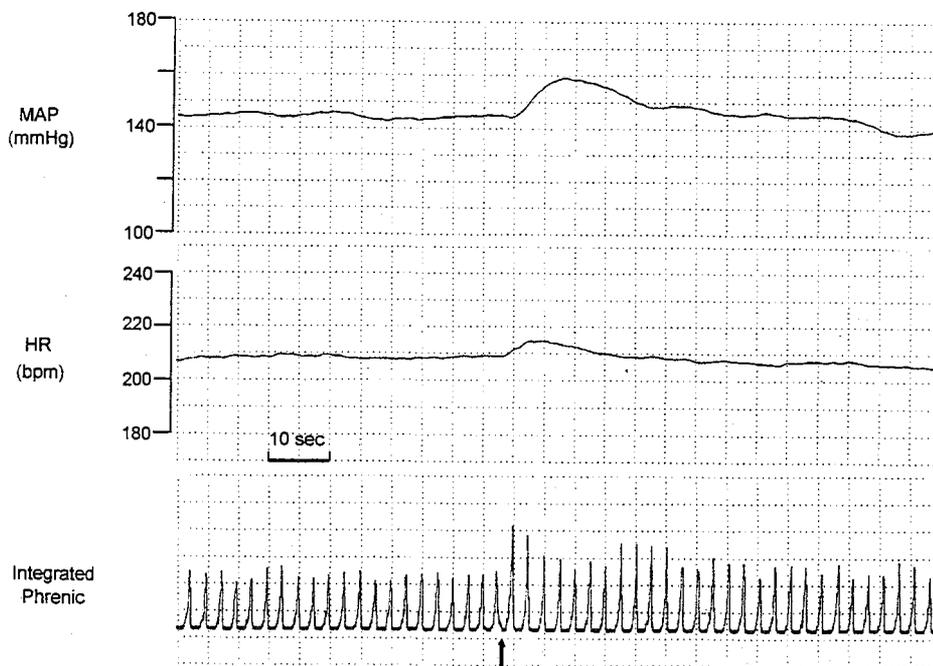


Fig. 2. Microinjection of L-glutamate (10 nl; 109 mM) into the superficial laminae of the L<sub>7</sub> dorsal horn increased mean arterial pressure (MAP), heart rate (HR), and phrenic nerve discharge. The microinjection is signaled by the arrow.

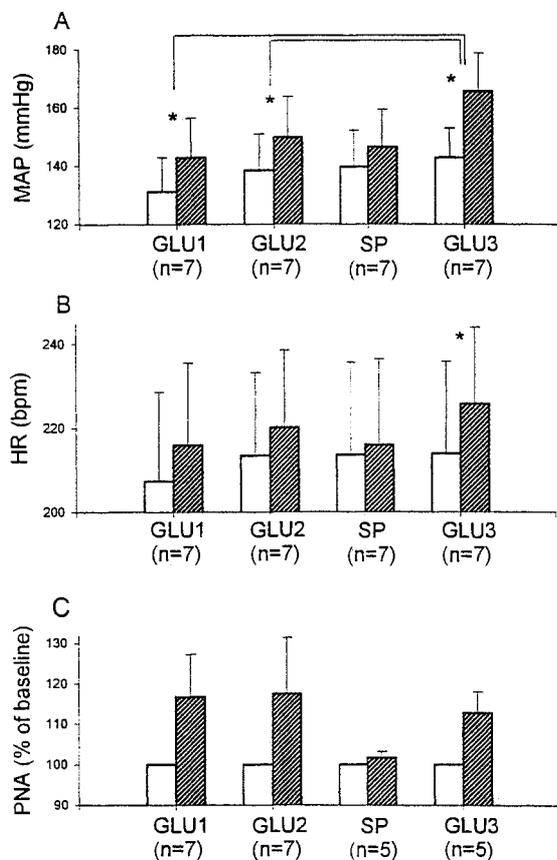


Fig. 3. Effect of microinjection of a substance P analogue (7 or 10 nl; 1 mM) on the pressor, chronotropic and ventilatory responses to microinjection of L-glutamate (7 or 10 nl; 109 mM) into the superficial laminae of the L<sub>7</sub> dorsal horn. Data represent seven sites in which microinjection of the analogue potentiated the pressor response to microinjection of L-glutamate. Open bars represent mean baseline values and hatched bars represent mean peak values in response to microinjection of either L-glutamate (Glu) or a substance P analogue (SP). Vertical brackets placed on top of the bars represent standard errors. Asterisks represent significant difference ( $P < 0.05$ ) between mean baseline value and its corresponding mean peak value. Horizontal brackets represent significant difference ( $P < 0.05$ ) between the pressor response to the third microinjection of L-glutamate (Glu 3) and either the first (Glu 1) or second (Glu 2) microinjection of this excitatory amino acid. Note that in these seven sites microinjection of a substance P analogue had no statistical effect on the heart rate or ventilatory effects evoked by microinjection of L-glutamate.

croinjected. We used these small volumes in an attempt to minimize spread and limit the microinjection to laminae I and II of the dorsal horn. These small volumes may also explain why microinjection of L-glutamate did not, on average, increase phrenic nerve discharge. In our preparation, the threshold for evoking a pressor response might be lower than that for evoking a ventilatory response, speculation which has a parallel in the human literature. Specifically, the pressor component of the muscle chemoreflex arising from the leg has a lower threshold than does the cardioaccelerator component [2,3].

Microinjection of a substance P analogue into the superficial laminae of the dorsal horn had no effect on mean

arterial pressure, heart rate and phrenic nerve discharge. These observations are consistent with those found by Wilson, et al., [21], who reported that intrathecal injections of substance P in chloralose-anesthetized cats had no effect on arterial pressure, heart rate and renal nerve discharge. One interpretation of these findings is that the primary role of substance P in the superficial laminae of the dorsal horn is to amplify the actions of excitatory amino acids, such as L-glutamate. This interpretation must be made cautiously, however, because we microinjected only one volume and concentration of a substance P analogue into the superficial laminae of the dorsal horn.

Nevertheless, this interpretation is quite similar to the one offered in electrophysiological studies about the roles played by L-glutamate and substance P in exciting isolated dorsal horn neurons taken from laminae I through III [17,19]. In these studies, substance P potentiated the L-glutamate inward current in 65% of the cells tested [17]. The potentiating effect exerted by substance P appeared to be due for the most part, to an effect on NMDA receptors, but an effect on AMPA receptors was also shown to be possible [19].

L-Glutamate and substance P have been shown to play important roles in the spinal transmission of a pressor reflex which is initiated by static contraction of hindlimb skeletal muscle [1,11,12,21]. The afferent arm of this reflex arc is comprised of the activation of group III (A $\sigma$ ) and IV (C) fibers with endings in the triceps surae muscles [14,15]. It is reasonable to speculate that at least some of these group III and IV afferents release glutamate and substance P at their synapses with dorsal horn cells in the superficial laminae of the spinal cord [5]. The data presented in this study may provide a basis whereby L-glutamate and substance P interact in the dorsal horn to increase sympathetic outflow to arterioles, an effect which could result in an increase in arterial blood pressure.

#### Acknowledgements

This research was supported by National Institutes of Health Grant HL30710. We thank Ms. Penny Jones for typing the manuscript.

#### References

- [1] C.M. Adreani, J.M. Hill, M.P. Kaufman. Intrathecal blockade of both NMDA and non-NMDA receptors attenuates the exercise pressor reflex in cats. *J. Appl. Physiol.* 80 (1996) 315–322.
- [2] M. Alam, F.H. Smirk, Observation in man upon a blood pressure raising reflex arising from the voluntary muscles. *J. Physiol.* 89 (1937) 372–383.
- [3] M. Alam, F.H. Smirk, Observations in man on a pulse-accelerating reflex from the voluntary muscles of the legs. *J. Physiol.* 3 (1938) 247–252.
- [4] F. Cervero, A. Iggo, The substantia gelatinosa of the spinal cord: A critical review. *Brain* 103 (1980) 717–772.

- [5] A.D. Craig, S. Mense, The distribution of afferent fibers from the gastrocnemius-soleus muscle in the dorsal horn of the cat as revealed by the transport of horseradish peroxidase, *Neurosci. Lett.* 41 (1983) 233–238.
- [6] S. DeBiasi, A. Rustioni, Glutamate and substance P co-exist in primary afferent terminals in the superficial laminae of the spinal cord, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83 (1988) 7820–7824.
- [7] G. Drapeau, P. D'Orleans-Juste, S. Dion, N.E. Rhaleb, N.E. Rovissi, D. Regoli, Selective agonists for substance P and neurokinin receptors, *Neuropeptides* 10 (1987) 43–54.
- [8] F.L. Eldridge, Relationship between phrenic nerve activity and ventilation, *Am. J. Physiol.* 221 (1971) 535–543.
- [9] G. Gerber, M. Randic, Excitatory amino acid-mediated components of synaptically evoked input from dorsal roots to deep dorsal horn neurons in the rat spinal cord slice, *Neurosci. Lett.* 106 (1989) 211–219.
- [10] R.M. Hagan, S.S. Ireland, C.C. Jordan, I.J. Beresford, M.J. Deal, P. Ward, Receptor-selective, peptidase-resistant agonists at neurokinin NK-1 and NK-2 receptors. New tools for investigating neurokinin function, *Neuropeptides* 19 (1991) 127–135.
- [11] J.M. Hill, J.G. Pickar, M.P. Kaufman, Attenuation of reflex pressor and ventilatory responses to static contraction by an NK-1 receptor antagonist, *J. Appl. Physiol.* 73 (1992) 1389–1395.
- [12] J.M. Hill, J.G. Pickar, M.P. Kaufman, Blockade of non-NMDA receptors attenuates reflex pressor response to static contraction, *Am. J. Physiol.* 266 (1994) H1769–H1776.
- [13] T. Hökfelt, J.O. Kellerth, G. Nilsson, B. Pernow, Substance P: Localization in the central nervous system and in some primary sensory neurons, *Science* 190 (1975) 889–890.
- [14] M.P. Kaufman, J.C. Longhurst, K.J. Rybicki, J.H. Wallach, J.H. Mitchell, Effects of static muscular contraction on impulse activity of groups III and IV afferents in cats, *J. Appl. Physiol.* 55 (1983) 105–112.
- [15] D.I. McCloskey, J.H. Mitchell, Reflex cardiovascular and respiratory responses originating in exercising muscle, *J. Physiol.* 224 (1972) 173–186.
- [16] J.L. Myers, *Fundamentals of Experimental Design*, Allyn and Bacon, Boston, MA, 1966.
- [17] M. Randic, H. Hecimovic, P.D. Ryu, Substance P modulates glutamate-induced currents in acutely isolated rat spinal dorsal horn neurones, *Neurosci. Lett.* 117 (1990) 74–80.
- [18] B. Rexed, A cytoarchitectonic atlas of the spinal cord, *J. Comp. Neurol.* 100 (1954) 297–379.
- [19] K.I. Rusin, P.D. Ryu, M. Randic, Modulation of excitatory amino acid responses in rat dorsal horn neurons by tachykinins, *J. Neurophysiol.* 68 (1992) 265–286.
- [20] L. Urban, M. Randic, Slow excitatory transmission in rat dorsal horn: Possible mediation by peptides, *Brain Res.* 290 (1984) 336–341.
- [21] L.B. Wilson, P.T. Wall, K. Matsukawa, J.H. Mitchell, The effect of spinal microinjections of an antagonist to substance P or somatostatin on the exercise pressor reflex, *Circ. Res.* 70 (1992) 213–222.
- [22] M.K.C. Wong, J.M. Hill, M.P. Kaufman, Pressor responses to stimulation of non-NMDA receptors in the superficial laminae of the cat spinal cord, *Brain Res.* 683 (1995) 149–152.
- [23] M. Yoshimura, T. Jessell, Amino acid-mediated EPSPs at primary afferent synapses with substantia gelatinosa neurones in the rat spinal cord, *J. Physiol.* 430 (1990) 315–335.

# Effect on airway caliber of stimulation of the hypothalamic locomotor region

CHRISTIAN A. BEYAERT, JANEEN M. HILL, BROCK K. LEWIS, AND MARC P. KAUFMAN  
*Division of Cardiovascular Medicine, Departments of Internal Medicine  
and Human Physiology, University of California, Davis, California 95616*

**Beyaert, Christian A., Janeen M. Hill, Brock K. Lewis, and Marc P. Kaufman.** Effect on airway caliber of stimulation of the hypothalamic locomotor region. *J. Appl. Physiol.* 84(4): 1388–1394, 1998.—Airway dilation is one of the many autonomic responses to exercise. Two neural mechanisms are believed to evoke these responses: central command and the muscle reflex. Previously, we found that activation of central command, evoked by electrical and chemical stimulation of the mesencephalic locomotor region, constricted the airways rather than dilated them. In the present study we examined in decerebrate paralyzed cats the role played by the hypothalamic locomotor region, the activation of which also evokes central command, in causing the airway dilator response to exercise. We found that activation of the hypothalamic locomotor region by electrical and chemical stimuli evoked fictive locomotion and, for the most part, airway constriction. Fictive locomotion also occurred spontaneously, and this too, for the most part, was accompanied by airway constriction. We conclude that central command plays a minor role in the airway dilator response to exercise.

dynamic exercise; autonomic nervous system; cholinergic pathways; cats;  $\beta$ -adrenergic pathways

DYNAMIC EXERCISE EVOKES a large number of cardiovascular and respiratory responses (19), one of which is airway dilation (8, 15, 27). The neural mechanism responsible for the exercise-induced airway dilation is not known, but central command is an important candidate and is defined as the parallel activation of locomotor, ventilatory, and autonomic circuits at the onset of exercise (12). Central command is not dependent on feedback from the periphery (5).

In animals, central command can be simulated by activation of two sites: the cuneiform nucleus of the midbrain (5, 6, 21) and in or near the  $H_2$  field of Forel of the posterior hypothalamus (5, 23). The former site has been termed the mesencephalic locomotor region and the latter the hypothalamic locomotor region (HLR) (25). In a recent study our laboratory showed that electrical and chemical stimulation of the mesencephalic locomotor region increased total lung resistance, an effect that was caused by the activation of cholinergic receptors on airway smooth muscle (16).

This finding was surprising because it provided no support for the hypothesis that central command contributed to the airway dilation evoked by dynamic exercise. In the present study we have sought support for this hypothesis by stimulating the other central command site, i.e., the HLR. In addition, we have examined the effect of fictive locomotion, occurring spontaneously, on airway caliber.

## METHODS

**General.** For anesthesia, cats were placed in a plastic box into which flowed a halothane (5%)-nitrous oxide and oxygen gas mixture. After they were anesthetized, the cats were removed from the box and inhaled the gas mixture through a nose cone. The cervical trachea was cannulated, and the lungs were ventilated mechanically with a halothane (3%)-nitrous oxide and oxygen gas mixture. One common carotid artery and jugular vein were cannulated. The chest was opened by placing bilateral incisions between the ribs. The expiratory outlet of the ventilator was placed under 1–2  $\text{cmH}_2\text{O}$  to prevent collapse of the lungs. The cats were placed in a Kopf stereotaxic instrument and were then decerebrated by a blunt spatula passed at a  $70^\circ$  angle through the brain stem. The incision started 7 mm anterior to the sulcus between the superior and inferior colliculi. All neural tissue rostral to the section was removed, bleeding was controlled, and the cranial vault was filled with agar. After the decerebration the halothane and nitrous oxide were removed from the gas mixture ventilating the lungs and were replaced with room air, which was supplemented with oxygen.

The biceps femoris nerve was exposed and sectioned. The central cut end of this nerve, which supplies the hamstring muscles of the hindlimb, was covered with petroleum jelly and mineral oil and was placed on a bipolar hook recording electrode. Similarly, the  $C_5$  rootlet of the phrenic nerve was exposed and cut, and its central end was placed on a bipolar hook recording electrode. Both electrodes were connected to high-impedance probes (model HIP511, Grass), which in turn were connected to preamplifiers (model P511, Grass). The signals from both nerves were viewed on an oscilloscope and integrated (see below).

Airflow was measured by a heated pneumotach (no. 00, Fleisch) that was placed between the ventilator and the tracheal cannula. The pneumotach was connected to a differential pressure transducer (model DP45-24, Validyne). Transpulmonary pressure was measured with a differential pressure transducer (model DP45-14, Validyne), one end of which was connected to a side port in the tracheal cannula; the other end was left open to the atmosphere. Total lung resistance and dynamic compliance were calculated breath by breath with a Po-ne-mah digital acquisition, analysis, and archive system (version 1.0). The method of Amdur and Mead (2) formed the basis for these calculations. Arterial blood pressure was measured by connecting the cannula in the carotid artery to a transducer (model P23XL, Statham). Heart rate was calculated beat to beat from the arterial pressure pulse by the Po-ne-mah system.

**Protocols.** Before attempting to collect any data, we paralyzed the cats with pipecuronium bromide (0.2 mg/kg iv). We then stimulated the HLR (10–20 Hz, 0.75 ms, 50–150  $\mu\text{A}$ ) and selected the minimum current intensities that produced fictive locomotion. Our index of airway caliber was total lung resistance. The HLR was stimulated with a monopolar stainless steel electrode (model SNE-100, Rhodes); the indifferent electrode was an alligator clip attached to the scalp. A Grass S88 stimulator attached to a PSIU-6 constant-current unit

was used to pass current through the stimulating electrode. At the end of the study, anodal current (4 mA, 10 s) was passed through the electrode tip to mark stimulation sites. The Prussian blue reaction was used to visualize sites.

In three cats the HLR was stimulated chemically as well as electrically. Specifically, picrotoxin (8 mM) was microinjected through one barrel of a double-barreled glass pipette, which in turn was connected to a picospritzer (General Valve). In two cats the volume microinjected into the HLR was 200 nl, and in the remaining one it was 100 nl. The interval between microinjection of picrotoxin and subsequent electrical stimulation was ~20 min. The other barrel of the pipette contained Chicago sky blue (2%), which was microinjected (100 nl) at the end of the study to mark the site. The HLR was identified using functional criteria, i.e., the elicitation of rhythmic bursts of activity from the biceps femoris nerve (i.e., fictive locomotion) and increases in arterial pressure, heart rate, and phrenic nerve discharge when the posterior hypothalamus was stimulated chemically or electrically (5, 25). In some instances the tibial nerve was stimulated electrically (10–20 Hz, 0.75 ms, 8 mA) and total lung resistance was assessed.

**Data analysis.** Control values for total lung resistance and dynamic compliance were determined by averaging values "breath by breath" for the 20 ventilatory cycles preceding the onset of stimulation. The peak response to stimulation was determined by averaging five consecutive "breaths" that displayed the largest change from control values during

fictive locomotion. Control values for arterial pressure and heart rate were taken as the steady-state values; peak responses were taken as the highest values observed during fictive locomotion. Phrenic nerve discharge was integrated and quantified using the method described by Eldridge (4). Briefly, activity was integrated (Gould) by a sample-and-hold function that reset every 100 ms. Biceps femoris nerve discharge was integrated in the same way as was phrenic nerve discharge, except activity was summed over 5-s periods.

Values are means  $\pm$  SE. A one-way ANOVA was used to determine statistical significance. The criterion for significance was  $P < 0.05$ .

## RESULTS

**Electrical stimulation of the HLR.** Electrical stimulation of the posterior hypothalamus evoked fictive locomotion in 23 paralyzed, decerebrate cats. On average, total lung resistance increased during fictive locomotion from a baseline value of  $29.0 \pm 1.4$  to a peak value of  $31.6 \pm 1.8$  cmH<sub>2</sub>O $\cdot$ l<sup>-1</sup> $\cdot$ s ( $P < 0.01$ ,  $n = 23$ ). Dynamic compliance decreased during fictive locomotion in these 23 cats from a baseline value of  $4.08 \pm 0.18$  to a peak value of  $3.87 \pm 0.19$  ml/cmH<sub>2</sub>O ( $P < 0.01$ ). As expected, mean arterial pressure increased (from  $143 \pm 5$  to  $194 \pm 5$  mmHg,  $P < 0.01$ ) as did heart rate (from  $210 \pm$

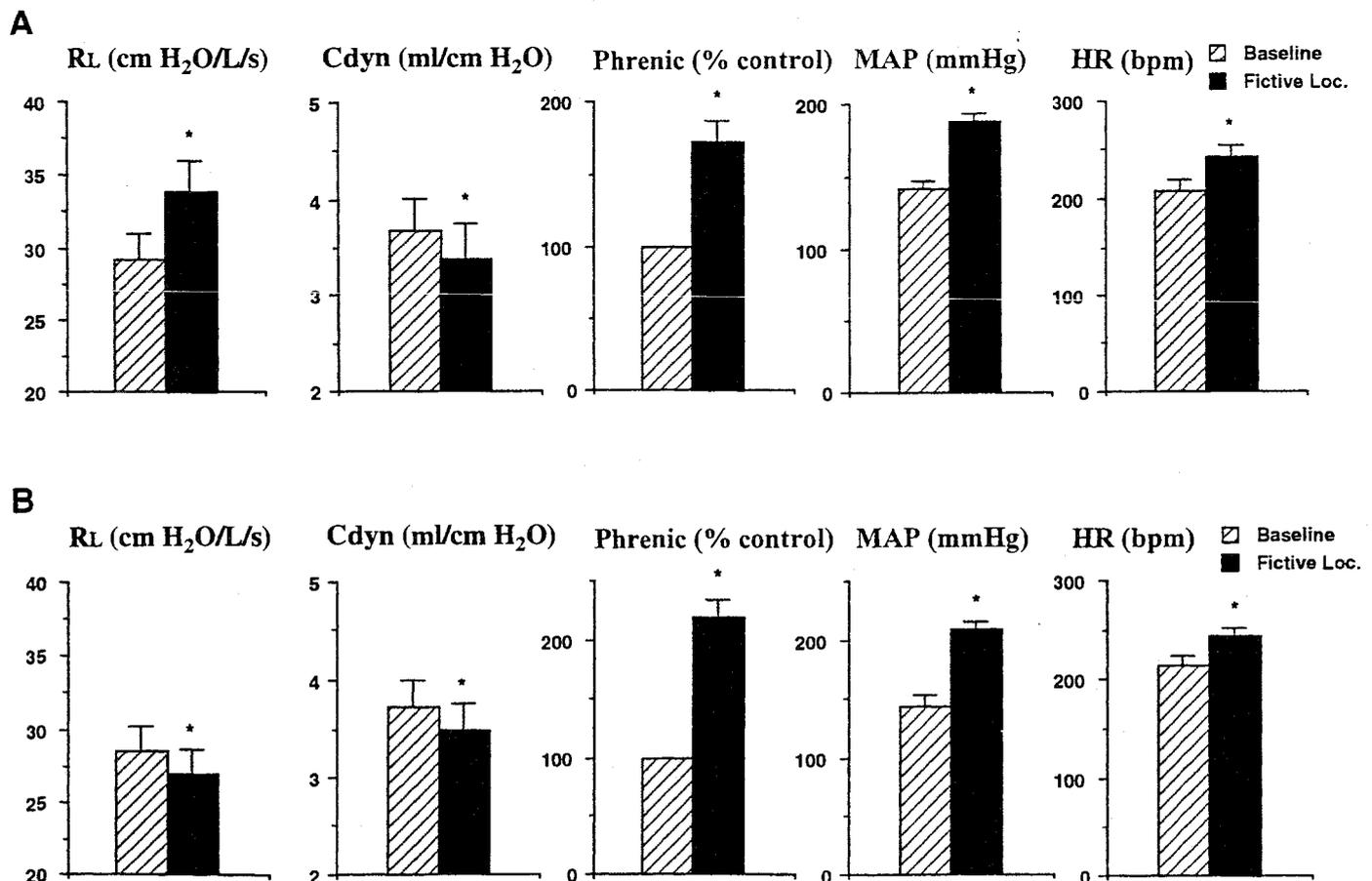


Fig. 1. Airway, phrenic nerve, and cardiovascular responses to electrical stimulation of hypothalamic locomotor region. A: data from 16 cats in which stimulation of hypothalamic locomotor region caused airways to constrict. B: data from 7 cats in which stimulation of this region caused airways to dilate. RL, total lung resistance; Cdyn, dynamic compliance; MAP, mean arterial pressure; HR, heart rate; Loc, locomotion; bpm, beats/min. \* Significantly different ( $P < 0.05$ ) from baseline.

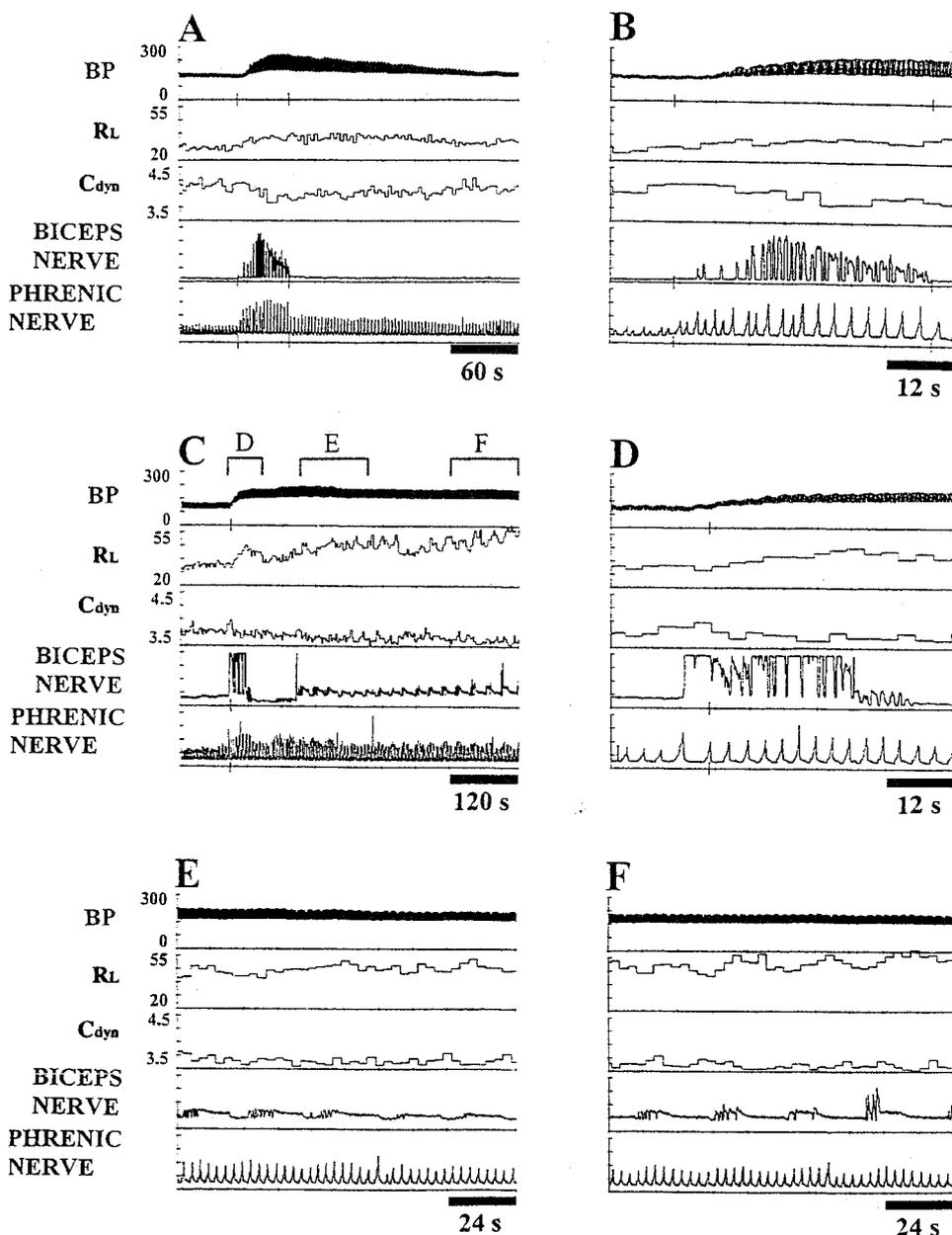


Fig. 2. Airway responses to electrical and chemical stimulation of hypothalamic locomotor region. *A* and *B*: responses to electrical stimulation of hypothalamic locomotor region on 2 different time scales. Electrical stimulation occurred between 1st and 2nd vertical lines on time base. *C-F*: responses of hypothalamic locomotor region to chemical stimulation (i.e., microinjection with 200 nl of 8 mM picrotoxin). *C*: slow time base; *D*: time period in *C* labeled *D*. In *C*, sensitivity of amplifier receiving input from biceps femoris nerve was first adjusted downward and then upward. Downward shift can be seen in *D* as well. *E* and *F*: responses to chemical injection of picrotoxin into hypothalamic locomotor region during time periods in *C* labeled *E* and *F*. In *E* and *F*, every burst of "locomotor" activity from biceps femoris nerve evokes increases in total lung resistance. BP, blood pressure in mmHg. RL is expressed in  $\text{cmH}_2\text{O}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{s}$  and C<sub>dyn</sub> in  $\text{ml}/\text{cmH}_2\text{O}$ . All traces are from the same cat.

9 to  $244 \pm 8$  beats/min,  $P < 0.01$ ) and phrenic nerve discharge ( $187 \pm 15\%$  of baseline,  $P < 0.01$ ).

In 16 of the 23 cats studied, total lung resistance increased during fictive locomotion, whereas in the remaining 7 cats, total lung resistance decreased (Figs. 1, 2, *A* and *B*, and 3, *A* and *B*). The delay between the onset of fictive locomotion and the onset of the increase in total lung resistance ( $n = 16$ ) was  $2.1 \pm 0.9$  s. Similarly, the delay between the onset of fictive locomotion and the onset of the pressor response in cats displaying an increase in total lung resistance was only  $0.1 \pm 0.3$  s.

The delay between the onset of fictive locomotion and the onset of the decrease in total lung resistance ( $n = 7$ ) was  $-1.9 \pm 1.1$  s. In other words, the decrease in total lung resistance began  $1.9 \pm 1.1$  s before the onset of fictive locomotion in the cats showing a decrease in total lung resistance. Moreover, the increase in arterial pressure began  $3.3 \pm 1.7$  s before the onset of fictive locomotion.

We examined the effects of nadolol (1 mg/kg iv), a  $\beta$ -adrenergic antagonist, followed by atropine methyl nitrate (1 mg/kg iv), a muscarinic antagonist, on the airway, phrenic, and cardiovascular responses to fictive locomotion. These antagonists were given sequentially to 8 of the 16 cats showing an increase in total lung resistance in response to fictive locomotion (Fig. 4) as well as to 4 of the 7 cats showing a decrease in total lung resistance (Fig. 5). We found that nadolol increased the airway constriction evoked by fictive locomotion in the former group of cats and converted the airway dilation evoked by fictive locomotion to a constriction in the latter group. Atropine abolished all airway effects evoked by fictive locomotion.

**Chemical stimulation of the HLR.** In three cats, we compared the airway, phrenic, and cardiovascular responses to microinjection of picrotoxin (8 mM) into the HLR with the responses to electrical stimulation of the

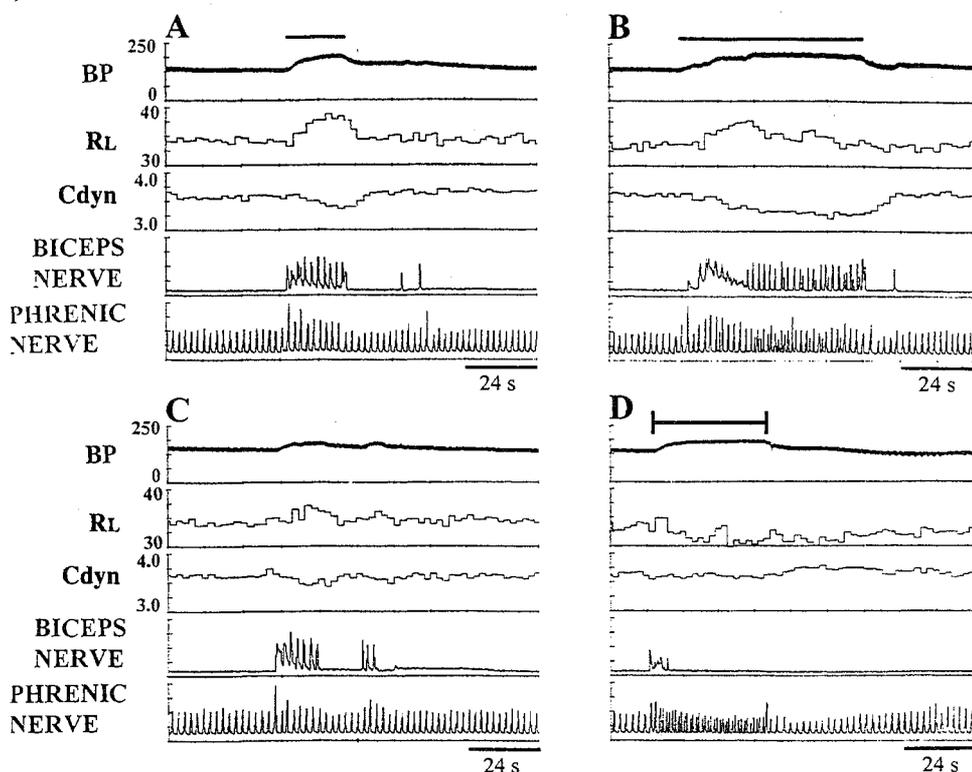


Fig. 3. Airway responses to electrically induced and spontaneously occurring fictive locomotion. A and B: responses to electrical stimulation of hypothalamic locomotor region, a maneuver that in turn caused fictive locomotion. Airways constricted during both trials, one of which was longer than the other. Horizontal bars above traces, period of stimulation. C: airway response to spontaneously occurring fictive locomotion. Airways constricted and phrenic nerve activity and blood pressure increased during period of spontaneous locomotion, which is depicted by activity from biceps femoris nerve. D: electrical stimulation of tibial nerve evoked airway dilation (i.e., decreased total lung resistance). Bracket above trace, period of stimulation. BP is expressed in mmHg, RL in  $\text{cmH}_2\text{O}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{s}$ , and Cdyn in  $\text{ml}/\text{cmH}_2\text{O}$ . All traces are from the same cat.

HLR. In each of the three cats tested, picrotoxin microinjection and electrical stimulation increased total lung resistance, increased mean arterial pressure, increased heart rate, increased phrenic nerve discharge, and decreased dynamic compliance (Fig. 2, C-F). The picrotoxin-induced fictive locomotion was long lasting and averaged  $23.7 \pm 3.7$  min. Fictive

locomotion started  $7 \pm 1.7$  min after the last microinjection of picrotoxin.

*Spontaneous fictive locomotion.* In seven paralyzed cats, fictive locomotion occurred spontaneously, i.e., without electrical or chemical stimulation of the HLR. In five of these cats, total lung resistance increased significantly ( $P < 0.05$ ; Table 1, Fig. 3C), whereas in

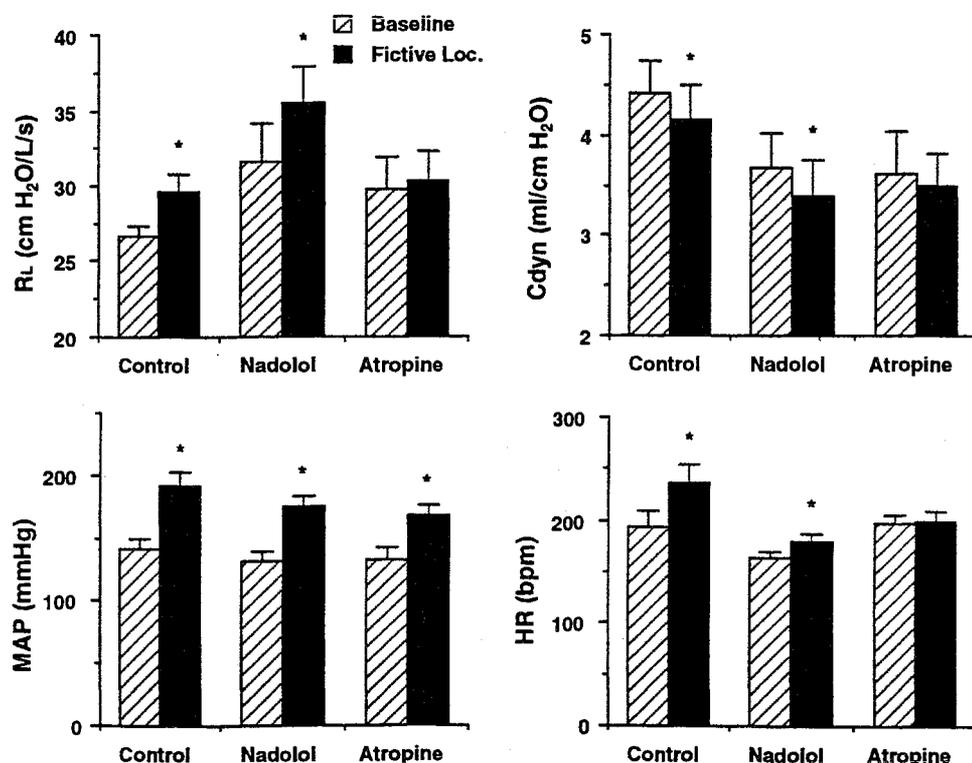


Fig. 4. Airway and cardiovascular responses to electrical stimulation of hypothalamic locomotor region before and after autonomic blockade in 8 cats in which airways constricted in response to this maneuver. \*Significantly different ( $P < 0.05$ ) from baseline.

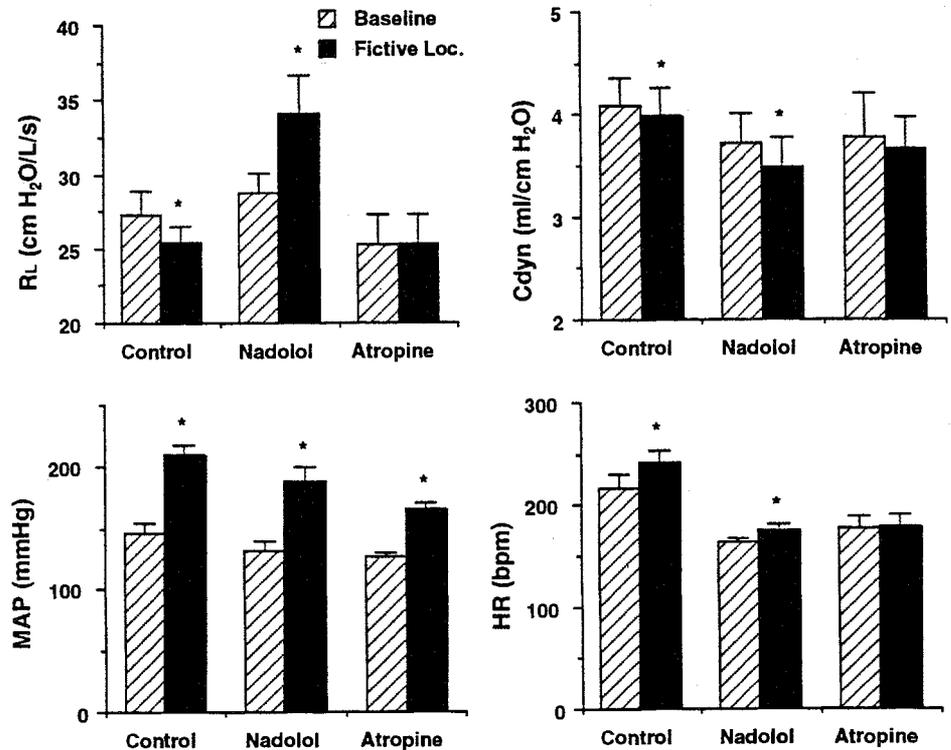


Fig. 5. Airway and cardiovascular responses to electrical stimulation of hypothalamic locomotor region before and after autonomic blockade in 5 cats in which airways dilated in response to this maneuver. \*Significantly different ( $P < 0.05$ ) from baseline.

two it decreased slightly (data not shown). Fictive locomotion evoked by electrical stimulation of the HLR changed total lung resistance in the same direction as did spontaneous fictive locomotion in six of the cats (Fig. 3B). In the one remaining cat we were unable to evoke fictive locomotion by electrical stimulation of the HLR, even though it occurred spontaneously. In each of the seven cats studied, spontaneous and electrically induced fictive locomotion increased mean arterial pressure, heart rate, and phrenic nerve discharge. The magnitude of these increases appeared to be the same as in cats displaying an increase in total lung resistance and in cats displaying a decrease in total lung resistance.

Table 1. Effects of spontaneous fictive locomotion and fictive locomotion induced by electrical stimulation of HLR on airway, ventilatory, and cardiovascular function

	SF (n = 5)		HLR (n = 4)	
	Baseline	Peak response	Baseline	Peak response
RL, cmH <sub>2</sub> O·l <sup>-1</sup> ·s	30.9 ± 4.5*	35.1 ± 5.8	30.7 ± 5.0*	35.0 ± 6.2
Cdyn, ml/cmH <sub>2</sub> O	4.17 ± 0.65*	3.97 ± 0.60	3.52 ± 0.19	3.39 ± 0.14
MAP, mmHg	147 ± 12.4*	173 ± 9.4	142 ± 15.4	173 ± 6.1
HR, beats/min	227 ± 7.6*	246 ± 18.6	234 ± 19.7	257 ± 20.4
PNA, %baseline	100	134 ± 12	100	148 ± 10

Values are means ± SE from 5 cats displaying an increase in total lung resistance (RL) during spontaneous fictive (SF) locomotion; in 1 cat, electrical stimulation did not evoke fictive locomotion; thus data from hypothalamic locomotor region (HLR) are from 4 cats. Cdyn, dynamic compliance; MAP, mean arterial pressure; HR, heart rate; PNA, phrenic nerve activity. \*Significantly different ( $P < 0.05$ ) from peak response.

**Histology.** Histological analysis revealed that all sites, stimulated electrically or chemically, were in the HLR as defined previously (5, 25) (Fig. 6).

**Tibial nerve stimulation.** In 16 paralyzed cats the tibial nerve was stimulated electrically with current intensities that recruited C fibers. In 12 of the 16 cats, total lung resistance decreased (from  $29.4 \pm 2.9$  to  $25.3 \pm 1.9$  cmH<sub>2</sub>O·l<sup>-1</sup>·s,  $P < 0.05$ ), and in the remaining 4 cats it increased (from  $29.9 \pm 2.8$  to  $32.5 \pm 3.0$  cmH<sub>2</sub>O·l<sup>-1</sup>·s,  $P < 0.05$ ). For the group as a whole, (i.e.,  $n = 16$ ), tibial nerve stimulation significantly decreased total lung resistance (from  $29.6 \pm 2.2$  to  $27.1 \pm 1.7$  cmH<sub>2</sub>O·l<sup>-1</sup>·s,  $P < 0.05$ ). In every instance, tibial nerve stimulation increased mean arterial pressure and phrenic nerve discharge.

## DISCUSSION

We have examined the role of the HLR in the control of airway caliber. Specifically, we tested the hypothesis that activation of this region is responsible for the airway dilation seen during dynamic exercise (8, 15, 27). Our requirements for the successful activation of the HLR, and therefore central command, were based on functional criteria. These included increases in mean arterial pressure, increases in heart rate, increases in phrenic nerve discharge, and fictive locomotion, each of which must have occurred for the data to be included in our analysis.

Overall, our data were not supportive of the hypothesis that the HLR plays an important role in causing the airway dilation evoked by dynamic exercise. For example, in ~70% of the 23 cats tested, electrical

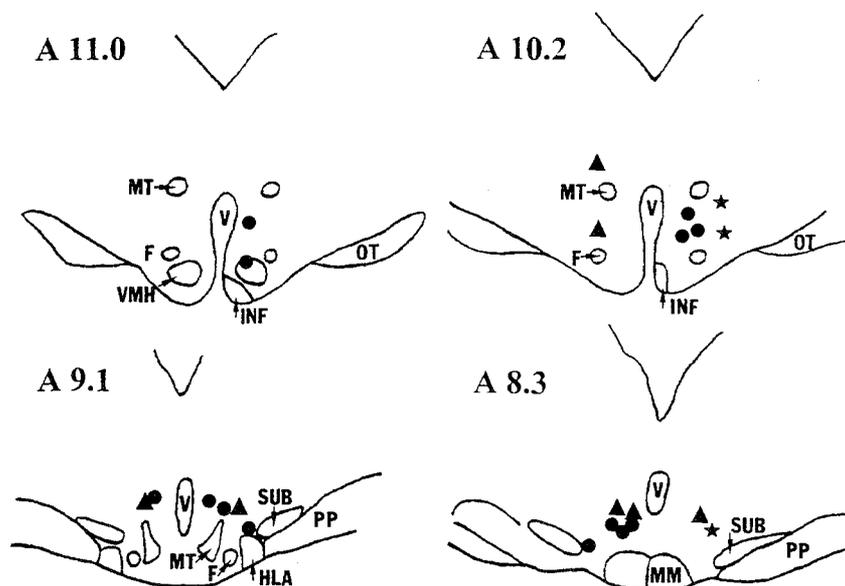


Fig. 6. Histological analysis of stimulation sites that evoked fictive locomotion. ●, Sites in posterior hypothalamus that caused airways to constrict when electrically stimulated; ▲, sites in posterior hypothalamus that caused airways to dilate when electrically stimulated; ★, 3 sites that were chemically stimulated with picrotoxin. These sites also caused airway constriction. MT, medial mamillary nucleus; F, fornix; VMH, ventromedial hypothalamus; INF, infundibular nucleus; OT, optic tract; V, ventricle; SUB, subthalamic nucleus; HLA, lateral hypothalamic area; MM, medial mamillary nucleus; PP, pes pedunculi. [Diagrams are from Waldrop et al. (25).]

stimulation of the HLR constricted the airways. When dilation of the airways did occur (i.e., in ~30% of cats), its magnitude was modest. In addition, the airway constriction evoked by electrical stimulation did not appear to be an artifact caused by the activation of fibers of passage, because the same effect was caused by microinjection of picrotoxin, a GABA antagonist, which functions by blocking chloride ionophores on cell bodies and dendrites (22).

When stimulation of the HLR did evoke airway dilation, the response was converted by  $\beta$ -adrenergic blockade to airway constriction and subsequently was abolished by atropine. We can offer two explanations for the mechanism causing the airway dilator response to HLR stimulation. First, stimulation of the HLR activated  $\beta$ -adrenergic receptors located on airway smooth muscle. This activation could occur by the release of transmitter from sympathetic postganglionic nerves or by the release of epinephrine from the adrenal gland (24). Second, the pressor response to HLR stimulation evoked the baroreflex, one component of which is airway dilation (20). We do not know which explanation is correct, but when airway dilation was evoked by HLR stimulation, the pressor response was, on average, 18 mmHg greater than that when airway constriction was evoked by HLR stimulation (Fig. 2). We speculate that in the seven cats showing a dilator response to HLR stimulation the large pressor effect may have been sufficient to overwhelm the airway constriction usually observed when this maneuver is initiated.

Nevertheless, electrical stimulation of the HLR for the most part evoked airway constriction, as evidenced by an increase in total lung resistance. This increase was not effected by  $\beta$ -adrenergic blockade but was abolished by muscarinic blockade. This finding is consistent with previous reports that the constrictor response to stimulation of the brain stem is caused by the activation of cholinergic pathways to airway smooth muscle (7, 17).

If central command is not the major neural mechanism causing the exercise-induced airway dilation, then what is? Two candidates come to mind: the Hering-Breuer reflex and the muscle reflex. Both evoke bronchodilation by withdrawal of cholinergic tone to airway smooth muscle (3, 10, 11, 13, 28). Slowly adapting stretch receptors comprise the afferent arm of the Hering-Breuer reflex arc. The activity of these slowly adapting receptors will be increased by exercise-induced increases in tidal volume and the rate of breathing. Similarly, group III and IV afferents comprise the afferent arm of the muscle reflex arc (14). The activity of these thin fiber afferents is known to be increased by dynamic exercise (1, 18).

Our conclusion that activation of the HLR is not the major mechanism causing exercise-induced airway dilation applies to the tracheobronchial tree but not to the upper airways. In our experiments the cats were paralyzed, which prevented neurotransmission from the HLR to the skeletal muscles. In addition, the trachea was cannulated below the larynx, which removed the upper airways from our calculations of total lung resistance and dynamic compliance. Consequently, the role of central command in the control of the upper airways during exercise remains to be determined.

The fact that the cats used in our experiments were paralyzed and ventilated had another consequence; i.e., feedback from pulmonary stretch receptors to brain stem neurons controlling airway caliber and breathing was abnormal. In turn, afferent input from these receptors reached the brain stem out of phase with central respiratory drive. Therefore, we cannot exclude the possibility that this factor was responsible for our inability to evoke major dilation of the airways during stimulation of the HLR. We were, however, able to evoke airway dilation in our preparation when the tibial nerve was stimulated electrically (present results) or when the triceps surae muscles were contracted statically (16).

There is no doubt that central command plays an important role in the control of cardiovascular and ventilatory function during exercise. Indeed, central command is thought to be the dominant mechanism causing the ventilatory response to exercise (9, 26). Nevertheless, central command appears to play a minor role in the airway smooth muscle dilation known to occur during dynamic exercise. This conclusion is based on the assumption that the hypothalamic and mesencephalic locomotor regions of the decerebrate unanesthetized cat comprise the neuroanatomic substrate for central command. Other sites in the brain stem may also be involved in the generation of central command, and their effects on airway caliber will need to be investigated as these sites are identified.

This work was supported by National Heart, Lung, and Blood Institute Grant HL-40910.

Present addresses: C. A. Beyaert, Laboratoire de Physiologie, Faculté de Médecine, 9 Ave. de la Forêt de Haye-BP 184, 54505 Vandoeuvre-les-Nancy, Cedex, France; J. M. Hill, Dept. of Movement and Exercise Science, Chapman University, Orange, CA 92666.

Address for reprint requests: M. P. Kaufman, Div. of Cardiovascular Medicine, TB 172, Bioletti Way, University of California, Davis, CA 95616.

Received 9 September 1997; accepted in final form 5 December 1997.

#### REFERENCES

- Adreani, C. M., J. M. Hill, and M. P. Kaufman. Responses of group III and IV muscle afferents to dynamic exercise. *J. Appl. Physiol.* 86: 1811–1817, 1997.
- Amdur, M., and J. Mead. Mechanics of respiration in unanesthetized guinea pigs. *Am. J. Physiol.* 192: 364–368, 1958.
- Bowes, G., E. J. Shakin, E. A. Phillipson, and N. Zamel. An efferent pathway mediating reflex tracheal dilation in awake dogs. *J. Appl. Physiol.* 57: 413–418, 1984.
- Eldridge, F. L. Relationship between phrenic nerve activity and ventilation. *Am. J. Physiol.* 221: 535–543, 1971.
- Eldridge, F. L., D. E. Millhorn, J. P. Kiley, and T. G. Waldrop. Stimulation by central command of locomotion, respiration and circulation during exercise. *Respir. Physiol.* 59: 313–337, 1985.
- Garcia-Rill, E., R. D. Skinner, and J. A. Fitzgerald. Chemical activation of the mesencephalic locomotor region. *Brain Res.* 330: 43–54, 1985.
- Haselton, J. R., I. C. Solomon, A. M. Motekaitis, and M. P. Kaufman. Bronchomotor vagal preganglionic cell bodies in the dog: an anatomic and functional study. *J. Appl. Physiol.* 73: 1122–1129, 1992.
- Kagawa, J., and H. D. Kerr. Effects of brief graded exercise on specific airway conductance in normal subjects. *J. Appl. Physiol.* 28: 138–144, 1970.
- Kaufman, M. P., and H. V. Forster. Reflexes controlling circulatory, ventilatory, and airway responses to exercise. In: *Handbook of Physiology. Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems*. Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc., 1996, sect. 12, chapt. 10, p. 381–447.
- Kaufman, M. P., and K. J. Rybicki. Muscular contraction reflexly relaxes tracheal smooth muscle in dogs. *Respir. Physiol.* 56: 61–72, 1984.
- Kaufman, M. P., K. J. Rybicki, and J. H. Mitchell. Hindlimb muscular contraction reflexly decreases total pulmonary resistance. *J. Appl. Physiol.* 59: 1521–1526, 1985.
- Krogh, A., and J. Lindhard. The regulation of respiration and circulation during the initial stages of muscular work. *J. Physiol. (Lond.)* 47: 112–136, 1913.
- Longhurst, J. C. Static contraction of hindlimb muscles in cats reflexly relaxes tracheal smooth muscle. *J. Appl. Physiol.* 57: 380–387, 1984.
- McCloskey, D. I., and J. H. Mitchell. Reflex cardiovascular and respiratory responses originating in exercising muscle. *J. Physiol. (Lond.)* 224: 173–186, 1972.
- McIlroy, M. B., R. Marshall, and R. V. Christie. The work of breathing in normal subjects. *Clin. Sci. (Lond.)* 13: 127–136, 1954.
- Motekaitis, A. M., and M. P. Kaufman. Stimulation of the mesencephalic locomotor region constricts the airways of cats. *Respir. Physiol.* 106: 263–271, 1996.
- Motekaitis, A. M., I. C. Solomon, and M. P. Kaufman. Stimulation of parabrachial nuclei dilates the airways in cats. *J. Appl. Physiol.* 76: 1712–1718, 1994.
- Pickar, J. G., J. M. Hill, and M. P. Kaufman. Dynamic exercise stimulates group III muscle afferents. *J. Neurophysiol.* 71: 753–760, 1994.
- Rowell, L. B. *Human Cardiovascular Control*. Oxford, UK: Oxford Univ. Press, 1993.
- Schultz, H. D., T. E. Pisarri, H. M. Coleridge, and J. C. G. Coleridge. Carotid sinus baroreceptors modulate tracheal smooth muscle tension in dogs. *Circ. Res.* 60: 337–345, 1987.
- Shik, M. L., and G. N. Orlovskii. Neurophysiology of locomotor automatism. *Physiol. Rev.* 56: 465–501, 1976.
- Simmonds, M. A. Evidence that bicuculline and picrotoxin act as separate sites to antagonize  $\gamma$ -aminobutyric acid in rat cuneate nucleus. *Neuropharmacology* 19: 39–45, 1980.
- Smith, O. A., R. F. Rushmer, and E. P. Lasher. Similarity of cardiovascular responses to exercise and to diencephalic stimulation. *Am. J. Physiol.* 198: 1139–1142, 1960.
- Stoddard, S. L., V. K. Bergdall, D. W. Townsend, and B. E. Levin. Plasma catecholamines associated with hypothalamically-elicited flight behavior. *Physiol. Behav.* 37: 709–715, 1986.
- Waldrop, T. G., R. M. Bauer, and G. A. Iwamoto. Microinjection of GABA antagonists into the posterior hypothalamus elicits locomotor activity and a cardiorespiratory activation. *Brain Res.* 444: 84–94, 1988.
- Waldrop, T. G., F. L. Eldridge, G. A. Iwamoto, and J. H. Mitchell. Central neural control of respiration and circulation during exercise. In: *Handbook of Physiology. Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems*. Bethesda, MD: Am. Physiol. Soc., 1996, sect. 12, chapt. 9, p. 333–380.
- Warren, J. B., S. J. Jennings, and T. J. H. Clark. Effect of adrenergic and vagal blockade on the normal human airway response to exercise. *Clin. Sci. (Lond.)* 66: 79–85, 1984.
- Widdicombe, J. G., and J. A. Nadel. Reflex effects of lung inflation on tracheal volume. *J. Appl. Physiol.* 18: 681–686, 1963.

**INHIBITION OF TONIC AND RYTHMIC COMPONENTS OF FICTIVE  
LOCOMOTION BY CUTANEOUS STIMULATION IN DECEREBRATE CATS**

C. A. Beyaert, Ph. Haouzi, F. Marchal

Laboratoire de Physiologie  
Faculté de Médecine  
9, avenue de la forêt de Haye  
F – 54500 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

Running title: Cutaneous afferents and fictive locomotion

Corresponding author: Christian Beyaert, M.D., Ph.D.

Same address as above

(33) 383592736

(33) 383592726 (fax)

[c.beyaert@chu-nancy.fr](mailto:c.beyaert@chu-nancy.fr) (e-mail)

## Abstract

The effect of pulling the cervical skin and electrically stimulating cervical cutaneous nerves was analyzed on both tonic and rhythmic components of fictive locomotion in decerebrate paralyzed cats. In 16 cats, stimulation of the mesencephalic locomotor region induced tonic and/or rhythmic discharges in the nerve to tibialis anterior (TA) and to the antagonist gastrocnemius medialis (GM). TA activity was consistently inhibited during cervical stimulation: -1- when an isolated tonic discharge occurred it was reduced by a mean of 66% from baseline (n=4); -2- during fictive locomotion, traction of the cervical skin reduced by 73% and 71% respectively the tonic and rhythmic discharges (n=6); -3- during fictive locomotion, cervical electrical stimulation as its intensity was increased, reduced first the tonic discharge (39%) and at its maximal effect both the tonic and rhythmic discharges respectively by 81% and 94% (n=7). GM activity was consistently inhibited during cervical electrical stimulation. This reflex triggered by myelinated cutaneous fibers appears to exert a predominant tonic motor inhibition which is likely to depend on the brainstem reticular formation.

Key words: Immobility reflex – Mechanical stimuli – Tonic discharge – Rhythmic discharge – Cervical skin

An inhibition of movement can be reflexly induced by somatic or visceral stimuli. Various mechanical stimuli applied on the back such as holding, grasping or exerting a pressure can induce an immobility state known as immobility reflex or “animal hypnosis” in many vertebrates (4, 6, 16). For instance, an immobility reflex can be easily induced by applying a pressure on the skin of the back in intact rabbit (16). The same stimulation inhibits also rhythmic locomotor-like activity in nerves to limb muscles, i. e. fictive locomotion (FL), induced in paralyzed decorticated rabbit (32). This inhibition of FL likely involves the same reflex mechanism than during immobility reflex (32). FL, which can be induced by various stimulation such as mesencephalic locomotor region activation (MLRa) in decerebrate animals, is convenient to study reflex control of motor activity since anesthesia is removed after decerebration. Using the model of FL, induced by MLRa in decerebrate cats, we tested the effect of pulling the cervical skin or electrically stimulating cervical cutaneous nerves on both tonic and rhythmic components of FL. Indeed the rhythmic activity of muscle nerves during FL can be associated with a tonic activity (14, 33) but little attention has been paid to the latter. In addition MLRa could also induce only a tonic activity in muscle nerves as previously described (8, 27). Therefore the effect of cervical afferents stimulation on the tonic motor activity and on the rhythmic locomotor activity were analyzed independently. The second goal of our study was to further characterize the type of cutaneous fibers involved. The afferent arm of the reflex inhibition of FL was reported to be mediated by A delta fibers in rabbit (34). On the other hand, locomotion can be inhibited in animals (see (11) for discussion) by a viscerosomatic reflex arising from lungs and heart in which pulmonary C fibers appear to play a crucial role as an afferent pathway to this reflex (23). The role of cervical cutaneous C fibers in the inhibition of locomotion was clarified.

## METHODS

*Anesthesia and general preparation.* Anesthesia was induced with a mixture of ketamine (10 - 15 mg/kg) and xylazine (3 mg/kg) injected intramuscularly and followed by intravenous sodium thiopental (10 mg/kg) as needed to maintain an adequate level of anesthesia until the decerebration. The cervical trachea was cannulated for mechanical ventilation. The right common carotid artery was cannulated for blood pressure measurement (Grass P122 pressure transducer) and for blood gas monitoring. The left carotid artery was ligated. One jugular vein was cannulated for fluid administration. Rectal temperature was maintained near 38° C with heating pad and lamp. Heart rate was derived from an EKG signal obtained from thoracic electrodes. The head of the cat was placed in a stereotaxic instrument (La précision cinématographique, Asnières, France). The skull was opened and decerebration achieved by a precolliculi-postmamillary section. The neural tissue rostral to the section was removed. Bleeding was controlled, and the cranial vault filled with agar. Dexamethasone (2 - 4 mg) was administered intravenously in order to prevent brain stem swelling. Colloids were infused, after decerebration, to control arterial blood pressure. The cats were paralyzed with pancuronium bromide (0.2 mg/kg iv as needed). A delay of 4 to 6 hours following anesthesia and decerebration was usually necessary to obtain FL.

*MLRa and FL identification.* The Tibialis anterior nerve (TA) and the Gastrocnemius medialis nerve (GM) of the left leg were dissected at the level of the knee, exposed in a pool filled with warm mineral oil and served. Proximal extremities of the nerves were placed on bipolar hook recording electrodes connected to high-impedance probes (model HIP511, Grass Instrument Div), which in turn were connected to preamplifiers (model P511, Grass). The nerve action potentials were displayed on an oscilloscope and stored on tape. A window

discriminator (Neurolog system model NL 201, Digitimer Ltd) was used to exclude background noise activity and select nerve action potentials. The discharge frequency was calculated as the number of spikes per 0.1 sec using a ratemeter (Neurolog system model NL 601). GM and TA discharge frequency as well as heart rate signals were sampled at 40 Hz and blood pressure at 100 Hz (Mac Lab, World Precision Instrument) and displayed on computer using Chart Mac Lab software. A tonic nerve discharge was defined as an increased continuous nerve activity occurring during MLRa above the prestimulation level. The discharge was regarded as rhythmic whenever a regular fluctuation in the nerve activity amplitude was obtained by visual analysis.

The MLR was activated at Horsley-Clark coordinates P1-3, L3-5, H0-2 (28) with a monopolar stainless steel electrode (model SNE-100, Rhodes) as previously described (1). A Grass S88 stimulator attached to a PSIU-6 constant-current unit was used to pass current through the stimulating electrode which was lowered by increments to find the MLR site. The stimulation was made with rectangular pulses of 1 ms at 30-40 Hz using the minimal efficient current (70 – 150  $\mu$ A). The MLRa induced either FL or in 4 cats a fictive tonic contraction, i. e. only tonic discharge of the muscle nerves. Fictive locomotion was defined as rhythmic discharge of TA and /or GM associated with increases in arterial pressure and heart rate (9). As the induced FLs had limited duration (1 to 10 min), several MLRa separated by resting time were needed to complete the protocol.

*Activation of cutaneous cervical afferents.* The effect of cutaneous cervical afferent activation on FL and on fictive tonic contraction was tested either by applying mechanical stimuli on the cervical skin or by stimulating electrically cervical nerves.

Mechanical non noxious stimulation of the cervical skin consisted first in gently manually pulling the skin of the dorsal surface of the neck upwards in 6 cats. In addition in 2 cats, the traction of the skin was quantified using an adhesive band stuck on the shaved skin and pulled upwards by weights via a string and two pulleys. The adhesive band covered about half the neck area (4 cm in longitudinal axis and 8 cm transversal) but the traction exerted over a larger surface. Different pulling weights were tested (200 to 1000 g).

The effect of electrical stimulation of cervical nerves on FL was studied in 8 cats. The neck's skin was cut medially and a pool was made by loosely attaching the skin flaps to a frame and filled with warm mineral oil. One or 2 nerves belonging to dermatomes C5 and C6 were carefully dissected and cut and their proximal end placed on a stimulating bipolar electrode.

The nerve electrical threshold (T) for the most excitable fibers of the cervical nerves, was determined for shocks of 0.1 or 0.5 ms using a proximal unipolar recording electrode. The cervical cutaneous nerves were stimulated with trains of rectangular pulses of 0.1 or 0.5 ms at 50 Hz at various intensities, during 10 to 70 sec. The intensity which induce respectively the minimum change, i. e. a decrease > 15 % from baseline, and the maximum inhibition in TA and/or GM discharges was determined.

To further characterize the inhibitory fibers, we stopped the conduction in myelinated but not unmyelinated C fibers by cooling the cervical nerves between 6 and 8° (10) in 4 cats. The cervical nerves were placed in the trough of a thermode placed between the stimulating and recording electrodes. The thermode was perfused with refrigerated alcohol to block nerve transmission which was restored by perfusing with warm fluid. A small thermocouple (Model BAT-12, Physitemp Instruments Inc.) was carefully inserted in close contact with the surface of the nerves to estimate their temperature (10).

*Data analysis and statistics.* The tonic and rhythmic discharge of GM and TA, heart rate and arterial blood pressure during FL or fictive tonic contraction were averaged for 10 seconds prior to cervical stimulation (baseline). The tonic nerve discharge was calculated by averaging the amplitude of continuous activity above the level of pre-MLRa nerve activity.

The rhythmic nerve discharge, which usually superimposed the tonic discharge during FL, was calculated by averaging the amplitude of the peaks of fluctuant discharge above the level of tonic activity. During cervical stimulation, changes from the baseline of the nerve activity above 15% was regarded as positive responses. Whenever a depression of nerve activity was observed, the data were analyzed at the nadir of GM and TA responses (5 seconds average). Baseline and cervical stimulation data were compared using paired *t*-test. The criterion for significance was  $p < 0.05$ . All values are reported as mean  $\pm$  SEM.

## RESULTS.

Sixteen cats (2.6 – 3.7 kg) were studied. MLRa induced an initial tonic discharge in the hindlimb muscle nerves in all animals. In 10, rhythmic activity superimposed within seconds on the tonic activity (fig. 2). In 4, the tonic activity disappeared rapidly and was replaced by rhythmic activity and in 2, only the tonic discharge was sustained. Two cats which had tonic-rhythmic responses also displayed isolated tonic responses on repeated MLRa.

*Physiological stimulation of the cervical skin.* The effect on FL of pulling manually the cervical skin was tested in 6 cats (Table 1). This maneuver induced a significant decrease of TA tonic and rhythmic discharges (respectively  $-73 \pm 12\%$  and  $-71 \pm 15\%$  from baseline) (Fig. 1). In the 3 cats which displayed GM discharges, there was a clear trend for the tonic component to decrease ( $-38 \pm 15\%$ ). Arterial pressure, increased during skin elevation in 4 cats ( $157 \pm 23$  to  $164 \pm 23$  mmHg,  $p=0.07$ ) whereas it decreased markedly in 1 cat (160 to 140 mmHg). In the remaining cat, arterial pressure was too variable and therefore was discarded from analysis. Heart rate did not change significantly ( $238 \pm 10$  to  $233 \pm 11$  bpm).

The effect of the mechanical traction applied on the skin was quantified in 2 cats. In one a traction force of 400 g induced only a slight decrease of TA tonic discharge ( $-35\%$ ) whereas a traction force of 1000 g induced a profound reduction of both TA tonic and rhythmic discharge [ $-75\%$  and  $-60\%$  respectively (fig 2)]. The other cat displayed only a rhythmic discharge of TA which was slightly decreased ( $-15\%$ ) by a traction force of 200g and completely inhibited by a traction force of 400g. Mean arterial pressure was not altered at minimal inhibition and was either slightly increased or decreased at higher inhibition of TA discharges. A gentle stroke of the cervical hairs did not alter FL (fig. 1).

*Electrical stimulation of cervical cutaneous nerves.* The electrical stimulation of 1 or 2 cutaneous cervical nerves induced an inhibition of FL in 7 of the 8 cats tested. Indeed in one cat, an inhibitory effect of cervical nerve stimulation on FL could not be assessed accurately because of the irregular pattern of nerve discharge. The maximal effect was observed at an intensity of cervical stimulation ranging from 130 T to 530 T and consisted typically in a dramatic inhibition of both tonic and rhythmic discharge lasting throughout the stimulation (fig 3). Intriguingly at higher intensity the effect was more transient (fig 3). At a lower intensity of stimulation a transient reduction of tonic discharge was associated to a weak inhibition of rhythmic discharge, if any (fig 3). The minimal intensity of cervical nerve stimulation to produce a reduction of either TA or GM discharges, was tested in 6 cats (Table 2). TA tonic discharge was always inhibited ( $-39 \pm 5\%$  of baseline,  $p < 0.01$ ,  $n=4$ ) whereas the inhibition of TA rhythmic discharge ( $-24 \pm 13\%$ ,  $n=6$ ) occurred only in 3 of 6 cats. The inhibition of GM tonic and rhythmic discharges (respectively  $-12 \pm 8\%$  and  $-4 \pm 3\%$ ,  $n=5$ ) occurred only in 2 of 5 cats. Mean arterial pressure and heart rate did not change significantly (respectively,  $146 \pm 16$  to  $144 \pm 16$  mmHg and  $256 \pm 10$  to  $254 \pm 9$  bpm). At maximal inhibition of FL, TA and GM tonic and rhythmic activities were all significantly reduced

(Table 2). TA tonic and rhythmic discharges both decreased markedly (respectively  $-81 \pm 12\%$  and  $-94 \pm 4\%$  from baseline,  $p < 0.05$ ) whereas GM tonic discharge and rhythmic discharge were less reduced (respectively  $-49 \pm 18\%$  and  $-43 \pm 9\%$ ,  $p < 0.05$ ). FL inhibition started from less than 1 sec up to 3 sec after the onset of the cervical nerve stimulation and reversed either at cessation of stimulation in 5 cats or after  $\geq 10$  sec during the stimulation in 2 cats. Mean arterial pressure significantly decreased during maximal inhibition of FL ( $156 \pm 12$  to  $148 \pm 12$  mmHg,  $p < 0.05$ ; fig 4) but heart rate did not ( $237 \pm 10$  to  $234 \pm 10$  bpm). The intensity of cervical nerve stimulation needed to induce both minimal and maximal inhibition of FL was variable among cats but appeared to depend on the number of cervical nerves stimulated. Indeed, the intensity to induce minimal inhibition of FL ranged respectively at 40-250T and 25-200T for 1 and 2 nerves stimulated and the intensity to induce maximal inhibition ranged respectively at 300-530T and 130-500T for 1 and 2 nerves stimulated.

Cervical nerve stimulation was tested on the fictive tonic contraction induced by MLRa in 4 cats. TA tonic discharge was reduced from  $26.7 \pm 4.5$  to  $8.5 \pm 3.7$  imp/0.1 sec ( $p < 0.05$ ) and GM from  $7.7 \pm 2.8$  to  $5.9 \pm 2.3$  imp /0.1 sec ( $n=3$ ,  $p=0.08$ ) (fig 4). Neither arterial pressure nor heart rate was found to change during cervical stimulation (respectively  $140 \pm 16$  to  $135 \pm 14$  mmHg,  $n=3$  and  $251 \pm 13$  to  $251 \pm 13$  bpm,  $n=4$ ).

The cervical cutaneous fibers involved in the inhibition of FL were further characterized. In 4 cats the stimulated cervical nerves were cooled down to  $6.1$ - $7.6^\circ\text{C}$ . The stimulation of the cooled cervical nerves had either no effect on FL ( $n=2$ ) or increased TA tonic discharge during FL ( $n=1$ , fig 5). In 1 cat which displayed fictive tonic contraction, cooling the cervical nerves totally prevented TA and GM tonic discharge inhibition. In all animals, the inhibitory effect of cervical stimulation was fully restored when the nerve temperature was brought back to  $\geq 23^\circ\text{C}$  (fig 5).

## DISCUSSION

The study demonstrates that activation of cervical cutaneous afferents inhibits FL induced by MLRa in mesencephalic paralyzed cat. Inhibition of FL induced by cervical cutaneous nerve stimulation, either through mechanical or electrical stimulation, occurred for both tonic and rhythmic discharges in TA and GM. TA discharge was consistently inhibited whereas the activity in the nerve to the extensor muscle was more variably inhibited.

*Muscle nerve responses to MLRa.* The MLRa in paralyzed cats evoked either FL, usually characterized by a rhythmic discharge superimposed on a tonic discharge of antagonist hindlimb muscle nerves, or fictive tonic contraction. The hindlimb from which muscle nerves were recorded was in extension which is likely to explain that only flexor nerve rhythmic discharge (i.e. of TA nerve) could be obtained in 4 cats. Indeed, the position of the hindlimb plays a role in the FL pattern: a predominant activity of flexor- over extensor nerves occurs when the ankle (31) or the hip (18) are in passive extension.

*Nature of physiological stimuli and fibers involved in FL inhibition.* Mechanical non noxious stimuli applied on the cervical skin, such as traction but not gently stroke of the hairs, induced inhibition of FL. Similarly, mechanical pressure on the back inhibits FL in rabbit (32) and various mechanical stimuli applied on the skin of the back such as holding, clamping, grasping or exerting a pressure can induce an immobility reflex in many vertebrates (7, 16).

The depression of FL was enhanced by increasing the intensity of mechanical traction of the skin (fig 2). A similar effect of increasing the intensity of mechanical stimuli was reported in the frog (2) and rabbit (17). The magnitude of FL depression was also probably related to the spatial recruitment of "inhibitory" cutaneous fibers as suggested by a more efficient inhibitory effect of the cervical nerve electrical stimulation when the intensity or number of stimulated nerves was increased. This spatial recruitment property was reported

about the reflex immobility the duration of which was increased as the intensity of pressure and/or the area of body contact increased (2, 17).

The cervical cutaneous fibers involved in the inhibition of FL were further characterized. The selective stimulation of cervical C fibers, after cooling the nerves between 6 and 8 °C, enhanced or did not alter either FL or fictive tonic contraction. These results suggest that C fibers do not inhibit but rather enhance FL. This would explain that in some cats the maximal FL depression was obtained within a narrow range of cervical stimulation intensity. Indeed, a higher intensity of stimulation is likely to recruit more C fibers and therefore to result in a less inhibition of FL (fig 3). Viala et al. demonstrated in decerebrate rabbit that FL was enhanced by activation of group C cutaneous fibers but inhibited by activation of cutaneous group A delta fibers (34). In our study, the myelinated fibers that inhibited FL are likely to belong to the less excitable myelinated fibers of the group A delta, since the maximum depression of FL was obtained at a very high intensity of cervical nerve stimulation.

*Site of interaction between FL and cervical cutaneous afferents.* The central mechanism of FL inhibition may be approached by considering the inhibition pattern of both FL and fictive tonic contraction in response to stimulation of cervical cutaneous afferents. The inhibition of TA or GM rhythmic discharges when occurred during cervical stimulation was always associated with tonic discharge inhibition of these nerves whereas for minimal FL inhibition only tonic discharge decreased significantly. In addition, the only tonic discharge of TA and GM displayed during fictive tonic contraction was also inhibited by cervical stimulation. These results suggest that the rhythmic discharge inhibition occurs secondary to the tonic discharge inhibition. It was shown that immobility reflex typically associates hypotonia to immobility (3, 12) and that during this reflex several areas of the brainstem are activated : pontine nuclei, pontine and medullary medial reticular formation (15, 20). Mori and co-workers have shown in mesencephalic cat that MLRa can induce locomotion only if an adequate level of postural muscle tone is developed (22). They further identified a brainstem-spinal cord system the activation of which induces postural muscle tone suppression and consequently inhibition of locomotor movements (21). A tonic activation of this system originating in the nucleus reticularis pontis oralis exerts, mainly via cells in the nucleus reticularis gigantocellularis, generalized or non-reciprocal tonic inhibitory effects upon alpha-motoneurons innervating hindlimb extensor and flexor muscles. The consecutive locomotor suppression is characterized not so much by change in the step cycle than by a reduction in the EMG amplitudes of both extensor and flexor hindlimb muscles (29). Similarly in our results, cervical stimulation elicited only an inhibition of rhythmic discharge amplitude in the hindlimb motor nerves but no change in the step cycle (fig 3). Our results suggest that mechanical cervical stimuli, such as traction, which are known to largely activate the brainstem reticular formation (26, 36), induce FL inhibition by activation of the inhibitory system described by Mori (21).

During FL inhibition arterial pressure increased or decreased in response to mechanical cutaneous stimulation, whereas it was constantly decreased during high rate (50 Hz) electrical stimulation of cervical cutaneous nerves. It was reported, about the somatosympathetic reflex, that activation of cutaneous high threshold mechanoreceptors and electrical stimulation at high intensity ( $\geq 25$  T) and high rate (50 Hz) of cutaneous fibers, induces a pressor response (5, 13, 25). This somatosympathetic reflex cannot explain the depressor responses associated to FL inhibition. The latter may be the result of a supraspinal inhibition of both pressor and motor components associated during MLRa-induced FL (9). The nucleus reticularis gigantocellularis, the activation of which decreases muscle tone (21), may also be involved in the arterial pressure inhibition observed here. Indeed its activation,

known to inhibit cardiorespiratory activity (30), decreases the cardiorespiratory response to central drive related to exercise (24).

*Perspectives.* We have shown that stimulation of cutaneous afferents of the back induces inhibition of the tonic discharge of hindlimb motor nerves in decerebrate cat. It was demonstrated that immobility reflex, which decreases muscle tone, is under a neo-cortical inhibitory control (16, 19). Thus, rats not susceptible to immobility reflex displayed this reflex after decortication (19). Could such a motor inhibitory reflex be relevant in human in which telencephalic structures are injured? Wang et al. reported that electrical stimulation of the skin in the thoraco-lumbar region of the back decreased calf muscle spastic hypertonia in patients with hemiparesis resulting from ischemic stroke (35). These results may involve the inhibitory reflex we have studied. Although the transposition in human of this reflex is still unclear (11) such mechanism may offer therefore interesting perspectives in the treatment of gait disorders related to spastic hypertonia.

In conclusion, we have shown that mechanical and electrical stimulation of cervical cutaneous afferents inhibits the MLRa-induced tonic and rhythmic discharges of hindlimb motor nerves in decerebrate paralyzed cat. This reflex triggered by myelinated cutaneous fibers appears to exert a predominant tonic motor inhibition which is likely to depend on the brainstem reticular formation.

The authors gratefully acknowledge Bernard Chalon, Gerard Colin, Noëlle Bertin and Christelle Creusat for technical assistance and Jean Pierre Gilles for his constant support. This work was supported by Ministère de la Recherche JE2164 and Inserm U14.

## References

1. Beyaert, C. A., J. M. Hill, B. K. Lewis, and M. P. Kaufman. Effect on airway caliber of stimulation of the hypothalamic locomotor region. *J Appl Physiol* 84: 1388-94, 1998.
2. Bonnet, V., and R. Saboul. [Contribution to the study of animal hypnosis. Central nervous modification and mechanism of subordination in hypnosis in frog]. *J. Physiol. Pathol. Gen.* 33: 887-906, 1935.
3. Carli, G. Dissociation of electrocortical activity and somatic reflexes during rabbit hypnosis. *Arch. ital. Biol.* 107: 219-234, 1969.
4. Carli, G., F. Farabollini, G. Fontani, and F. Grazi. Physiological characteristics of pressure immobility. Effects of morphine, naloxone and pain. *Behav Brain Res* 12: 55-63, 1984.
5. Coote, J. H., and J. F. Perez-Gonzalez. The response of some sympathetic neurones to volley in various afferent nerves. *J. Physiol. (Lond)* 208: 261-278, 1970.
6. De la Cruz, F., and J. Junquera. The immobility response elicited by clamping, bandaging and grasping in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Behav Brain Res* 54: 165-9, 1993.
7. De la Cruz Lopez, F., and T. U. Santamaria. The differential haloperidol effect on the immobility response elicited by clamping, grasping, bandaging and inversion in guinea pig, hamster and rat. *Behav Brain Res* 78: 195-9, 1996.
8. Degtyarenko, A. M., and M. P. Kaufman. Fictive locomotion and scratching inhibit dorsal horn neurons receiving thin fiber afferent input. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 279: R394-403, 2000.
9. Eldridge, F. L., D. E. Millhorn, J. P. Kiley, and T. G. Waldrop. Stimulation by central command of locomotion, respiration and circulation during exercise. *Respir Physiol* 59: 313-37, 1985.
10. Franz, D. N., and A. Iggo. Conduction failure in myelinated and non-myelinated axons at low temperatures. *J Physiol (Lond)* 199: 319-45, 1968.
11. Gandevia, S. C., J. E. Butler, J. L. Taylor, and M. R. Crawford. Absence of viscerosomatic inhibition with injections of lobeline designed to activate human pulmonary C fibres. *J Physiol. (Lond.)* 511: 289-300, 1998.
12. Gilman, T. T., and F. L. Marcuse. Animal hypnosis. *Psychol. Bull.* 46: 151-165, 1949.
13. Johansson, B. Circulatory response to stimulation of somatic afferents. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 198: 1-91, 1962.
14. Jordan, L. M., C. A. Pratt, and J. E. Menzies. Locomotion evoked by brain stem stimulation: occurrence without phasic segmental afferent input. *Brain Res* 177: 204-7, 1979.
15. Klemm, W. R. EEG and multiple-unit activity in limbic and motor systems during movement and immobility. *Physiol Behav* 7: 337-43, 1971.
16. Klemm, W. R. Identity of sensory and motor systems that are critical to the immobility reflex ("animal hypnosis"). *J Neurosci Res* 2: 57-69, 1976.
17. Klemm, W. R. A method to encourage extensive study of animal hypnotic behavior. *J Exp Anal Behav* 9: 63-4, 1966.
18. Kriellaars, D. J., R. M. Brownstone, B. R. Noga, and L. M. Jordan. Mechanical entrainment of fictive locomotion in the decerebrate cat. *J Neurophysiol* 71: 2074-86, 1994.
19. McGraw, C. P., and W. R. Klemm. Mechanisms of the immobility reflex ("animal hypnosis"). III. Neocortical inhibition in rats. *Commun. Behav. Biol.* 3: 53-59, 1969.
20. Mileikovsky, B. Y., and A. D. Nozdrachev. Neuronal reactions in the dorsolateral pontine area during the immobility response in rats. *Fiziol Zh Im I M Sechenova* 83: 80-93, 1997.

21. Mori, S. Contribution of postural muscle tone to full expression of posture and locomotor movements: multi-faceted analyses of its setting brainstem- spinal cord mechanisms in the cat. *Jpn J Physiol* 39: 785-809, 1989.
22. Mori, S., H. Nishimura, C. Kurakami, T. Yamamura, and M. Aoki. Controlled locomotion in the mesencephalic cat: distribution of facilitatory and inhibitory regions within pontine tegmentum. *J Neurophysiol* 41: 1580-91, 1978.
23. Pickar, J. G., J. M. Hill, and M. P. Kaufman. Stimulation of vagal afferents inhibits locomotion in mesencephalic cats. *J Appl Physiol* 74: 103-10, 1993.
24. Richard, C. A., T. G. Waldrop, R. M. Bauer, J. H. Mitchell, and R. W. Stremel. The nucleus reticularis gigantocellularis modulates the cardiopulmonary responses to central and peripheral drives related to exercise. *Brain Res* 482: 49-56, 1989.
25. Sato, A., and R. F. Schmidt. Somatosympathetic reflexes: afferent fibers, central pathways, discharge characteristics. *Physiol Rev* 53: 916-47, 1973.
26. Scheibel, A. B. The brain stem reticular core and sensory function. In: *Handbook of Physiology. Section I: The Nervous System. Vol. III Sensory Processes, Part 1*, edited by A. P. Soc. Bethesda, MD:, 1984, p. 213-256.
27. Shik, M. L., G. N. Orlovskii, and F. V. Severin. [Organization of locomotor synergism]. *Biofizika* 11: 879-86, 1966.
28. Shik, M. L., and G. N. Orlovsky. Neurophysiology of locomotor automatism. *Physiol Rev* 56: 465-501, 1976.
29. Shimoda, N., H. Tanaka, T. Oka, K. Takakusaki, and S. Mori. Effects of intrapontine applications of carbachol and serotonin upon posture and locomotion in decerebrate cats. In: *Neurological Basis of Human Locomotion*, edited by G. S. Shimamura M, Edgerton VR. Tokyo: Japan Scientific Societies Press, 1991, p. 51-56.
30. Stremel, R. W., T. G. Waldrop, C. A. Richard, and G. A. Iwamoto. Cardiorespiratory responses to stimulation of the nucleus reticularis gigantocellularis. *Brain Res Bull* 24: 1-6, 1990.
31. Viala, G. [Variability of the configuration of efferent discharges of supraspinal origin in rabbits]. *J Physiol (Paris)* 59: 307, 1967.
32. Viala, G., and P. Buser. [Inhibition of spinal locomotor activity by a special method of somatic stimulation in rabbits]. *Exp Brain Res* 21: 275-84, 1974.
33. Viala, G., and P. Buser. [Stereotyped rhythmic motor activities in the rabbit. A study of their general characteristics]. *Exp Brain Res* 8: 346-63, 1969.
34. Viala, G., D. Orsal, and P. Buser. Cutaneous fiber groups involved in the inhibition of fictive locomotion in the rabbit. *Exp Brain Res* 33: 257-67, 1978.
35. Wang, R. Y., M. W. Tsai, and R. C. Chan. Effects of surface spinal cord stimulation on spasticity and quantitative assessment of muscle tone in hemiplegic patients. *Am J Phys Med Rehabil* 77: 282-7, 1998.
36. Wolstencroft, J. H. Reticulospinal neurons. *J. Physiol. (Lond.)* 174: 91-108, 1964.

## Legends to figures

Fig 1 : Mechanical stimulation of the cervical skin during fictive locomotion (FL) induced by mesencephalic locomotor region activation (MLRa). Pulling manually the cervical skin (b-b) decreased the tonic and rhythmic discharges of Tibialis anterior nerve (TA) and the tonic discharge of Gastrocnemius medialis nerve (GM) and increased arterial blood pressure (ABP). A gentle stroke of the cervical hairs (a-a) had no effect.

Fig 2 : Traction of the cervical skin in a cat displaying only TA discharge to MLRa. A traction force of 400g (a-a) induced a weak inhibition only on the tonic component (A) whereas a higher traction of 1000g (b-b) induced an important decrease of both tonic and rhythmic discharge (B). The onset and termination of MLRa are marked by arrows. Abbreviations: see fig 1.

Fig 3 : Electrical stimulation of two cervical cutaneous nerves during FL induced by MLRa. The activity of both TA and GM comprised a tonic discharge on which rhythmic discharge was superimposed. A relatively low intensity of stimulation of cervical nerves (250 times threshold T) induced a clear but transient decrease of tonic discharge and a mild decrease of rhythmic discharge. Stronger stimulation (400 T) was more efficient in producing a sustained decrease of both tonic and rhythmic discharge. This stimulus was associated with a decrease of arterial pressure. At higher level of stimulation of cervical nerves (800 T), which is supposed to recruit more C fibers, only a transient inhibition was induced. Abbreviations: see fig 1.

Fig 4: Electrical stimulation of two cervical nerves during fictive tonic contraction induced by MLRa. The cervical stimulation (40T), occurring between the vertical bars, reduced TA and GM tonic discharge but did not alter arterial pressure. Abbreviations: see fig 1.

Fig 5 : Effect on FL of electrical stimulation of cervical nerves at different nerve temperatures. A- Electrical stimulation of 2 cervical nerves (control temperature = 36°) decreased the tonic-rhythmic discharge of TA and the tonic discharge of GM. B- Electrical stimulation of the cooled cervical nerves (7.4°C) induced an *increase* of TA discharge and no effect on GM discharge. C- When the cervical nerves were warmed up (24°C) the initial inhibition of FL by cervical nerve stimulation was restored. Abbreviations: see fig 1.

Table I : Effects of manual traction of the skin of the neck on the tonic and rhythmic components of fictive locomotion.

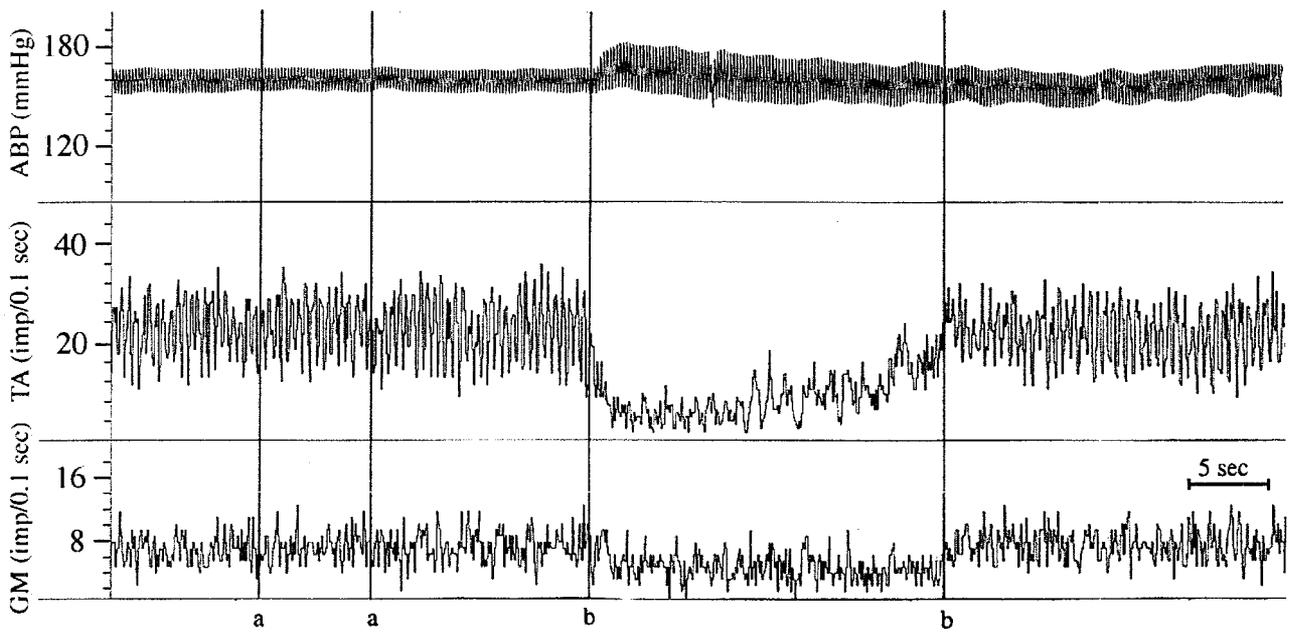
	TA discharge (imp. /0.1 sec)			GM discharge (imp. /0.1 sec)		
	n	Baseline	traction	n	Baseline	traction
Tonic	6	7.9 ± 1.7	1.9 ± 0.9 *	3	8.3 ± 0.7	4.9 ± 0.8
Rhythmic	6	9.4 ± 1.6	2.8 ± 1.5 *	3	6.1 ± 1.4	6.1 ± 1.4

TA and GM: nerves to *Tibialis anterior* and to *Gastrocnemius medialis*; n, number of animals. Values are mean ± SE. \* p<0.05 vs baseline.

Table II: Minimal and maximal inhibition of FL induced by electrical stimulation of cervical cutaneous nerves

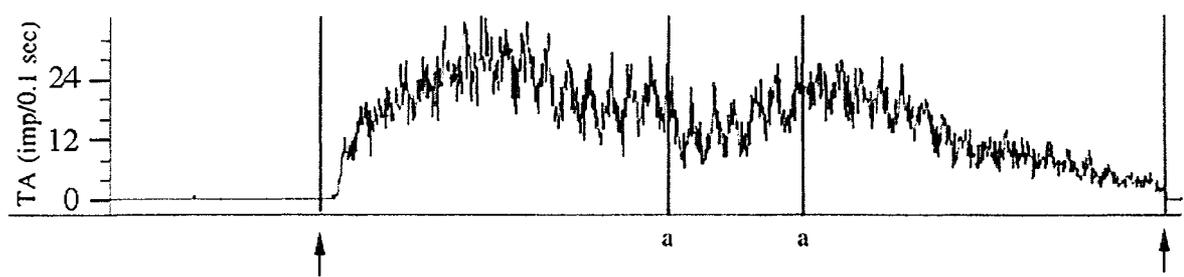
	TA discharge (imp. /0.1 sec)			GM discharge (imp. /0.1 sec)		
	n	Baseline	Stim.	n	Baseline	Stim.
Min. IFL						
Tonic	4	10.7 ± 3.4	6.5 ± 2.1 *	5	12.0 ± 5.0	10.7 ± 5.3
Rhythmic	6	24.0 ± 3.7	19.1 ± 4.9	5	15.0 ± 6.2	14.5 ± 6.4
Max. IFL						
Tonic	5	8.5 ± 2.1	2.1 ± 1.4 *	7	5.3 ± 1.5	3.7 ± 1.5 *
Rhythmic	7	23.4 ± 3.9	1.0 ± 0.6 *	6	16.1 ± 4.0	7.7 ± 1.8 *

TA and GM: nerves to *Tibialis anterior* and to *Gastrocnemius medialis*; n, number of animals. Stim.: electrical stimulation. Min. IFL and Max. IFL: respectively, minimal and maximal inhibition of fictive locomotion (for explanation see text). Values are mean ± SE. \* p<0.05 vs baseline.

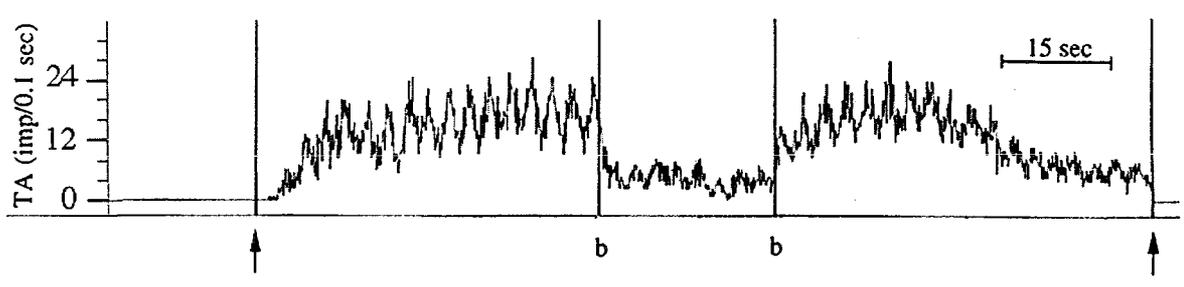


*f = 1*

A



B



202  
8/2

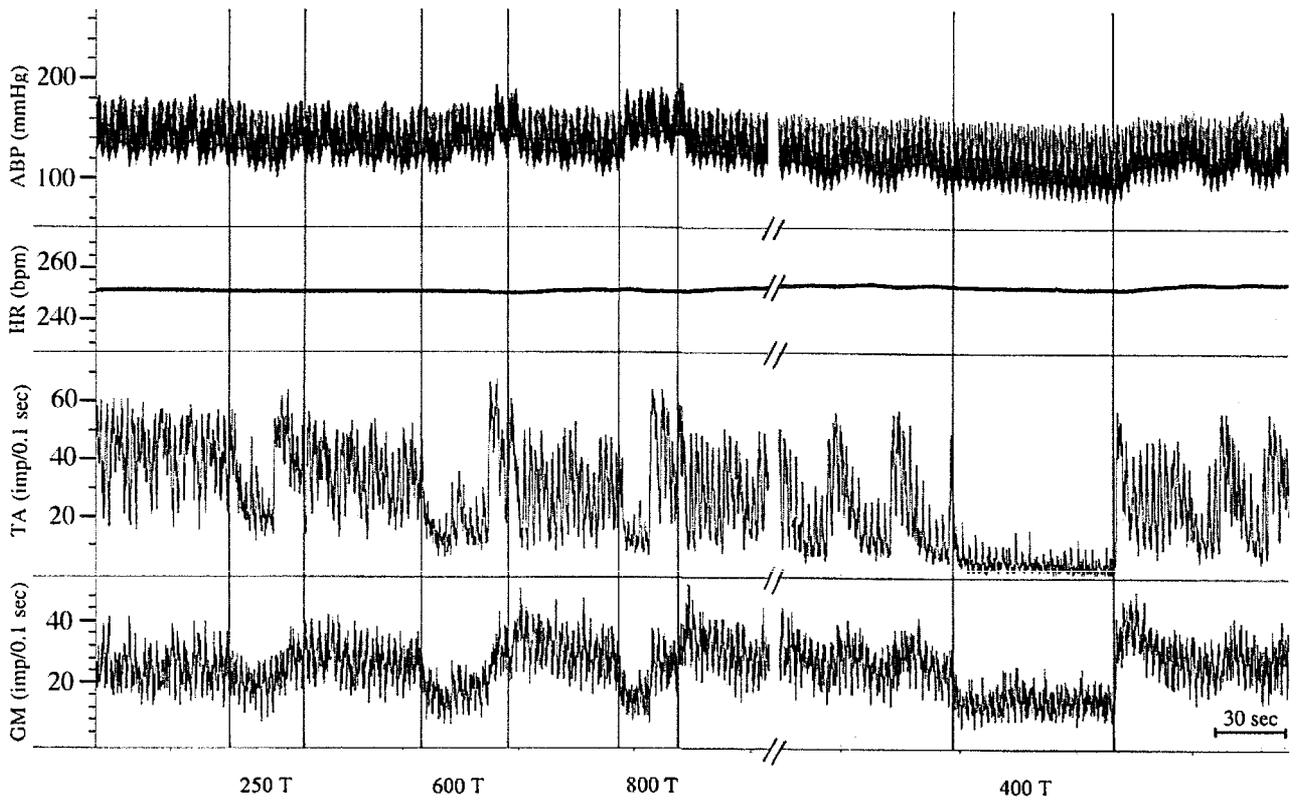


Fig 3

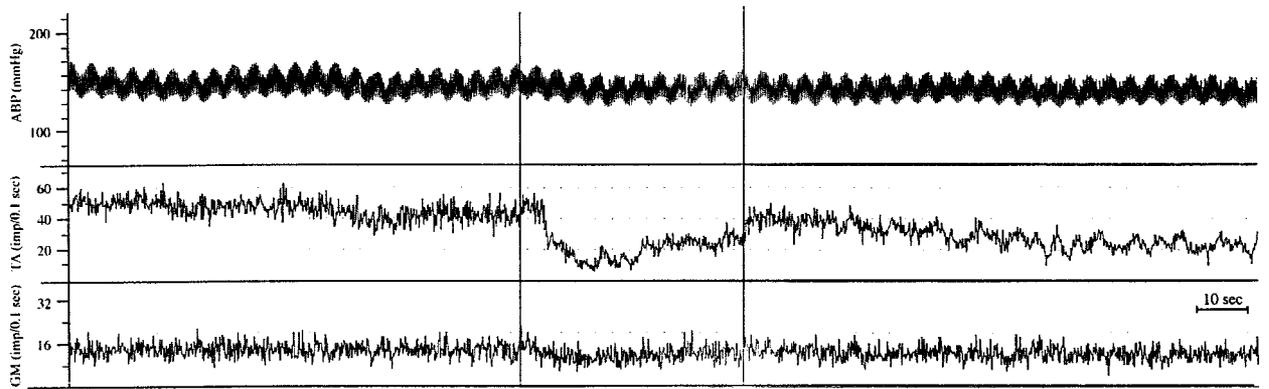
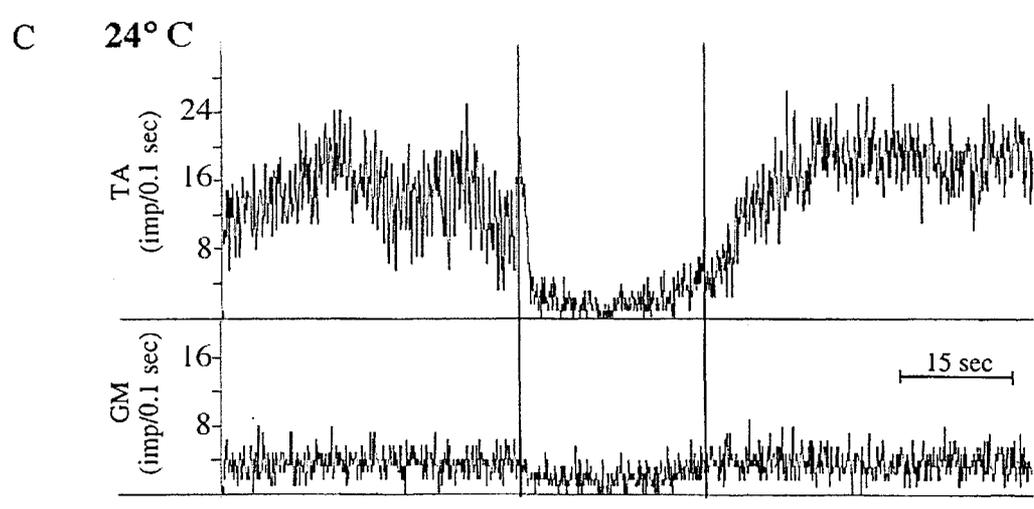
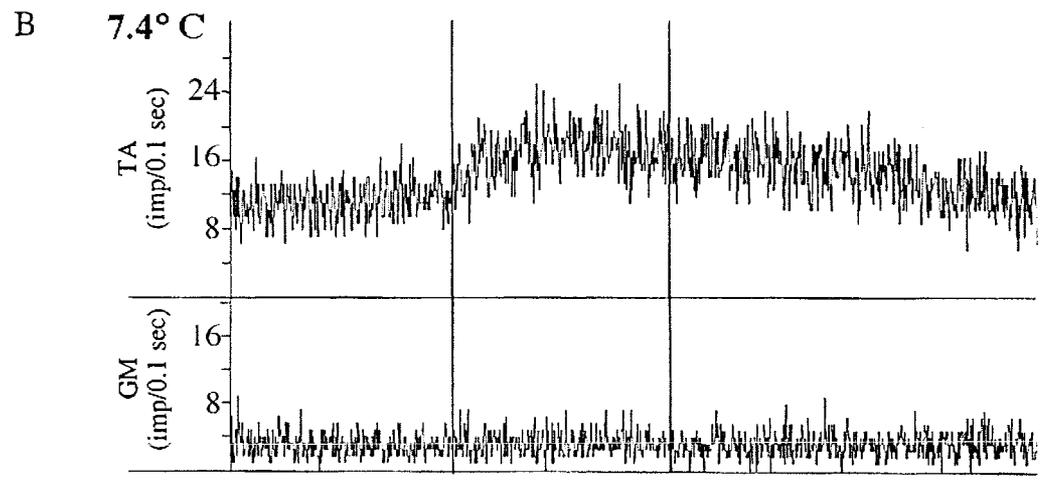
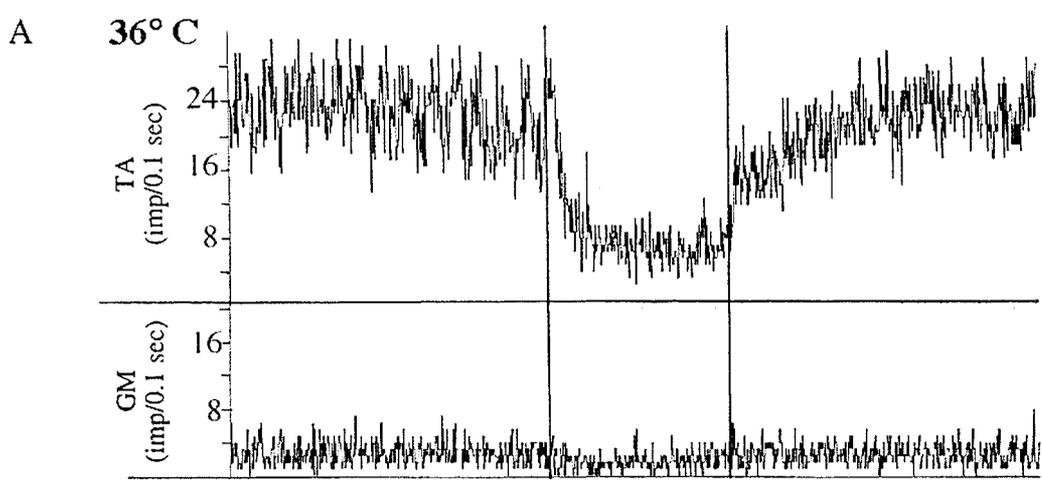
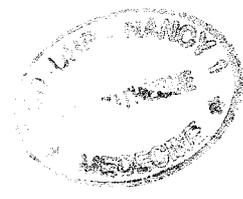


Fig 4



*Fig 5*

Nom : Monsieur BEYAERT  
Prénom : Christian

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1

en BIOLOGIE ET SANTÉ

Spécialité : GÉNIE BIOLOGIQUE ET MÉDICAL

VU, APPROUVÉ ET PERMIS D'IMPRIMER

Nancy, le 27 NOV. 2000 n° 426

Le Président de l'Université



**Résumé :** Plusieurs mécanismes de régulation neurophysiologique à l'exercice sont traités dans trois études. *La première étude* portait sur l'effet cardiorespiratoire de la substance P et du glutamate co-localisés dans les terminaisons médullaires d'afférences musculaires mises en jeu à l'exercice. Ces neuromédiateurs ont été injectés dans les deux premières couches de la corne dorsale de la moelle lombaire chez le chat décérébré et paralysé. La réponse pressive liée à l'injection de glutamate était potentialisée par l'injection au même site d'un analogue de la substance P. *La deuxième étude* avait pour objectif de séparer les mécanismes centraux et périphériques de la réponse bronchomotrice à l'exercice. La stimulation de l'aire locomotrice hypothalamique chez le chat décérébré et paralysé provoquait une locomotion fictive et une augmentation globale de la résistance des voies aériennes. Cette bronchoconstriction, d'origine centrale, résultait en fait de deux composantes opposées, l'une cholinergique bronchoconstrictive (prédominante) et l'autre bêta-adrénergique bronchodilatatrice. *La troisième étude* montrait que l'activation mécanique ou électrique d'afférences cutanées cervicales inhibe le tonus musculaire et la locomotion fictive induite par stimulation de l'aire locomotrice mésencéphalique chez le chat décérébré et paralysé. Ce réflexe implique vraisemblablement la formation réticulée du tronc cérébral et s'apparente au réflexe d'immobilité répandu chez les vertébrés. La mise en jeu de ce type de réflexe inhibiteur pour réduire l'hypertonie musculaire spastique que présentent des sujets porteurs de lésions télencéphaliques est discutée.

**Title :** Neurophysiological mechanisms related to exercise: pressive and airways responses, reflex inhibition of locomotion.

**Abstract :** Neural mechanisms related to exercise were studied. *A first study* focused on cardio-respiratory effects of both substance P and glutamate located in spinal endings of muscular afferents which are activated during exercise. These neurotransmitters were injected in laminae I and II of lumbar dorsal horn in decerebrate and paralyzed cats. The pressor response elicited by glutamate injection was potentiated by injection of substance P at the same site. *The second study* focused on the airway response during centrally induced exercise. Central stimulation of the hypothalamic locomotor region induced fictive locomotion and an associated increase of total lung resistance in decerebrate paralyzed cats. This airway constriction was the result of two opposite components, a predominant cholinergic constriction and a  $\beta$ -adrenergic dilation. *The third study* has shown that mechanical and electrical activation of cervical cutaneous afferents inhibits both tonic nerve activity and fictive locomotion induced by activation of mesencephalic locomotor region in decerebrate paralyzed cats. This reflex is believed to be related to the immobility reflex, which exists in many vertebrates, and likely involves the brain stem reticular formation. The putative interest of this reflex to reduce spastic hypertonia in patients with telencephalic injuries is discussed.

**Mots clés :** exercice, système nerveux autonome, neuropeptide, acide aminé excitateur, moelle épinière, bronchomotricité, voies cholinergiques, voies bêta-adrénergiques, locomotion fictive, afférences cutanées cervicales, stimulation mécanique, inhibition, réflexe d'immobilité, chat,

**Ecole doctorale :** Biologie et Santé

**Spécialité :** Génie biologique et médicale

**Lieu de préparation :** Laboratoire de Physiologie - Faculté de Médecine de Nancy