NNT/NL : 2021AIXM0569/158ED62

THÈSE DE DOCTORAT

Soutenue à Aix-Marseille Université

le 13/12/2021 par

MARINE KOCHMANN

Conséquences d'une expérience sensorimotrice postnatale atypique sur le développement locomoteur chez le rat

Discipline

Biologie Santé

Spécialité

Neurosciences

École doctorale

ED62 –Sciences de la Vie et de la Santé

Laboratoire/Partenaires de recherche

Institut de Neurosciences de la Timone

(UMR 7289)

Composition du jury

Sandrine BERTRAND *Rapporteuse*

INCIA (UMR 5287), Bordeaux

Florence Perrin *Rapporteuse*

MMDN (U1198), Montpellier

Marie-Hélène Canu *Examinatrice*

UREPSSS (ULR 7369), Loos

Jean-Luc GAIARSA *Président du jury*

INMED (UMR 1249), Marseille

Jacques DURAND *Directeur de thèse*

INT (UMR 7289), Marseille

REMERCIEMENTS

Dans un premier temps, je souhaite remercier l'ensemble des membres du jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail. Je suis très reconnaissante envers le Dr Sandrine Bertrand et le Pr Florence Perrin d'accepter de consacrer du temps à la relecture de ce manuscrit. Je tiens également à remercie le Pr Marie-Hélène Canu d'avoir accepté d'examiner ce travail. Enfin, je remercie de Dr Jean-Luc Gaïarsa de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Je souhaite également remercier sincèrement le Dr Frédéric Brocard pour son accueil au sein de l'équipe P3M et pour son aide et son soutien tout au long de ma thèse. Malgré la situation délicate dans laquelle j'ai pu me trouver, je me suis toujours sentie à ma place dans l'équipe et j'ai toujours pu avoir accès à l'ensemble du matériel et de l'aide technique dont j'avais besoin.

Je souhaite également remercier le Dr Jacques Durand qui a accepté de devenir mon directeur de thèse au début de ma troisième année. Sans cette décision de ta part, je ne serais très certainement pas arrivée jusqu'au bout de ce travail de trois ans. Tu m'as permis de continuer à travailler dans un environnement plus serein et tu m'as fait confiance concernant la direction que je voulais donner à l'ensemble de mon manuscrit. Je suis très reconnaissante du temps que tu as passé à relire mon travail et des conseils que tu as pu me donner.

Je remercie également tous les membres de l'équipe P3M qui m'ont fait de nombreux retours et qui m'ont conseillé au cours de mes présentations en réunion d'équipe.

Je tiens à remercier particulièrement **Rémi Bos** qui m'a laissé utiliser son incroyable poste d'électrophysiologie, qui m'a apporté de nombreux conseils sur le plan professionnel et scientifique et avec qui nous avons eu de nombreux fou rire grâce à ces grands talents d'imitation théâtrale. Je remercie aussi sincèrement **Nejada Dingu**, pour tous les conseils méthodologiques et pour le partage de tes profondes connaissances bibliographiques. Tu as également été d'un grand soutien dans les moments plus difficiles de ma thèse. Merci également à **Edith**, **Nina** et **Tony** pour les nombreuses pauses repas, les apéros et les pauses café qui auraient été bien fades sans vous.

Je ne pourrais jamais assez remercier **Jérémy** et **Benoît**. Vous avez été de véritables piliers, et je ne serais jamais allée jusqu'au bout si vous n'aviez pas été présents. Vous êtes la chose la plus positive et précieuse que cette thèse m'ait apporté. Vous allez devoir me supporter encore de nombreuses années. Merci pour tous les fous rires, les longues conversations existentielles, les nombreux apéros, et les soirées repas et jeux de sociétés.

Je souhaite enfin remercier mes parents. Je suis consciente des sacrifices et de tout votre investissement pour que je puisse faire de longues études. Vous avez toujours fait tout votre possible pour Mikaël et moi. Je vous aime de tout mon cœur, je suis comme je suis en grande partie grâce à vous, et je suis très fière des valeurs que vous m'avez transmises.

La plus grande leçon que j'ai apprise au cours de ces trois années parfois difficiles, c'est qu'il y a plus important que la thèse. J'ai la chance d'être entourée de personnes merveilleuses et je souhaite les garder près de moi encore très longtemps.

SOMMAIRE

AFFIDAVIT 11
LISTE DES ILLUSTRATIONS 12
LISTE DES TABLES 13
LISTE DES ABRÉVIATIONS 15
RÉSUMÉ 17
ABSTRACT 18
PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE 20
Chapitre 1 La locomotion : un comportement complexe, modulé par les afférences sensorielles 22
I. Le système locomoteur 22
I.1 Généralités 22
I.2 Contrôle supra-spinal de la locomotion 24
I.3 Contrôle spinal de la locomotion 26
a. Le CPG locomoteur 26
b. Les motoneurones 29
I.4 Maturation postnatale du système locomoteur 30
a. Généralités 30
b. Importance de l'activité spontanée et des mouvements spontanés 32
c. La maturation postnatale des voies descendantes extrapyramidales 33
d. La maturation postnatale des motoneurones 34
II. Les afférences sensorielles modulent le comportement locomoteur 38
II.1 Mise en évidence de l'importance des afférences sensorielles lors de la locomotion 38
a. Généralités 38
b. Importance des retours proprioceptifs 39
II.2 Les propriocepteurs 42
a. Fuseaux neuromusculaires : 43
b. Organes tendineux de Golgi : 46
II.3 Mécanismes à l'origine de cette modulation 48
a. Le réflexe myotatique et l'inhibition réciproque via les interneurones Ia 48

b. Le réflexe d'inhibition non-réciproque du groupe I via les interneurones Ib 50
c. Inhibition récurrente via les cellules de Renshaw 50
d. Les interneurones de type II 51
e. Importance de l'inhibition présynaptique pour moduler le gain des entrées sensorielles 51
II.4 La maturation des afférences sensorielles 56
LES POINTS CLES DU CHAPITRE 1 57
Chapitre 2 : L'influence de l'expérience sensorimotrice sur la circuiterie sensorimotrice 59
I. Contexte historique : évidences du lien étroit entre l'expérience et les circuits neuronaux 59
I.1 Importance de l'expérience dans l'acquisition de comportements complexes 59
I.2 L'expérience influence l'organisation et le fonctionnement des réseaux immatures 63
II. Effet de l'expérience sensorimotrice atypique sur la locomotion 68
II.1 Généralités 68
II.2 Conséquences d'une expérience sensorimotrice négative à l'âge adulte 69
a. Le modèle de suspension par la queue à l'âge adulte : 69
b. L'immobilisation à l'âge adulte : 71
II.3 Conséquences d'une expérience sensorimotrice négative développementale 74
LES POINTS CLES DU CHAPITRE 2 81
HYPOTHESE DE TRAVAIL ET OBJECTIFS DE LA THESE 83
PARTIE II : MATERIELS & METHODES 87
I. Modèles expérimentaux et étude phénotypique 89
I.1. Modèles expérimentaux de restriction sensorimotrice postnatale 89
a. Intérêt du rat nouveau-né 89
b. Méthode de restriction sensorimotrice postnatale 90
c. Modèle précoce 90
d. Modèle tardif 91
I.2. Etude du développement phénotypique général et moteur 92
a. Développement phénotypique général 92
b. Développement phénotypique moteur 93
II. Méthodes d'enregistrements électrophysiologiques *in vitro* 97

II.1. Enregistrements électrophysiologiques sur moelle isolée 97
a. Dissection et mises en place des préparations 97
b. Protocoles utilisés et méthode d'analyse des enregistrements extracellulaires 99
II.2. Enregistrements électrophysiologiques sur tranche de moelle épinière 101
a. Dissection et mise en place des préparations 101
b. Protocoles utilisés et méthode d'analyse des enregistrements en patch-clamp 103
III. Méthodes d'enregistrements électrophysiologiques in vivo 105
III.1. Mise en place *in vivo* 105
III.2. Techniques d'enregistrement et de stimulations et analyse 106
IV. Analyses statistiques 107
PARTIE III : RESULTATS 110
I. Caractérisation du modèle précoce après une immobilisation postnatale courte 112
I.1. Retard de croissance 112
I.2. Position des pattes postérieures 113
I.3. Propriétés électrophysiologiques des motoneurones lombaires 116
I.4. Dépression du réflexe monosynaptique lombaire in vitro 120
I.5. Position de la queue 122
I.6. Propriétés électrophysiologiques des motoneurones sacrés 123
I.7. Réflexe de retournement 127
I.8. Mouvements spontanés 128
I.9. Activité spontanée in vitro 129
I.10. Etude de la nage 130
I.11. Etude de la marche 132
I.12. Locomotion fictive in vitro 136
II. Approfondissement de la caractérisation du modèle adulte après une immobilisation postnatale longue 138
II.1. Dépression du réflexe de Hoffman in vivo à P30 138
II.2. Etude de la marche à P30 139
II.3. Dépression du réflexe de Hoffman in vivo à P60 143

PARTIE IV : DISCUSSION & PERSPECTIVES **149**

I. Différences phénotypiques précoces et mécanismes sous-jacents : 151

II. Altérations des sorties motrices précoces et mécanismes sous-jacents : 156

III. Altérations observées chez le modèle immobilisé tardif 159

PARTIE V : PUBLICATION **162**

PARTIE VI : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES **175**

AFFIDAVIT

Je soussigné, KOCHMANN Marine, déclare par la présente que le travail présenté dans ce manuscrit est mon propre travail, réalisé sous la direction scientifique de Jacques-Olivier Coq puis de Jacques DURAND, dans le respect des principes d'honnêteté, d'intégrité et de responsabilité inhérents à la mission de recherche. Les travaux de recherche et la rédaction de ce manuscrit ont été réalisés dans le respect à la fois de la charte nationale de déontologie des métiers de la recherche et de la charte d'Aix-Marseille Université relative à la lutte contre le plagiat.

Ce travail n'a pas été précédemment soumis en France ou à l'étranger dans une version identique ou similaire à un organisme examinateur.

Fait à Marseille, le 13/10/2021

LISTE DES ILLUSTRATIONS

Figure I-1 : Les centres supra-spinaux impliqués dans la locomotion....26
Figure I-2 : Localisation du CPG locomoteur lombaire chez le rat nouveau-né....28
Figure I-3 : Représentation des interneurones du réseau locomoteur....28
Figure I-4 : Développement du comportement locomoteur chez le rongeur....31
Figure I-5 : Distribution des profils de décharge au cours du développement postnatal chez le rongeur....37
Figure I-6 : L'altération des retours proprioceptifs entraîne des modifications du patron locomoteur....42
Figure I-7 : Représentation schématique de l'organisation d'un fuseau neuromusculaire....45
Figure I-8 : Représentation schématique de l'organisation d'un organe tendineux de Golgi....47
Figure I-9 : Représentation schématique de la circuiterie sensorimotrice spinale chez l'Homme....54
Figure I-10 : Sites non-exhaustifs d'interactions sensorimotrices dynamiques durant la locomotion....55
Figure I-11 : L'apprentissage du chant chez le diamant mandarin....62
Figure I-12 : Mise en évidence et organisation des colonnes de dominance oculaire....65
Figure I-13 : Conséquences fonctionnelles d'une privation visuelle postnatale chez le chat....66
Figure I-14 : Conséquences de la privation visuelle sur l'organisation du système visuel....67
Figure I-15 : Altérations périphériques obtenues à l'âge adulte après une immobilisation de P0 à P28....78
Figure I-16 : Altérations centrales obtenues à l'âge adulte après une immobilisation de P0 à P28....79
Figure I-17 : Altérations locomotrices obtenues à l'âge adulte après une immobilisation de P0/P2 à P28....80
Figure I-18 : Représentation schématique de notre hypothèse de travail....84
Figure II-1 : Méthode de restriction sensorimotrice postnatale et modèles utilisés....91
Figure II-2 : Etude de la position des pattes postérieures et de la queue....93
Figure II-3 : Protocole du réflexe de retournement....95
Figure II-4 : Schéma représentant les paramètres de la marche analysés au CatWalk....97
Figure II-5 : Méthode d'enregistrement et d'analyse de l'activité spontanée et de la locomotion fictive....100
Figure II-6 : Méthodes d'enregistrement et d'analyse du reflexe myotatique et de DPA....101
Figure II-7 : Marquage ChAT au niveau du 5ème segment lombaire et des 1er et 2ème segments sacrés....103
Figure II-8 : Protocole de plateau effectué sur les motoneurones lombaires....105
Figure II-9 : Protocole d'enregistrement électromyographique in vivo du réflexe de Hoffman....107
Figure III-1 : L'immobilisation postnatale induit un retard de croissance....113
Figure III-2 : L'immobilisation postnatale entraine une hyperextension des pattes postérieures transitoire....115
Figure III-3 : L'immobilisation postnatale n'affecte pas l'excitabilité des motoneurones lombaires....118
Figure III-4 : Proportion et propriétés passives des MNs au profil de décharge immédiat et retardé....119

Figure III-5 : L'immobilisation postnatale n'affecte pas les propriétés des motoneurones lombaires 120
Figure III-6 : L'immobilisation postnatale n'entraine pas d'hyperréflexie lombaire *in vitro* à P5-6 121
Figure III-7 : L'immobilisation postnatale entraine un phénotype atypique de la queue 123
Figure III-9 : L'immobilisation postnatale n'altère pas l'excitabilité des motoneurones sacrés 125
Figure III-8 : L'immobilisation postnatale n'affecte pas les propriétés des motoneurones sacrés 126
Figure III-10 : L'immobilisation postnatal induit un retard de maturation du réflexe de retournement 127
Figure III-11 : L'immobilisation postnatale provoque une altération des mouvements spontanés 129
Figure III-12 : L'immobilisation postnatale n'a pas d'impact sur l'activité spontanée in vitro sur moelle épinière entière 130
Figure III-13 : L'immobilisation postnatale entraine des altérations de la nage 131
Figure III-14 : L'immobilisation postnatale entraine des déficits de la marche à P14 133
Figure III-15 : L'immobilisation postnatale altère les paramètres de marche des pattes avant à P14 134
Figure III-16 : L'immobilisation postnatale altère les paramètres de marche des pattes arrière à P14 135
Figure III-17 : L'immobilisation postnatale n'altère pas la locomotion fictive à P2 137
Figure III-18 : L'immobilisation postnatale longue n'entraine pas d'hyperréflexie spinale à P30 139
Figure III-19 : L'immobilisation postnatale n'entraine pas d'altération des propriétés de la marche à P30 141
Figure III-20 : L'immobilisation postnatale altère les paramètres de marche des pattes avant à P30 142
Figure III-21 : L'immobilisation postnatale n'altère pas les paramètres de marche des pattes avant à P30 143
Figure III-22 : L'immobilisation postnatale n'entraine pas d'hyperréflexie spinale à P60 145
Figure IV-1 : Musculature de la patte postérieure du rat 152
Figure IV-2 : Un phénotype de queue similaire a été observé chez des souris médullo-lésées 155

LISTE DES TABLES

Table III-1 : Récapitulatif des propriétés des motoneurones lombaires et sacrés 126

LISTE DES ABRÉVIATIONS

5-HT : sérotonine

ADP : dépolarisation transitoire post-PA

BDS : base de support

CGL : corps géniculé latéral

ChAT : choline acétyltransférase

CN : noyaux cunéiformes

CONT : contrôle

CPG : générateur central du patron

CSA : cross-sectional area

DPA : dépression post-activation

EMG : électromyogramme

FDB : flexor digitorum brevis

GABA : acide gamma-aminobutyrique

Gc : muscle gastrocnémien

GM : muscle gastrocnémien médian

INs : interneurones

LC : locus coeruleus

MLR : région locomotrice mésencéphalique

MNs : motoneurones

MRF : neurones réticulaires médullaires

NMDA : acide N-méthyl-D-aspartique

OTG : organe tendineux de Golgi

PA : potentiel d'action

PAD : dépolarisation des afférences primaires

PPN : noyaux pédonculo-pontins

Réflexe H : réflexe de Hoffmann

RN : neurones réticulaires pontiques

SMR : restriction sensorimotrice

SOL : muscle soléaire

TA : muscle tibialis antérieur

vGAT : transporteur vésiculaire du GABA

vGLUT1 : transporteur vésiculaire du glutamate

RÉSUMÉ

L'expérience sensorielle est aujourd'hui reconnue pour son rôle crucial sur l'organisation et la fonction des réseaux neuronaux. De nombreuses études ont ainsi montré qu'une expérience sensorimotrice atypique peut entrainer des altérations des sorties motrices ainsi que des déficits périphériques et centraux. Ces modifications peuvent survenir à des âges où les réseaux sont matures, mais pourraient être encore plus importantes lorsque les réseaux sont immatures. Cependant, la grande majorité de ces études a été réalisée chez le rongeur adulte. A la naissance, les réseaux spinaux impliqués dans le comportement locomoteur ne sont pas tous matures. De nombreux processus de maturation postnataux vont se mettre en place durant les premières semaines chez le rat. Des études récentes, utilisant un modèle d'immobilisation des pattes arrière chez le rat, suggèrent qu'une expérience sensorimotrice atypique vécue durant cette période critique entraîne des altérations bien plus sévères et persistantes chez l'animal adulte. Dans cette thèse, nous avons approfondi cette caractérisation du modèle tardif ayant vécu une immobilisation postnatale des pattes arrière. Par la suite, nous avons étudié les conséquences précoces d'une immobilisation postnatale des pattes arrière chez le rat. En combinant des approches électrophysiologiques et comportementales, nous avons mis en évidence des différences phénotypiques précoces importantes. Celles-ci ne semblent pas être dues à des modifications centrales et pourraient être le reflet d'altérations périphériques. Nous avons également mis en évidence des déficits importants du comportement locomoteur précoce. L'ensemble de ce travail suggère qu'une expérience sensorimotrice atypique vécue durant la période postnatale peut conduire à des modifications développementales précoces des réseaux moteurs spinaux.

ABSTRACT

Sensory experience is now recognised as playing a crucial role in the organisation and function of neural networks. Numerous studies have shown that atypical sensory-motor experience can lead to alterations in motor output as well as peripheral and central deficits. These changes can occur at ages when the networks are mature, but may be even more important when the networks are immature. However, the vast majority of these studies have been conducted in the adult rodent. At birth, not all spinal networks involved in locomotor behaviour are mature. Many postnatal maturation processes will take place during the first few weeks in the rat. Recent studies using a rat hindlimb immobilisation model suggest that atypical sensorimotor experience during this critical period results in much more severe and persistent alterations in the adult animal. In this thesis, we further characterized the late model with postnatal hindlimb immobilization. Subsequently, we investigated the early consequences of postnatal hindlimb immobilisation in the rat. Using a combination of electrophysiological and behavioural approaches, we found significant early phenotypic differences. These do not appear to be due to central changes and may reflect peripheral alterations. We also found significant deficits in early locomotor behaviour. Taken together, this work suggests that atypical sensorimotor experience in the postnatal period may lead to early developmental changes in spinal motor networks.

PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

« Celui qui apprend quelque chose de moi enrichit son savoir sans réduire le mien, tout comme celui qui allume sa chandelle à la mienne se donne de la lumière sans me plonger dans l'obscurité. »

-

Thomas Jefferson

Chapitre 1 La locomotion : un comportement complexe, modulé par les afférences sensorielles

La locomotion est une compétence cruciale puisqu'elle permet aux organismes de se déplacer dans leur environnement afin de fuir un danger, d'accéder à la nourriture ou encore d'interagir socialement et de se reproduire avec des congénères. Elle est apparue très tôt au cours de l'évolution et a fait l'objet de nombreuses études scientifiques cherchant à élucider les mécanismes neuronaux à l'origine de ce comportement complexe. Dans ce chapitre, nous allons nous intéresser au système locomoteur en abordant les réseaux neuronaux supra-spinaux et spinaux nécessaires à son expression ainsi qu'à la maturation du comportement locomoteur au cours du développement postnatal. Nous verrons ensuite que ce comportement locomoteur peut-être fortement modulé par les afférences sensorielles et nous nous intéresserons plus spécifiquement aux informations proprioceptives. Cette interaction est très importante et permet de moduler le comportement locomoteur pour faire face à un environnement changeant. Enfin, nous nous intéresserons à la circuiterie sensorimotrice spinale et aux mécanismes à l'origine de la modulation locomotrice par les afférences sensorielles ainsi qu'à la maturation des retours sensoriels au cours du développement postnatal.

I. Le système locomoteur

I.1 Généralités

Le patron locomoteur est défini par la répétition rythmique et alternée d'un cycle, composé d'une phase d'appui et d'une phase de transfert, entre les différents membres du corps. C'est un comportement complexe qui repose sur trois systèmes : **i)** le système squelettique, composé des os qui, articulés entre eux, vont transférer et multiplier les forces qui leur sont appliquées ; **ii)** le système musculaire, composé des muscles, qui va mobiliser les os du système squelettique via leur contraction ;

et **iii)** le système nerveux qui commande la contraction des muscles. Durant la locomotion, les nombreux muscles extenseurs et fléchisseurs d'un même membre vont se contracter de façon alternée. Ce patron complexe de contractions musculaires se fait grâce aux motoneurones spinaux dont certains vont spécifiquement innerver les muscles fléchisseurs, et d'autres les muscles extenseurs. L'innervation des muscles fléchisseurs se situe préférentiellement dans les segments rostraux de la moelle épinière lombaire (L1-L4) tandis que l'innervation des muscles extenseurs se situe dans les segments plus caudaux (L3-L6 pour les membres inférieurs *(Vanderhorst and Holstege, 1997; Coonan, Bartlett and Galea, 2003; Bácskai et al., 2014)*. De nombreuses études se sont alors intéressées aux mécanismes contrôlant le patron d'activation des motoneurones lombaires, à l'origine d'un comportement si complexe.

Il existe deux types de contrôle de l'activité musculaire : volontaire et automatique. Les mouvements volontaires permettent l'exécution de tâches motrices précises, le plus souvent dirigé vers un but, tels que la préhension ou les mouvements oculaires. Les mouvements automatiques concernent majoritairement des tâches motrices involontaires, tels l'ajustement postural, le reflexe myotatique ou encore la respiration. Le patron locomoteur, quant à lui, fait intervenir à la fois des processus automatiques et intentionnels *(Kiehn, 2016)*. Le versant automatique est assuré par un générateur central du patron (CPG), situé au sein même de la moelle épinière. Le CPG est capable de générer un rythme et un patron locomoteur précis, ensuite transmis aux motoneurones, puis aux muscles axiaux et aux muscles des membres. Le versant volontaire est assuré par des structures supra-spinales et permet la planification et l'initiation de la locomotion, ainsi que l'affinement de la trajectoire de l'animal en fonction des contraintes environnementales.

I.2 Contrôle supra-spinal de la locomotion

Les processus intentionnels intervenant dans la locomotion, à savoir la planification, l'initiation, sa modulation, et son arrêt, sont majoritairement assurés par des structures supra-spinales *(Kiehn, 2016)*. Des études ont démontré que le néocortex n'était pas indispensable dans l'expression de la locomotion *(Whelan, 1996; Muir and Whishaw, 1999; Dubuc et al., 2008a)*. En effet, le cortex moteur et le cortex pariétal postérieur jouent plutôt un rôle dans la planification et la modulation de la locomotion et reçoivent les afférences de nombreuses autres structures telles que les ganglions de la base, le cervelet, le cortex somesthésique, le cortex visuel etc. *(Drew and Marigold, 2015)*.

Les expériences effectuées chez le chat décérébré (présentant une section transversale au-dessus des colliculi supérieurs) ont mis en évidence le rôle indispensable des centres sous-corticaux dans la locomotion. Il est possible d'initier et de moduler la marche de ces animaux en stimulant électriquement une région mésencéphalique *(Shik, Severin and Orlovskiĭ, 1966)* ; ou des structures projetant sur cette dernière *(Rossignol, Dubuc and Gossard, 2006)*. Des stimulations croissantes de cette structure, nommée Région Locomotrice Mésencéphalique (MLR), permettent de générer différents schémas de marche, allant du trot jusqu'au galop, en fonction de la force du stimulus électrique *(Shik, Severin and Orlovskiĭ, 1966; Rossignol, Dubuc and Gossard, 2006; Caggiano et al., 2018)*. Il est intéressant de noter qu'après sa description initiale chez le chat par Shik, des zones homologues de la MLR ont été décrites chez de nombreuses espèces de vertébrés, notamment le rat *(Garcia-Rill et al., 1990)*, la lamproie *(McClellan and Grillner, 1984)* ou encore le singe *(Eidelberg, Walden and Nguyen, 1981)*. Bien qu'étant à l'origine de l'initiation de la locomotion, la MLR ne semble pas avoir de projections directes sur la moelle épinière. Elle est située à l'interface des noyaux cunéiformes (CN) et pédonculo-pontins (PPN). Les informations provenant de la MLR sont relayées au niveau du Locus Coeruleus (LC) et des neurones réticulaires pontiques (RN) et médullaires (MRF) *(Dubuc et al., 2008b; Noga et al., 2017)* qui activent et régulent les interneurones du CPG locomoteur, ainsi que les motoneurones *(Floeter and Lev-Tov, 1993; Jankowska, 2008)* via la voie réticulospinale **(Figure I-1)**. La

MRF va alors activer les CPG locomoteurs via des afférences glutamatergiques et les afférences sérotoninergiques provenant des neurones du RN jouent un rôle stabilisateur. Il est important de noter qu'il est ainsi possible de générer un rythme locomoteur fictif sur une préparation de moelle épinière isolée *in vitro* par l'application d'agonistes tels que l'acide N-méthyl-D-aspartique (NMDA) et la sérotonine (5-HT), mimant ces afférences *(Cazalets, Sqalli-Houssaini and Clarac, 1992; Kjaerulff and Kiehn, 1996)*.

Bien que les régions supra-spinales, vues précédemment, jouent un rôle important dans le contrôle de la locomotion, certaines expériences ont démontré qu'elles n'étaient pas indispensables. L'existence de structures spinales, capables de générer un patron locomoteur, indépendamment des afférences supra-spinales et sensorielles, a été avancé par T.G Brown il y a plus de 100ans *(Brown, 1911)*. D'autres études ont depuis été réalisées chez de nombreux vertébrés, notamment une démontrant que des chatons étaient capables de récupérer une locomotion involontaire des membres postérieurs sur un tapis roulant après une transsection complète de la moelle épinière au niveau du segment thoracique T13 *(Barbeau and Rossignol, 1987)*. Cette étude témoigne de l'existence de centres spinaux contrôlant la locomotion des membres postérieurs de manière automatique, indépendamment des contrôles volontaires supra-spinaux.

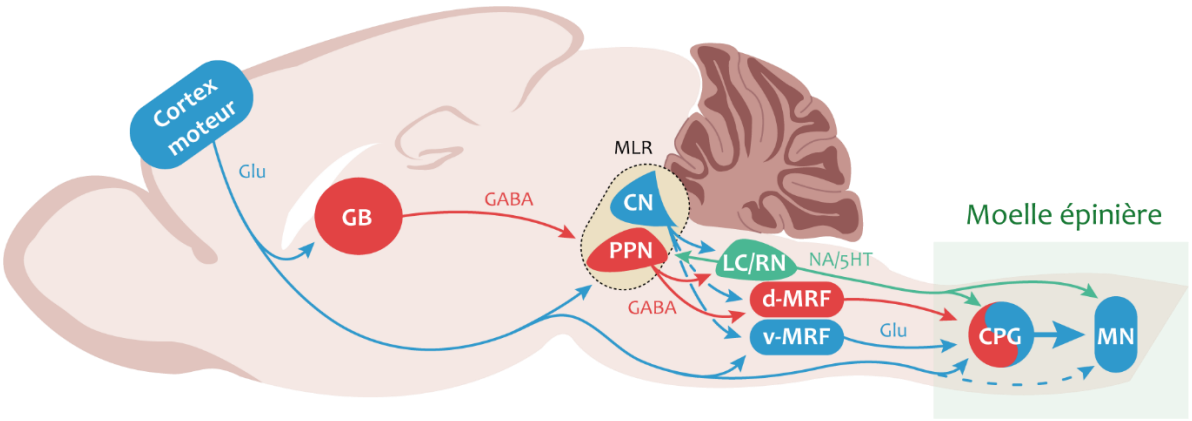


Figure I-1 : Les centres supra-spinaux impliqués dans la locomotion

Représentation schématique des afférences supra-spinales activant et régulant le réseau locomoteur spinal. La locomotion est initiée par la région locomotrice mésencéphalique (MLR) localisée à l'interface des noyaux cunéiforme (CN) et pédonculo-pontin (PPN). Elle active ensuite le Locus Coeruleus (LC) et les neurones réticulaires du noyau réticulaire pontique (RN) et de la formation réticulée médullaire (MRF). Ces structures vont alors projeter sur les réseaux locomoteurs spinaux via la voie réticulospinale et libérer du glutamate (Glu), du GABA, de la noradrénaline (NA) et de la sérotonine (5-HT) afin de générer un rythme locomoteur.

I.3 Contrôle spinal de la locomotion

a. Le CPG locomoteur

Comme nous l'avons abordé précédemment, le CPG est la structure spinale indispensable à la genèse du rythme et du patron locomoteur. En effet, il est possible de générer des activités rythmiques et alternées sur des préparations *in vitro d*e moelle épinière isolée, en absence des centres supra-spinaux et des retours sensoriels *(Kudo and Yamada, 1987b)*. La localisation de ce CPG ainsi que les mécanismes sous-jacents à son autorythmicité ont été étudiés et décrits chez de nombreux vertébrés, notamment le rongeur.

Le marquage des neurones actifs lors de la locomotion fictive a permis de localiser le CPG au niveau de la zone ventro-médiane (Lamina VII, VIII, et X) des segments lombaires pour les membres postérieurs *(Kjaerulff, Barajon and Kiehn, 1994; Kjaerulff and Kiehn, 1996; Cina and Hochman, 2000)*. D'autres études ont pu affiner ces observations et localiser la région la plus rythmogène au niveau des deux

premiers segments lombaires, grâce à des lésions ou des partitionnements de la moelle épinière de chat *in vitro* *(Cazalets, Borde and Clarac, 1995; Marcoux and Rossignol, 2000; Langlet, Leblond and Rossignol, 2005)* **(Figure I-2)**.

Le CPG doit activer des groupes de motoneurones de façon rythmique de sorte que leur activité concertée débouche sur une sortie motrice appropriée. Chez les vertébrés ayant des membres, cela implique la coordination de l'activité musculaire au sein d'un même membre (fléchisseurs/extenseurs) et entre les membres (gauche/droite). Le CPG va également fixer le rythme locomoteur *(Kiehn, 2016)*. Nous pouvons différencier les neurones du CPG en deux populations : **i)** ceux générant le rythme ; **ii)** et ceux à l'origine de la mise en place du patron locomoteur. Le réseau locomoteur est composé de plusieurs populations d'interneurones ventraux, nommées de V0 à V3 et qui se différencient par leur expression de facteurs de transcription *(Goulding et al., 2002; Stepien and Arber, 2008)* **(Figure I-3)**. La mise en évidence d'un tel " code moléculaire " différenciant ces populations d'interneurones a ouvert la voie pour l'étude fonctionnelle génétique de ces derniers. En fonction de leur localisation, leurs projections, ainsi que de la nature de leur neurotransmission, nous pouvons déterminer le rôle de chacune de ces populations dans les différents paramètres de la locomotion *(Deska-Gauthier and Zhang, 2019)* **(Figure I-3)**. Dans le cadre de cette thèse, nous n'allons pas détailler le rôle de chacune de ses populations, la figure 3 résume de façon générale leur rôle respectif.

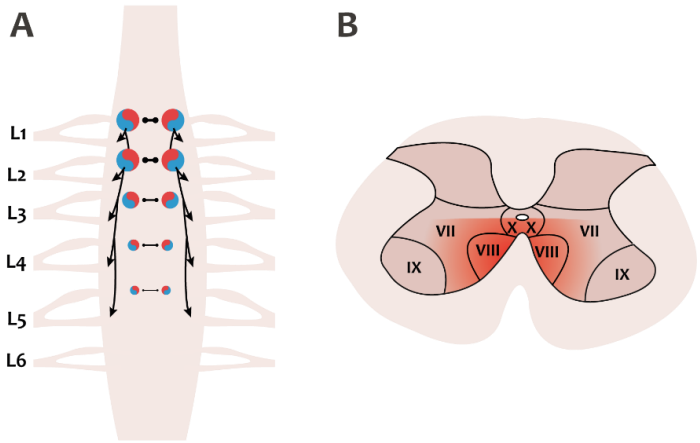


Figure I-2 : Localisation du CPG locomoteur lombaire chez le rat nouveau-né

A : Le CPG locomoteur des membres postérieurs est localisé au niveau des segments lombaires. Cependant, le rythme locomoteur est majoritairement généré au niveau des segments L1 et L2. B : Le marquage des neurones actifs lors de la locomotion fictive a permis de localiser les neurones du CPG locomoteur au niveau de la zone ventro-médiane des segments lombaires (Lamina VII, VIII et X).

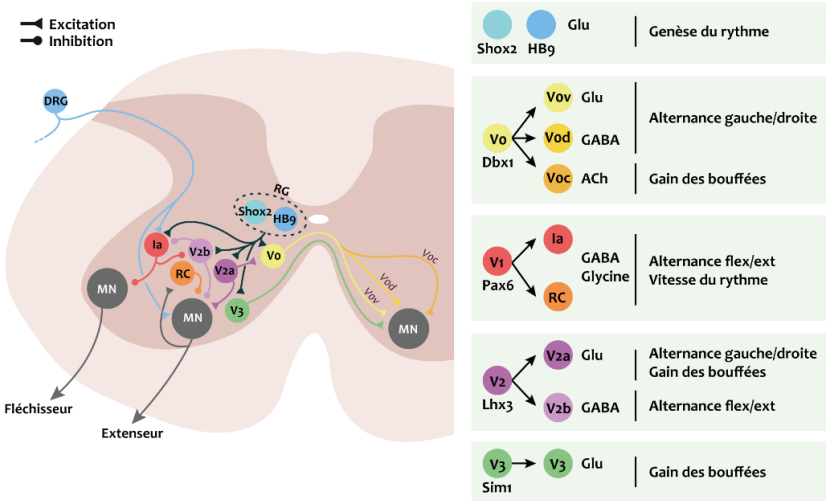


Figure I-3 : Représentation des interneurones du réseau locomoteur

Représentation schématique des connexions entre les différents interneurones ventro-médians du réseau locomoteur spinal. Le rythme est généré par les interneurones non-V2a Shox2^{+} et HB9 et est diffusé aux quatre populations d'interneurones V0, V1, V2 et V3 qui affinent le patron locomoteur en agissant sur les motoneurones. Les fonctions de chaque population, définie par un facteur transcriptionnel, sont résumées sur la droite de la figure ainsi que la nature de sa neurotransmission. DRG : Ganglion de la racine dorsale ; MN : motoneurone ; RN : Cellule de Renshaw ; RG : Générateur du rythme locomoteur.
D'après *Rybak, Dougherty and Shevtsova, 2015*.

b. Les motoneurones

Les motoneurones sont l'élément ultime de la circuiterie spinale et assurent la sortie motrice générée par les structures sus-jacentes. Ils sont divisés en trois populations en fonction des fibres qu'ils innervent : les motoneurones α, β et γ. Les motoneurones γ innervent les fibres intrafusales des fuseaux neuromusculaires *(Hunt and Kuffler, 1951)*. Les motoneurones β innervent également, dans une moindre mesure, les fibres intrafusales *(Laporte, Emonet-Dénand and Jami, 1981)*. Ce sont les motoneurones les moins abondants et les moins caractérisés. Enfin, les motoneurones α innervent les fibres musculaires extrafusales. Ils sont caractérisés par un large soma et peuvent être divisés en trois sous-types selon le type de fibre musculaire qu'ils innervent. Les propriétés électriques de ces sous-types de motoneurones α sont en accord avec la fonction supposée de l'unité motrice innervée *(Gardiner, 1993; Burke, 2011; Manuel and Zytnicki, 2011)*. Les motoneurones qui innervent les unités motrices S (à contraction lente, résistantes à la fatigue et supposées impliquées dans l'activité posturale) ont une faible conductance entrante et sont les plus excitables. Les motoneurones innervant les unités motrices FR, (à contraction rapide, résistantes à la fatigue et également supposées impliquées dans l'activité posturale) ont généralement une conductance plus grande et sont moins excitables. Enfin, les motoneurones innervant les unités motrices FF (à contraction rapide, fatigables et supposées impliquées dans les mouvements transitoires puissants) sont les moins excitables.

De plus, en fonction de la nature du muscle qu'ils innervent, les motoneurones α peuvent être dits « fléchisseurs » ou « extenseurs ». De nombreuses études de traçage nous révèlent que les motoneurones innervant les muscles fléchisseurs sont essentiellement localisés dans les segments rostraux de la moelle épinière lombaire (L1-L4), tandis que les motoneurones innervant les muscles extenseurs sont essentiellement localisés dans les segments plus caudaux (L3-L6) *(Vanderhorst and Holstege, 1997; Coonan, Bartlett and Galea, 2003; Bácskai et al., 2014)*. Les axones des motoneurones passent via les racines ventrales de la moelle épinière et contactent leur cible musculaire via les jonctions neuromusculaires. Ils constituent la voie de sortie du système nerveux central moteur.

Enfin, les motoneurones sont capables de présenter des propriétés dites de plateau, permettant d'augmenter le gain entre les entrées et les sorties synaptiques *(Hounsgaard et al., 1988)*. Il se pourrait que l'expression des propriétés de plateau des motoneurones soient primordiales au comportement locomoteur et pourrait jouer un rôle dans la production du tonus postural *(Bouhadfane et al., 2013)*.

I.4 Maturation postnatale du système locomoteur

a. Généralités

Bien que le CPG locomoteur soit mature et fonctionnel à la naissance *(Clarac, Brocard and Vinay, 2004)*, les animaux altriciaux, tels que les rongeurs, ne sont pas capables de marcher. Cette incapacité s'explique par une immaturité du maintien postural. En effet, lorsque les contraintes gravitationnelles sont réduites, comme lors de la nage, ou lorsqu'ils sont maintenus en l'air, ces animaux sont capables d'exprimer un comportement locomoteur rythmique et alterné *(Cazalets et al., 1990; Fady, Jamon and Clarac, 1998)*. Des processus de maturation importants des aptitudes locomotrices et posturales se mettent en place au cours des trois premières semaines postnatales chez le rat **(Figure I-4)**.

A la naissance (P0), les ratons ne peuvent que ramper puisqu'ils ne possèdent pas la force musculaire ni le contrôle postural nécessaires au support de leur poids *(Altman and Sudarshan, 1975; Geisler, Westerga and Gramsbergen, 1993; Clarac et al., 1998)*. Des adaptations posturales vont se mettre en place de façon rostrocaudale avec apparition du maintien de la tête, de l'élévation des épaules et enfin de l'élévation de la région pelvienne *(Altman and Sudarshan, 1975; Brocard, Vinay and Clarac, 1999a; Clarac, Brocard and Vinay, 2004)*. Les animaux sont ainsi capables de se dresser en posture quadrupède après le dixième jour postnatal avec le ventre qui s'élève du sol *(Clarac et al., 1998; Clarac, Brocard and Vinay, 2004)*. A partir de P13, les rats sont capables de marcher, bien que le contrôle postural du tronc reste faible. C'est après P15 que la marche exprimée par ces animaux possède toutes les caractéristiques de celle observée chez les adultes *(Clarac, Brocard and Vinay, 2004)*. Nous verrons que

la maturation du maintien postural coïncide avec la maturation rostrocaudale des structures nerveuses nécessaires à l'activité locomotrice.

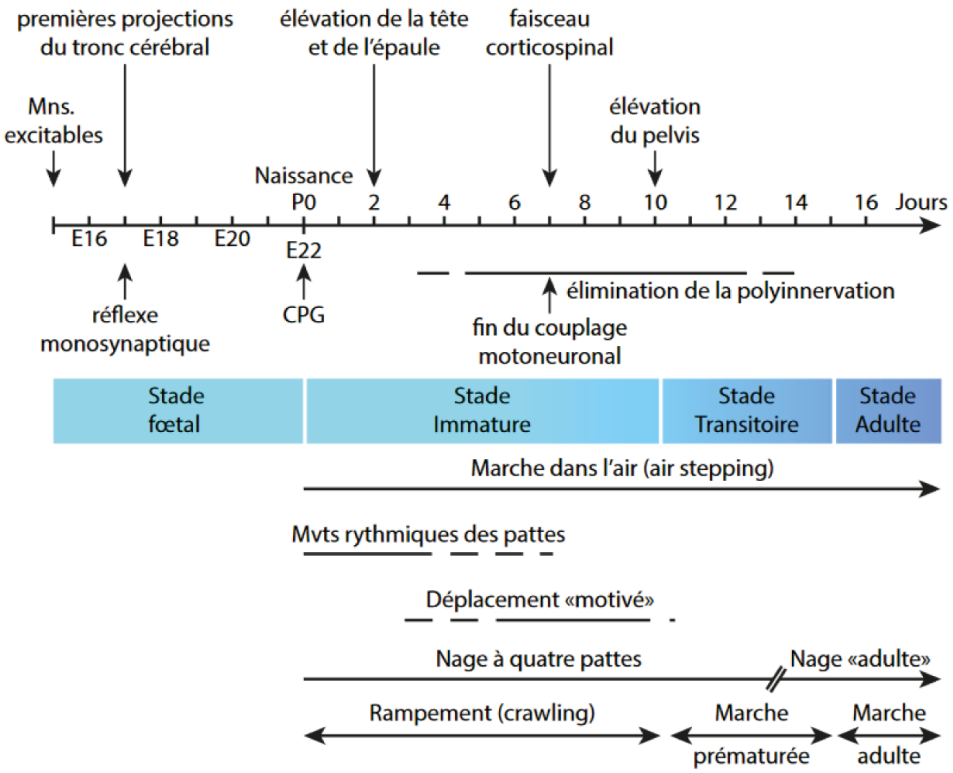


Figure I-4 : Développement du comportement locomoteur chez le rongeur

La maturation de la locomotion peut être divisée en trois grands stades. Le stade fœtal commence aux alentours d'E15, les motoneurones deviennent excitables et le CPG mature. Le stade immature commence à la naissance, le CPG est capable de générer un patron rythmique et alterné mais le maintien postural n'est pas mature. La maturation de la posture se fait selon un gradient rostrocaudal de P0 à P10. Durant cette période, seul les comportements posturaux non complexes sont possibles. Le stade transitoire, de P10 à P15, correspond à la période pendant laquelle l'animal développe une marche de plus en plus mature et ouvre les yeux. A partir de P15, l'animal présente un comportement locomoteur adulte.
Figure adaptée de *Clarac, Brocard and Vinay, 2004*.

b. Importance de l'activité spontanée et des mouvements spontanés

Les mouvements spontanés sont caractéristiques des premiers stades du développement des mammifères *(Burrington, 1977; De Vries, Visser and Prechtl, 1982; Blumberg, Freeman and Robinson, 2009)*. Il semblerait que ces mouvements spontanés soient impliqués dans un certain nombre de processus développementaux dépendant de l'activité tels que la formation de connexions neuromusculaires *(Sanes and Lichtman, 1999)*, le développement de circuits et de réflexes sensorimoteurs de la moelle épinière *(Petersson et al., 2003; Mendelsohn et al., 2015)* ou encore la formation des cartes thalamo-corticales *(Khazipov et al., 2004; McVea, Mohajerani and Murphy, 2012; An, Kilb and Luhmann, 2014)*. De plus, les retours sensoriels résultant des mouvements spontanés postnataux seraient déterminants pour la coordination de l'activité dans les circuits sensorimoteurs de la moelle épinière en développement *(Inácio et al., 2016)*. Les *twitches*, des mouvements spontanés brefs présents durant le sommeil paradoxal lors du développement, sont particulièrement importants lors du développement postnatal *(Petersson et al., 2003; Blumberg, Marques and Iida, 2013; Blumberg et al., 2015; Sokoloff et al., 2015)*. Pendant longtemps, l'origine de ces *twitches* a été attribuée soit à l'activité spontanée de structures du tronc cérébral *(Vertes, 1984; Chase and Morales, 1990)* ; soit à l'activité spontanée des circuits locaux au sein de la moelle épinière *(Narayanan, Hamburger and Fox, 1971; Hamburger, 1973)*. Cependant, il a été montré que ces deux origines (locale et supra-spinale) étaient toutes deux impliquées dans la genèse des *twitches* chez des rats âgés de 5 à 8 jours suite à une section thoracique de la moelle épinière *(Blumberg and Lucas, 1994)*.

L'activité spontanée est également une caractéristique des réseaux en développement et est connue pour son rôle dans la maturation des neurones et des réseaux du système nerveux de façon générale. Ces activités spontanées ont été observées dans de nombreuses structures cérébrales en développement, ainsi qu'au niveau de la moelle épinière *(O'Donovan, 1999)*. En effet, à ces stades, la moelle épinière isolée de rongeur *in vitro* présente des activités rythmiques spontanées *(Nishimaru et al., 1996; Fellippa-Marques, Vinay and Clarac, 2000; Yvert, Branchereau and Meyrand, 2004)*. En plus de

participer à la génération des mouvements spontanés, cette activité serait notamment importante pour consolider les synapses fonctionnelles et éliminer les connexions aberrantes selon la théorie Hebbienne *(Hebb, 1949)*. Cette activité spontanée est également essentielle dans le guidage et la croissance axonale des motoneurones durant le développement *(Hanson and Landmesser, 2004)*.

c. La maturation postnatale des voies descendantes extrapyramidales

Chez les rongeurs, les fibres provenant du tronc cérébral sont les premières à arriver dans la moelle épinière. Les premiers axones des projections supra-spinales extrapyramidales sont déjà présents au niveau de la moelle sacro-lombaire à la naissance *(Leong, Shieh and Wong, 1984; Vinay et al., 2000)*. Les voies supra-spinales descendantes arrivent et maturent en premier lieu dans les segments cervicaux puis dans les segments lombaires. En effet, ces projections atteignent la moelle épinière de façon rostrocaudale dès le 13ème jour embryonnaire et jusqu'à la naissance *(Leong, Shieh and Wong, 1984; Auclair, Bélanger and Marchand, 1993; Kudo, Furukawa and Okado, 1993; Lakke, 1997)*. Ces projections continuent à envahir la moelle épinière après la naissance et jusqu'à la fin de la deuxième semaine postnatale *(Lakke, 1997)*. Bien que ces projections soient présentes à la naissance, elles ne sont pas forcément matures fonctionnellement. En effet, il a été montré que la réponse des motoneurones lombaires à la stimulation du funiculus ventrolatéral (contenant les fibres réticulospinales et vestibulospinales) augmente en amplitude, et que la latence de leur réponse diminue, entre P0 et P4 *(Brocard, Vinay and Clarac, 1999b)*. Ce résultat suggère la mise en place de connexions directes entre ces fibres et les motoneurones durant la première semaine après la naissance. Enfin, la myélinisation des fibres descendantes va également maturer au cours du développement postnatal *(Cai et al., 2013)*. L'ensemble des voies descendantes va donc grandement maturer au cours des premières semaines afin d'atteindre un profil d'innervation adulte fonctionnel. L'altération de ce développement postnatal peut induire d'importants déficits posturaux *(Pflieger, Clarac and Vinay, 2002)* et locomoteur *(Nakajima, Matsuyama and Mori, 1998)*.

d. La maturation postnatale des motoneurones

Au cours du développement embryonnaire, les motoneurones des segments cervicaux sont générés plus tôt que ceux des segments lombaires (E11-12 vs E13-14) *(Altman and Bayer, 1984)*. Une grande partie de ces motoneurones vont dégénérer et mourir durant ce développement prénatal *(Lance-Jone, 1982)*.

Le développement morphologique des motoneurones innervant les muscles des membres postérieurs a été étudié chez le rat en utilisant des techniques de marquage rétrograde *(Westerga and Gramsbergen, 1992; Kerai et al., 1995)* ou encore des injections intracellulaires *(Dekkers et al., 1994)*. Chez le rat, le diamètre et la taille du soma des motoneurones augmentent rapidement durant les deux premières semaines postnatales, puis évoluent plus lentement jusqu'à atteindre une taille adulte au cours de la troisième semaine postnatale. En plus d'être générés plus tôt, les motoneurones cervicaux atteignent leur taille adulte avant les motoneurones lombaires, suivant ainsi une maturation rostrocaudale *(Cameron et al., 1989)*. L'arborisation dendritique des motoneurones se développe fortement après la naissance *(Ulfhake and Cullheim, 1988; Ulfhake, Cullheim and Franson, 1988; Li et al., 2005)*. Bien que le nombre de dendrites primaires ne change pas après la naissance *(Li et al., 2005; Filipchuk and Durand, 2012)*, la longueur et le diamètre des branchements dendritiques intermédiaires et terminaux vont augmenter progressivement au cours des deux premiers mois après la naissance *(Dekkers et al., 1994)*.

En plus de cette maturation morphologique postnatale, les propriétés électrophysiologiques des motoneurones vont également maturer après la naissance. Un couplage électrotonique via les synapses électriques (jonctions GAP) entre les motoneurones innervant le même muscle squelettique est présent fonctionnellement et de façon transitoire durant la période périnatale *(Walton and Navarrete, 1991)*. Ce couplage électrotonique diminue après la naissance et n'est plus fonctionnel après la première semaine postnatale *(Walton and Navarrete, 1991; Chang et al., 1999)*. De façon générale, ce couplage électrotonique joue un rôle important dans la formation normale des synapses et de la circuiterie du système nerveux central des vertébrés pendant le développement précoce *(Guthrie and Gilula, 1989;*

Kandler and Katz, 1995). Il se pourrait que la synchronisation de l'activité des motoneurones via les jonctions GAP serve à l'élagage, activité-dépendant, de l'innervation polysynaptique des fibres musculaires qui a lieu au cours des premières semaines postnatales *(Chang et al., 1999; Chang and Balice-Gordon, 2000; Personius and Balice-Gordon, 2000; Kiehn and Tresch, 2002)*. L'activité synchronisée des motoneurones homonymes au cours de la vie embryonnaire et des premières semaines postnatales favorise l'innervation des fibres musculaires individuelles par de multiples axones moteurs. La transition de ce modèle d'innervation polysynaptique vers le modèle mature d'innervation monosynaptique à la fin de la première semaine postnatale pourrait résulter d'une réduction de l'activité synchronisée entre les motoneurones, conduisant à un processus compétitif d'élimination des synapses. Cette réduction de la synchronisation entre les motoneurones résulterait de la perte progressive du couplage électrotonique entre les motoneurones *(Kiehn and Tresch, 2002)*.

La capacitance des motoneurones augmente au cours de la première semaine postnatale tandis que leur résistance d'entrée diminue au cours du développement postnatal *(Seebach and Mendell, 1996; Durand et al., 2015; Smith and Brownstone, 2020)*. Ces propriétés sont directement affectées par les changements morphologiques que subissent les motoneurones durant les premières semaines de développement. En plus des modifications des propriétés passives des motoneurones, des processus de maturation de leurs propriétés de décharge se mettent également en place durant le développement postnatal.

Concernant les propriétés du potentiel d'action des motoneurones lombaires, il a été montré que son amplitude ne varie pas contrairement à sa durée qui diminue au cours du développement *(Nakanishi and Whelan, 2010; Filipchuk and Durand, 2012; Durand et al., 2015; Smith and Brownstone, 2020)*. De plus, la dépolarisation transitoire (ADP) suivant la phase de repolarisation des potentiels d'actions va également maturer au cours du développement postnatal des motoneurones lombaires. En effet, la proportion de motoneurones présentant une ADP augmente au cours de la première semaine postnatale, et est retrouvée dans 100% des motoneurones enregistrés durant la deuxième semaine

postnatale *(Smith and Brownstone, 2020)*. Cette ADP permet aux motoneurones de décharger à de plus hautes fréquences.

Concernant les propriétés électrophysiologiques, il a été montré que la rhéobase, correspondant au courant minimal nécessaire à l'induction d'un potentiel d'action et reflétant l'excitabilité du neurone, augmente durant la première semaine postnatale *(Nakanishi and Whelan, 2010; Durand et al., 2015)*. Les motoneurones présentent donc une diminution de leur excitabilité au cours de leur maturation postnatale. La rhéobase présente ensuite des valeurs plus variables à partir de la deuxième semaine postnatale reflétant la diversité des motoneurones *(Nakanishi and Whelan, 2010; Durand et al., 2015)*. De plus, les motoneurones peuvent présenter différents profils de décharge à la suite de l'injection d'un créneau dépolarisant : **i)** un profil transitoire ; **ii)** un profil soutenu ; **iii)** et un profil retardé **(Figure I-5)**. Des études ont montré que le profil de décharge transitoire disparaît au cours du développement postnatal, au profit du profil soutenu, et serait caractéristique des motoneurones immatures *(Vinay, Brocard and Clarac, 2000; Durand et al., 2015)*. En effet, l'étude de J. Durand a montré que la majorité des motoneurones lombaires présente un profil soutenu et que leur proportion augmente au cours du développement postnatal pour passer à 100% à P9 chez la souris *(Durand et al., 2015)*. Cependant, d'autres études ont montré que le profil de décharge retardé était toujours présent dans des motoneurones spinaux à des âges plus avancés et *in vivo* *(Zhu et al., 2012; Bos et al., 2018)*. Il se pourrait que ces différences de proportion concernant l'expression du profil retardé durant le développement soient dues à des conditions expérimentales différentes. Ainsi, le profil de décharge retardé pourrait ne pas être un profil immature et au contraire, avoir une importance fonctionnelle même après la maturation postnatale de la circuiterie sensorimotrice.

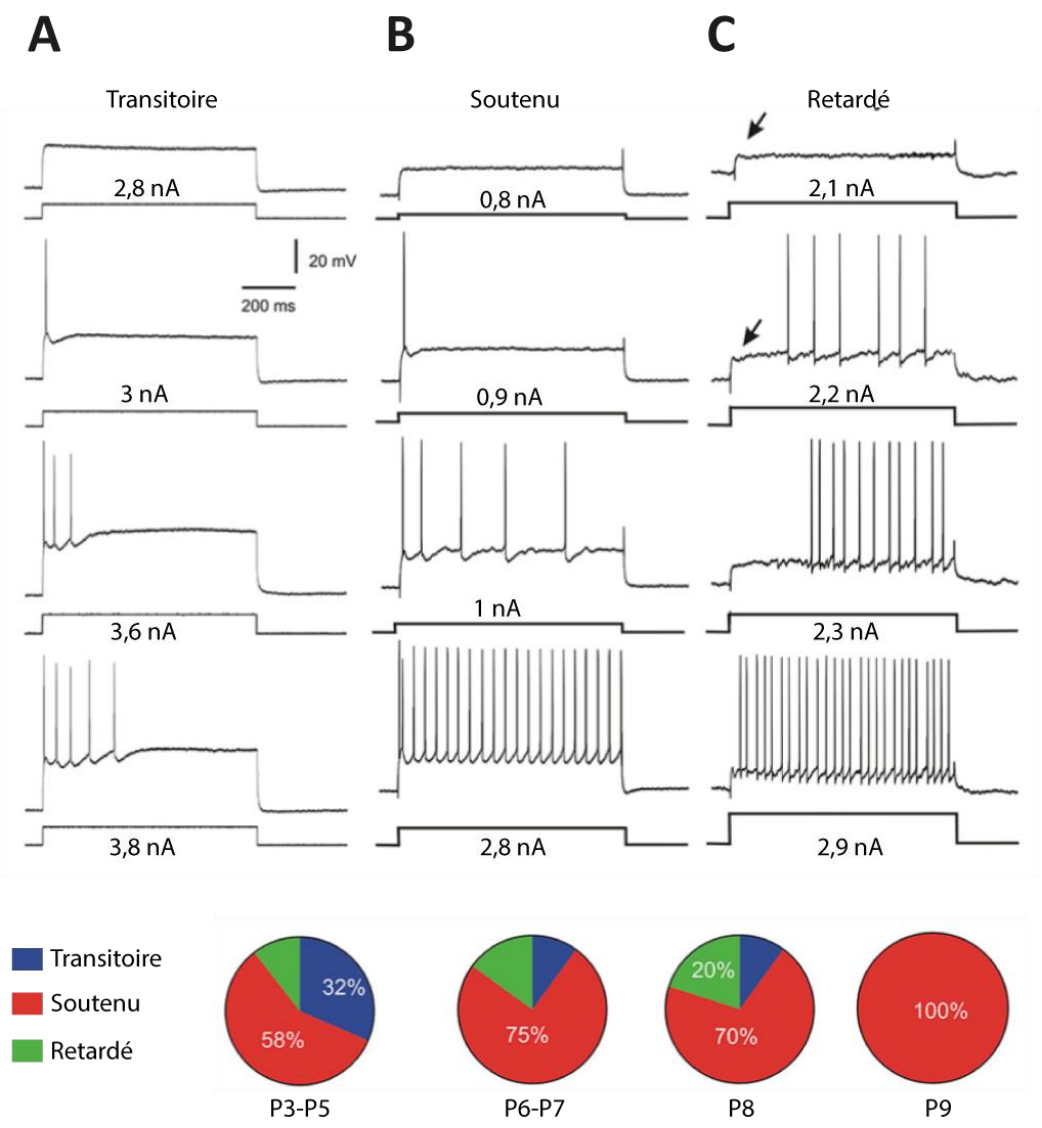


Figure I-5 : Distribution des profils de décharge au cours du développement postnatal chez le rongeur

Représentation des trois différents types de profil de décharge à la suite de l'injection d'un créneau dépolarisant dans les motoneurones lombaires. **A :** Le profil transitoire est défini par la présence d'un seul potentiel d'action ou d'une bouffée de potentiels d'action, qui ne dure pas durant tout le créneau dépolarisant. **B :** Le profil soutenu est caractérisé par la présence de potentiels d'action tout le long du créneau dépolarisant. **C :** Le profil retardé est caractérisé par un délai (indiqué par la flèche noire) entre le début du créneau dépolarisant et le premier potentiel d'action. En bas, les diagrammes circulaires représentent la proportion de motoneurones (n=70) présentant tel ou tel profil, à différents âges développementaux.
Figure adaptée de *Durand et al., 2015*.

II. Les afférences sensorielles modulent le comportement locomoteur

II.1 Mise en évidence de l'importance des afférences sensorielles lors de la locomotion

a. Généralités

Tout comme les centres supra-spinaux, il est de nos jours admis que les afférences sensorielles ne sont pas indispensables pour la genèse du rythme et du patron locomoteur *(Grillner, 2011)*. En effet, en plus d'avoir soutenu l'existence des CPG il y a plus de 100ans, T.G Brown a également montré que l'activité alternée de muscles antagonistes persiste après désafférentation chez le chat *(Brown, 1911)*. Cette découverte allait à l'encontre de l'hypothèse de C. Sherrington qui avançait que le contrôle de la locomotion reposait essentiellement sur des stimuli cutanés et musculaires, autogénérés par les muscles impliqués dans le comportement locomoteur *(Sherrington, 1910)*. L'ablation de la totalité, ou d'une partie des afférences sensorielles suite à une rhizotomie dorsale n'empêche par l'expression de la locomotion chez le chat *(Wetzel et al., 1976; Goldberger, 1977, 1983; Grillner and Zangger, 1984; Giuliani and Smith, 1987)*.Cependant il ne faut pas écarter la vision de C. Sherrington. Même s'ils ne sont pas indispensables à l'expression d'un patron locomoteur, les retours sensoriels sont capables de l'initier et sont primordiaux dans la modulation dynamique du comportement locomoteur afin que ce dernier réponde efficacement aux exigences et aux modifications environnementales. De nombreux retours sensoriels peuvent jouer ce rôle modulateur.

C'est le cas des entrées cutanées qui peuvent moduler et ainsi corriger le pas en réponse à des perturbations telles qu'un sol irrégulier pendant les différentes phases du cycle locomoteur *(McCrea, 2001; Rossignol, Dubuc and Gossard, 2006)*. Par exemple, la stimulation mécanique ou électrique du dos du pied, ou du nerf péronier superficiel, pendant la phase de transfert déclenche une réponse réflexe coordonnée, appelée réaction corrective de trébuchement. Ce réflexe permet au membre d'être soulevé afin de s'éloigner et de passer au-dessus du stimulus faisant obstacle dans le cas d'une stimulation mécanique, tout en renforçant le soutien du membre controlatéral chez le chat *(Forssberg,*

Grillner and Rossignol, 1977; Prochazka, Sontag and Wand, 1978; Forssberg, 1979; Duysens and Loeb, 1980; Buford and Smith, 1993; Quevedo et al., 2005) et les humains *(Schillings, Van Wezel and Duysens, 1996; Zehr, Komiyama and Stein, 1997; Schillings et al., 2000; Haridas and Zehr, 2003)*. Les retours cutanés peuvent moduler bien d'autres paramètres locomoteurs *(Rossignol, Dubuc and Gossard, 2006)*. Dans un souci de simplification, nous avons choisi de nous focaliser sur les retours proprioceptifs ou réafférences (cf. *Chapitre 1 – II.b.*) dans le cadre de ce manuscrit.

b. Importance des retours proprioceptifs

Les retours proprioceptifs jouent effectivement un rôle important dans la modulation de la locomotion. Il a été montré que des individus présentant une perte proprioceptive, en raison d'une maladie auto-immune ou d'une perte de fonction d'une protéine essentielle à la proprioception, présentent des déficits moteurs marqués, notamment locomoteurs *(Cole and Sedgwick, 1992; Chesler et al., 2016)*. De plus, des patients atteints d'une absence congénitale de proprioception présentent un retard dans le développement de la marche, une démarche instable, des déficits posturaux et une variabilité de la longueur des pas d'une foulée à l'autre *(Chesler et al., 2016; Haliloglu et al., 2017; Mahmud et al., 2017; Behunova et al., 2019; Masingue et al., 2019)*. Sans l'activité compensatoire des systèmes visuel et vestibulaire, ces patients sont incapables de marcher, de maintenir leur posture et d'effectuer des mouvements volontaires coordonnés.

De façon générale, les retours proprioceptifs semblent jouer un rôle dans l'organisation temporelle du cycle locomoteur en ajustant la durée des différentes phases de ce cycle et en facilitant le passage d'une phase à l'autre. *(Rossignol, Dubuc and Gossard, 2006)*. En effet, les retours proprioceptifs sont capables de moduler la fréquence de la locomotion via la prolongation de la phase locomotrice en cours ou via l'induction du passage d'une phase à l'autre. Il a été montré que des chats spinalisés étaient toujours capables d'ajuster la durée des phases locomotrices des pattes postérieures, et donc la fréquence du pas, par rapport à la vitesse d'un tapis roulant *(Forssberg, Grillner and Halbertsma, 1980;*

Barbeau and Rossignol, 1987). Ces chats spinalisés étaient également capables d'ajuster les phases locomotrices de chacune des pattes postérieures individuellement sur un tapis roulant présentant une vitesse différente sous chaque patte postérieure *(Forssberg et al., 1980)*. Bien que les récepteurs cutanés jouent un rôle dans ce mécanisme, il semblerait que les récepteurs proprioceptifs en soit les contributeurs principaux *(Rossignol, Dubuc and Gossard, 2006)*. De plus, des études menées chez le chat ont montré que les entrées proprioceptives des muscles fléchisseurs de la hanche peuvent augmenter l'activité fléxogène pendant la locomotion *(Grillner and Rossignol, 1978; Kriellaars et al., 1994)*, tandis que les entrées des organes tendineux de golgi, dans les muscles extenseurs de la cheville, peuvent inhiber la génération de l'activité fléxogène *(Conway, Hultborn and Kiehn, 1987; Hultborn et al., 1998; Pearson, 2004)*. De nombreuses autres études ont mis en évidence l'impact de la mobilisation de l'articulation de la hanche lors de la locomotion fictive chez le chat *(Andersson and Grillner, 1981, 1983)*. Ces résultats semblent tout à fait cohérents et intuitifs lorsqu'on les transpose à un comportement locomoteur non fictif. Dans la phase d'appui tardive, le signal inhibiteur des organes tendineux de golgi des muscles extenseurs de la cheville diminue, tandis que l'activité des afférences provenant des muscles de la hanche augmente à la suite de son extension. L'ensemble de ces signaux facilite la transition de la phase d'appui à la phase de transfert en favorisant l'activité des motoneurones fléchisseurs.

En raison des limites expérimentales, il n'est pas possible de différencier la contribution des fuseaux musculaires et des organes tendineux de golgi sur la transition de phase chez les chats en mouvement. Cependant, des expériences récentes chez la souris ont permis de mieux comprendre la contribution individuelle des différents propriocepteurs. Cela a été possible en supprimant sélectivement les retours proprioceptifs des fuseaux musculaires ; ou la proprioception des fuseaux musculaires et des organes tendineux de golgi *(Akay et al., 2014; Takeoka et al., 2014)*. L'élimination des afférences des fuseaux musculaires entraîne une activité prolongée des fléchisseurs de la cheville, ce qui affecte la transition de la phase de transfert à la phase d'appui **(Figure I-6 A et B)**. En l'absence de proprioception provenant des fuseaux musculaires et des organes tendineux de golgi, l'activation retardée et séquentielle typique

des fléchisseurs du genou et de la cheville par rapport aux fléchisseurs de la hanche disparaît, ce qui affecte la transition de la phase d'appui à la phase de transfert **(Figure I-6 C)**. Ces expériences indiquent donc que les organes tendineux de golgi auraient un effet sur la transition entre la phase d'appui et de transfert et que les fuseaux musculaires contribuent moins à ce processus. Enfin, en l'absence d'entrées proprioceptives des fuseaux musculaires, la capacité à retrouver la capacité locomotrice après une lésion de la moelle épinière est fortement altérée. Ainsi, la locomotion chez les mammifères nécessite un retour proprioceptif continu pour garantir que le schéma moteur généré intrinsèquement est correctement synchronisé en fonction de l'état biomécanique du membre.

Au-delà de leur rôle dans la modulation du patron, les retours proprioceptifs peuvent initier ou bloquer le rythme *(Rossignol, Dubuc and Gossard, 2006)*. En effet, une extension de la hanche chez des animaux spinalisés est suffisante pour induire un comportement d'air-stepping tandis que la flexion l'empêche *(Sherrington, 1910)*. De façon similaire, la flexion unilatérale d'une hanche chez des chats spinalisés entraîne un arrêt de la marche sur tapis roulant du côté de cette même patte tandis que le comportement locomoteur de l'autre patte est maintenu. L'extension quant à elle entrainera l'initiation du pas si la patte controlatérale est dans une position pouvant supporter le poids de l'animal *(Grillner and Rossignol, 1978)*. Une autre étude a également montré que le rythme locomoteur engendré par la stimulation de la MLR pouvait être aboli à la suite d'une manipulation passive des pattes chez le chat *(Orlovskii and Fel'dman, 1972)*.

Bien que le concept de C. Sherrington stipulant que les afférences sensorielles sont entièrement responsables de la génération de la locomotion s'est avéré être incorrect, l'importance de ces dernières dans l'expression d'un comportement locomoteur adapté n'est plus à démontrer. Les afférences proprioceptives permettent au patron locomoteur d'être correctement synchronisé par rapport à l'état biomécanique de la partie du corps en mouvement. Il serait par exemple inadapté que l'activité de la phase de transfert d'une jambe soit initiée si les angles articulaires et les états musculaires de cette dernière ne le permettent pas *(Pearson, 2004)*.

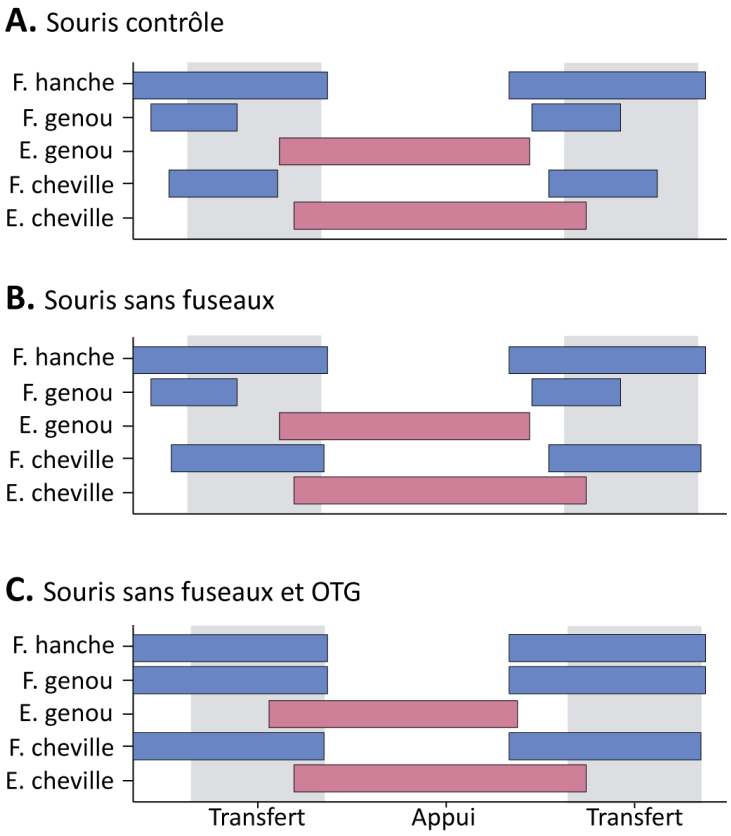


Figure I-6 : L'altération des retours proprioceptifs entraîne des modifications du patron locomoteur

A : Représentation du patron locomoteur d'une souris contrôle. B : L'élimination génétique des fuseaux neuromusculaires chez la souris entraîne une prolongation de la transition de la phase de transfert à la phase d'appui pour les fléchisseurs de la cheville. C : L'élimination des fuseaux neuromusculaires et des organes tendineux de golgi entraine un avancement de l'activité des fléchisseurs du genou et de la cheville par rapport à l'activité des fléchisseurs de la hanche. Les barres bleues et roses indiquent les temps d'activation des fléchisseurs et des extenseurs de la hanche, du genou et de la cheville par rapport à la phase de transfert (gris clair) et à la phase d'appui (blanc).

II.2 Les propriocepteurs

Ainsi, les afférences sensorielles, et particulièrement les afférences proprioceptives, jouent un rôle fondamental dans la modulation du patron locomoteur généré par les CPG. Alors que les mécanorécepteurs cutanés renseignent sur les stimuli externes, les propriocepteurs fournissent des informations sur les forces mécaniques qui ont leur origine dans le corps lui-même, plus spécifiquement dans le système musculosquelettique. Ces informations proprioceptives permettent de renseigner la position spatiale des membres et autres parties du corps de façon permanente et détaillée. Ce terme de

proprioception nous a été transmis par C. Sherrington qui a déclaré : "Le corps lui-même agit comme un stimulus pour ses propres récepteurs - les propriocepteurs" *(Sherrington, 1907)*. Lorsque nous réalisons des mouvements, les tissus entourant les articulations concernées se déforment, notamment la peau, les muscles, les tendons, les fascias, les capsules articulaires et les ligaments *(Adrian and Umrath, 1929; Grigg, 1994)*. Tous ces tissus sont innervés par des récepteurs mécanosensibles dont la densité varie selon les muscles et les régions du corps *(Banks et al., 2009)*. Ces récepteurs mécanosensibles sont composés des fuseaux neuromusculaires, des organes tendineux de Golgi et des récepteurs articulaires. Ces derniers ne semblent jouer qu'un rôle mineur, agissant comme détecteurs de limites articulaires, à l'exception des doigts ou ils présentent une contribution plus importante *(Ferrell, Gandevia and McCloskey, 1987; Clark, Grigg and Chapin, 1989)*. Nous allons nous intéresser spécifiquement aux fuseaux neuromusculaires et aux organes tendineux de Golgi.

a. Fuseaux neuromusculaires :

Les fuseaux neuromusculaires sont les propriocepteurs les plus importants *(Matthews, 1981; Proske and Gandevia, 2012)*. Ce sont des récepteurs sensoriels encapsulés qui informent le système nerveux central des changements de longueur des muscles *(Proske and Gandevia, 2012; Kiehn, 2016)*. Ils sont constitués de fibres musculaires spécialisées, nommées fibres intrafusales, pouvant être de deux types selon la disposition de leurs noyaux : fibres à sac nucléaire ou fibres à chaîne nucléaire **(Figure I-7)**. Les fibres à sac nucléaire s'étendent souvent au-delà de la capsule fusiforme et sont attachées au tissu conjonctif intramusculaire tandis que les fibres à chaîne nucléaire sont attachées aux régions polaires des fibres à sac nucléaire *(Boyd, 1962)*. Les fibres musculaires intrafusales sont orientées parallèlement aux fibres musculaires environnantes ou extrafusales. Leurs filaments contractiles se situent essentiellement dans les extrémités et la contraction des fuseaux neuromusculaires ne contribue pas de manière significative à la force générée par le muscle *(Kuffler, Hunt and Quilliam, 1951; Edman, Radzyukevich and Kronborg, 2002)*. Afin de détecter l'étirement musculaire et de répondre de manière

appropriée, les fibres intrafusales sont innervées par deux types de neurones : les neurones sensoriels afférents et les motoneurones efférents.

Chez l'homme, l'innervation sensorielle du fuseau musculaire provient à la fois des fibres de type **Ia** et de type **II**, qui diffèrent par leur vitesse de conduction axonale et dont le corps cellulaire est situé au niveau des ganglions rachidiens *(Banks, 2015)*. En revanche, chez le rongeur, une innervation par les fibres du groupe II n'a pas encore été détectée par des tests histologiques ou fonctionnels *(Wilkinson, Kloefkorn and Hochman, 2012; Gerwin et al., 2019)* bien que l'analyse du transcriptome des neurones proprioceptifs du DRG suggère l'existence de fibres de type **II** *(Oliver et al., 2021)*. Il n'y a généralement qu'une seule fibre afférente **Ia** par fuseau et toute les fibres musculaires intrafusales de ce fuseau reçoivent une innervation de ce neurone sensoriel. Chez le rongeur, les terminaisons de cette fibre afférente **Ia** s'enroulent autour de la partie centrale (équatoriale) des fibres du sac nucléaire et de la chaîne nucléaire, formant les terminaisons primaires *(Schröder et al., 1989; Sonner, Walters and Ladle, 2017)*. Lorsqu'elles sont présentes, les terminaisons des fibres de type **II**, dites secondaires, flanquent les terminaisons primaires dans la région équatoriale. Il peut y avoir plusieurs fibres de type **II** innervant chaque fuseau neuromusculaire *(Banks et al., 2009)*. Les neurones sensoriels afférents génèrent des potentiels d'action dont la fréquence dépend de la taille et de la vitesse de l'étirement *(De-Doncker et al., 2003)*. Plus spécifiquement, les fibres de type **II** répondent de façon continue à la longueur constante d'un muscle et vont renseigner sur la position statique des muscles. Les fibres de type **Ia** vont détecter les changements de longueur des muscles et vont renseigner sur la dynamique des membres (vitesse et direction du mouvement). En effet, les fibres intrafusales uniquement innervées par des afférences de type **Ia** répondent de façon maximale à la vitesse des changements de longueur des fibres musculaires (sensibilité dynamique). Tandis que les fibres intrafusales innervées par des afférences de type **Ia** et **II** répondent de façon maximale à la quantité d'étirement (sensibilité statique) *(Bewick and Banks, 2015)*.

Les fibres intrafusales sont innervées en partie par des motoneurones β et majoritairement par des motoneurones γ, plus abondants et bien mieux caractérisés *(Banks et al., 2009; Manuel and Zytnicki, 2011)*. Les axones des motoneurones innervent les fibres intrafusales au niveau des extrémités des fuseaux neuromusculaires. Bien que les plaques terminales des γ-motoneurones forment des synapses cholinergiques avec les fibres intrafusales, elles diffèrent structurellement des jonctions neuromusculaires formées par les α-motoneurones sur les fibres extrafusales *(Banks, 1994)*. Les motoneurones induisent la contraction des fibres intrafusales dans la région polaire afin d'exercer une tension sur la région centrale des fibres intrafusales *(Banks, 1994; Proske, 1997)*. Ce mécanisme empêche le relâchement des fibres intrafusales pendant les raccourcissements musculaires et permet un ajustement continu de la sensibilité mécanique des fuseaux sur la large gamme de longueurs musculaires et de vitesses d'étirement qui se produisent pendant les comportements moteurs normaux.

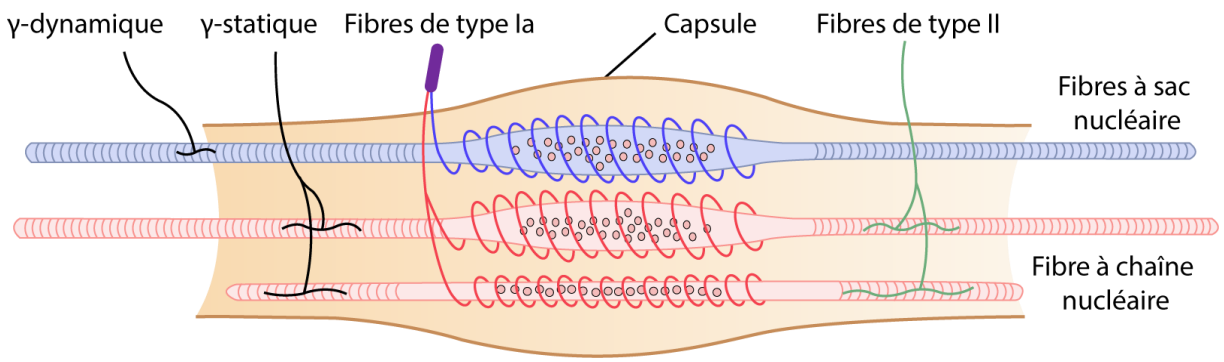


Figure I-7 : Représentation schématique de l'organisation d'un fuseau neuromusculaire

Le fuseau neuromusculaire est composé de plusieurs fibres intrafusales, les fibres à sac et à chaîne nucléaire, encapsulées et innervées par des fibres motrices et des fibres sensorielles. Celles qui sont innervées par les fibres de type Ia et de type II (en rouge) ont une sensibilité statique tandis que celles qui sont innervées uniquement par les fibres de type Ia (en bleu) ont une sensibilité dynamique à l'étirement musculaire.

b. Organes tendineux de Golgi :

Alors que les fuseaux neuromusculaires informent sur les changements de longueur des muscles, les mécanorécepteurs des tendons, nommés organes tendineux de golgi (OTG), informent sur les changements de tension musculaire. Presque toutes les fibres musculaires extrafusales s'attachent aux os via les tendons et comme leur nom l'indique, les OTG se situent parmi les fibres de collagène qui forment ces-dernier. Ils sont innervés par les fibres afférentes de type **Ib**. Les OTG sont disposés en série et chacun d'entre eux est connecté à un petit nombre de fibres extrafusales (10-20). Chez les espèces mammifères, et contrairement aux espèces non-mammifères, les OTG sont encapsulés et situés à la jonction même muscle-tendon *(Proske, 1979)* **(Figure I-8)**. Les OTG des mammifères ont une sensibilité plus marquée aux stimuli et sont plus précis dans la localisation et le relais des informations au système nerveux central puisque les changements de tension musculaire ne doivent pas être transférés le long du tendon avant d'atteindre l'OTG. L'association très étroite des OTG avec les fibres extrafusales les rend donc très sensibles aux changements de tension des fibres musculaires auxquelles ils sont rattachés *(Reinking, Stephens and Stuart, 1975; Watt et al., 1976; Proske, 1979; Jami, 1992)*.

En plus de la localisation avantageuse des OTG, un autre élément contribue à leur sensibilité importante aux changements de tension musculaire. En effet, la relation entre les OTG et le type de fibres musculaires, et donc les unités motrices, auxquelles ils peuvent être rattachés joue un rôle important. L'unité motrice est définie comme un groupe de fibres musculaires extrafusales innervée par un seul et même motoneurone α. L'unité motrice peut être composée de centaines de fibres musculaires dans les grands muscles posturaux, ou de quelques fibres dans les muscles nécessaires à une manipulation ou un contrôle fin et précis. Les fibres musculaires appartenant à une même unité motrice ne sont pas rassemblées en une zone discrète mais plutôt localisées de façon hétérogène avec des fibres appartenant à d'autres unités motrices *(Goldspink, 1981; Kandel et al., 2000)*. Un OTG peut donc être associé à des fibres musculaires appartenant à différentes unités motrices *(Reinking, Stephens and Stuart, 1975; Jami and Petit, 1976; Proske, 1979)*. De plus, il faut savoir que les différentes unités

motrices sont composées de différents types de fibres musculaires. Chez les mammifères, on reconnaît quatre types de fibres musculaires extrafusales dans les muscles squelettiques : (i) les fibres oxydatives lentes (type I), résistantes à la fatigue; (ii) les fibres glycolytiques oxydatives rapides (type IIa), résistantes à la fatigue ; (iii) les fibres intermédiaires rapides (type IIx) ; (iv) les fibres glycolytiques rapides (type IIb), fatigables *(Schiaffino and Reggiani, 2011)*. Chacun des OTG va donc être associé à une combinaison de type de fibres extrafusales différente et pourra répondre de manière individuelle aux changements de tension musculaire par rapport aux autres OTG. Enfin, extrêmement sensibles, ils sont capables de répondre à la contraction d'une ou deux fibres musculaires seulement *(Reinking, Stephens and Stuart, 1975; Proske, 1979)*. Ils peuvent donc répondre à tous les degrés de tension musculaire, contrairement à l'ancienne théorie affirmant qu'ils n'étaient sensibles qu'à des niveaux très importants de tension musculaire.

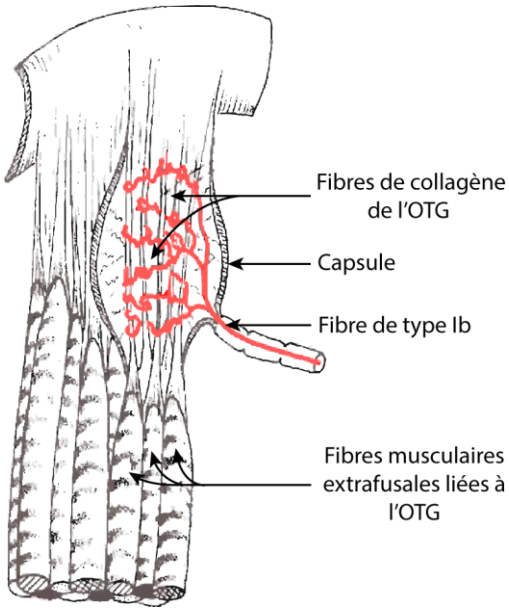


Figure I-8 : Représentation schématique de l'organisation d'un organe tendineux de Golgi

Les organes tendineux de Golgi se situent parmi les fibres de collagène des tendons et sont innervés par les fibres de type Ib. Chaque organe tendineux est relié à des fibres extrafusales appartenant à différentes unités motrices et pouvant être de différents types. Ils présentent une grande sensibilité à la contraction générée par le muscle et vont ainsi pouvoir informer le système nerveux central du degré de tension musculaire. OTG : Organe tendineux de Golgi.

II.3 Mécanismes à l'origine de cette modulation

Les mécanismes dynamiques qui sous-tendent les modulations du patron locomoteur par les afférences sensorielles ne sont pas encore complètement élucidés. Cependant, on sait que ces mécanismes dynamiques peuvent se produire à différents niveaux neuronaux : que ce soit au niveau de la moelle épinière ou de structures supra-spinales *(Büschges and Manira, 1998; Pearson, 2004)*. Ces mécanismes sont nombreux et peuvent mettre en jeu des modifications du fonctionnement des réseaux neuronaux de la moelle épinière *(Carrier, Brustein and Rossignol, 1997)* ou encore des modifications de l'influence des signaux afférents sensoriels sur les réseaux spinaux *(Fouad and Pearson, 1997; Pearson and Misiaszek, 2000)*. Même lorsque le comportement locomoteur n'est pas initié, les entrées sensorielles induisent une variété de réponses réflexes dont les circuits neuronaux se situent principalement à chaque étage de la moelle épinière. Ces circuits réflexes impliquent de nombreux motoneurones et interneurones avec une, deux ou plusieurs synapses. En raison de leur composition et de leur organisation relativement simple, les voies réflexes ont longtemps été utilisées pour étudier l'architecture de base des circuits sensorimoteurs spinaux chez les vertébrés possédant des membres *(Knikou, 2008; Guertin, 2012)*. Bien que leurs rôles dans le contrôle de la locomotion restent incomplètement compris, ces connaissances sur les circuits réflexes et la circuiterie sensorimotrice spinale fournissent quelques pistes et principes de base sur le contrôle de la locomotion. Ces circuits sensorimoteurs sont décrits de façon non-exhaustive dans cette partie.

a. Le réflexe myotatique et l'inhibition réciproque via les interneurones Ia

Le réflexe le plus basique et le plus rapide décrit est le réflexe Ia (réflexe myotatique), déclenché par l'étirement d'un muscle. Les afférences sensorielles primaires **Ia** innervant les fuseaux musculaires envoient des projections excitatrices (glutamatergiques) monosynaptiques aux MNs homonymes (innervant le même muscle) situés dans la corne ventrale *(Dolbow and Throckmorton, 2021)* **(Figure I-9)**. Ainsi, le muscle étiré va se contracter et résister à la force qui a initialement provoqué ce réflexe afin

d'éviter sa rupture et constitue ainsi un mécanisme de protection. En plus de l'entrée monosynaptique vers les MNs, l'afférence **Ia** envoie également des collatérales vers des MNs synergiques (innervant les muscles agonistes), ce mécanisme est impliqué dans le tonus et les ajustements posturaux *(Guertin, 2012)*. Outre l'excitation monosynaptique des MNs homonymes et synergiques, l'afférence **Ia** se projette également sur des interneurones **Ia** inhibiteurs glycinergiques qui, à leur tour, inhibent les neurones des muscles antagonistes **(Figure I-9)**. C'est chez le chat spinalisé que C. Sherrington a démontré pour la première fois la relaxation du muscle antagoniste après la contraction du muscle agoniste correspondant suite à son étirement *(Sherrington, 1907; Liddell and Sherrington, 1925; Lloyd, 1946)*. Cette inhibition disynaptique pourrait faciliter le patron d'activation musculaire pendant la locomotion active *(Hultborn, 2006)*.

En 1910 Hoffman induit électriquement un réflexe qui deviendra le réflexe de Hoffmann (réflexe H) *(Hoffmann, 1910)*. Ce dernier est analogue au réflexe d'étirement spinal induit mécaniquement. La principale différence entre ces deux réflexe est que le réflexe H contourne le fuseau musculaire *(Schieppati, 1987)*, constituant ainsi un outil précieux pour évaluer la transmission synaptique et sa modulation entre les fibres sensorielles et les motoneurones. Lorsqu'on stimule les afférences de façon répétée et à des fréquences croissantes, ce réflexe présente une dépression post-activation (DPA). L'altération de cette DPA peut servir de marqueur du fonctionnement de la transmission afférences-motoneurones dans des conditions physiologiques et pathologiques. La mesure de ce réflexe ainsi que de sa DPA peut être utilisée pour évaluer la réponse du système nerveux à diverses affections neurologiques *(Fisher, 1992; Voerman, Gregorič and Hermens, 2005)*, aux altérations musculosquelettiques *(Spencer, Hayes and Alexander, 1984; Hall et al., 1999; Hopkins et al., 2000; Howell et al., 2006)*, ou encore à l'entraînement physique *(Trimble and Koceja, 1994; Earles et al., 2002; Meunier et al., 2007)* et à l'exécution de tâches motrices *(Capaday and Stein, 1986, 1987; Llewellyn, Yang and Prochazka, 1990; Hoffman and Koceja, 1995)*.

b. Le réflexe d'inhibition non-réciproque du groupe I via les interneurones Ib

Pendant longtemps, nous avons pensé que le réflexe d'inhibition non-réciproque, également appelé réflexe myotatique inverse ou encore inhibition autogénique, reposait uniquement sur les afférences Ib provenant des OTG *(Matthews, 1981)*. Cependant, même si la source d'afférences dominante provient des OTG (fibre Ib), des études ont montré que les interneurones inhibiteurs Ib reçoivent également des afférences **Ia** *(Hultborn, 2006; Côté, Murray and Knikou, 2018)*. Cette voie inhibitrice est maintenant aussi nommée voie inhibitrice non-réciproque du groupe I. Les afférences **Ib** vont s'activer en réponse à l'augmentation de la tension du tendon sur lequel se rattache un muscle. Elles activent les interneurones inhibiteurs Ib qui, à leur tour, inhibent les MNs innervant ce muscle **(Figure I-9)**. Les interneurones Ib recevraient donc aussi des afférences Ia provenant des muscles antagonistes étirés. Cette voie fonctionne comme un mécanisme de protection contre une contraction musculaire excessive *(Guertin, 2013)*. Les afférences Ib, qui transmettent des informations concernant la tension musculaire active et passive, contribuent de manière importante au contrôle spinal du mouvement et de la locomotion *(Côté, Murray and Knikou, 2018)*.

c. Inhibition récurrente via les cellules de Renshaw

Certains MNs, en plus des terminaisons sur les fibres musculaires, présentent des collatérales au sein même de la moelle épinière innervant des interneurones inhibiteurs : les cellules de Renshaw. Ces dernières fournissent une inhibition récurrente sur ces mêmes MNs. La grande majorité des cellules de Renshaw sont glycinergiques, tandis qu'une petite sous-population est GABAergique *(Alvarez and Fyffe, 2007)*. Les cellules de Renshaw reçoivent une entrée excitatrice des MNs , modulant les sorties motrices afin d'optimiser la contraction de groupes de muscles spécifiques et d'empêcher ces mêmes muscles de se contracter de façon constante *(Eccles, Fatt and Koketsu, 1954; Hultborn and Pierrot-Deseilligny, 1979)* **(Figure I-9)**. De nombreux motoneurones vont pouvoir exciter une cellule de Renshaw

particulière, qui à son tour inhibe de nombreux motoneurones, créant ainsi une circuiterie de convergence/divergence complexe *(Côté, Murray and Knikou, 2018)*.

d. Les interneurones de type II

Les interneurones de type II, contactés par les afférences de type II des fuseaux neuromusculaires, sont situés dans la zone intermédiaire/corne ventrale, et dans la corne dorsale. Les interneurones de type II de la zone intermédiaire peuvent être activés par les afférences musculaires du groupe II de façon directe, ou via les interneurones de la corne dorsale *(Jankowska and Hammar, 2002)*. Les principales sources d'entrée des interneurones du groupe II de la zone intermédiaire sont les afférences primaires Ia et secondaires II du fuseau musculaire et les afférences Ib des OTG *(Edgley and Jankowska, 1987)*. Les afférences cutanées à faible seuil et les afférences articulaires peuvent également exciter de plus petites proportions d'interneurones du groupe II *(Behrends, Schomburg and Steffens, 1983a, 1983b)*. L'activité des interneurones du groupe II est inhibée par les interneurones Ib *(Edgley and Jankowska, 1987)*, et est soumise à une inhibition présynaptique *(Harrison and Jankowska, 1989; Rudomin and Schmidt, 1999)* (Figure I-9). Les interneurones du groupe II exercent des actions excitatrices, inhibitrices polysynaptiques, par l'intermédiaire de neurones situés dans la corne dorsale, sur les motoneurones *(Cavallari, Edgley and Jankowska, 1987; Edgley and Jankowska, 1987; Bras et al., 1989)*. L'une de leurs contributions les plus importantes est qu'ils coordonnent les contractions des muscles étirés *(Côté, Murray and Knikou, 2018)*.

e. Importance de l'inhibition présynaptique pour moduler le gain des entrées sensorielles

L'inhibition présynaptique permet de réduire ou de stopper l'efficacité synaptique des afférences sensorielles pénétrant dans la moelle épinière. Ce mécanisme est très efficace pour contrôler les afférences durant différentes tâches motrices ou durant les différentes phases d'une même tâche et

assure ainsi la bonne fluidité des mouvements. L'inhibition présynaptique a été découverte pour la première fois chez les mammifères par K. Frank et M. Fuortes *(Frank, 1957)*. Une série de travaux a révélé une "dépolarisation des afférences primaires" (PAD) présynaptique. Cette dernière déprime l'excitation monosynaptique des afférences sensorielles Ia vers les motoneurones *(Eccles, Eccles and Magni, 1961; Eccles, Kozak and Magni, 1961; Eccles, Kostyuk and Schmidt, 1962; Eccles, Schmidt and Willis, 1963)*. Cet effet PAD est généré par des interneurones GABAergiques qui forment des synapses axo-axonales sur les fibres afférentes Ia innervant directement les motoneurones α *(Rudomin and Schmidt, 1999)* **(Figure I-9)**. En raison du potentiel d'inversion relativement élevé pour le chlore (Cl^-) dans le site présynaptique, l'efflux de Cl^- induit par le GABA à travers les récepteurs de type GABA-A conduit à une dépolarisation *(Gallagher, Higashi and Nishi, 1978)*. L'inhibition présynaptique des afférences sensorielles permet de sélectionner les informations sensorielles pertinentes (modulation du gain) pour contrôler correctement le comportement moteur. De plus, la modulation présynaptique va pouvoir induire des décharges antidromiques des afférences sensorielles, qui peuvent potentiellement modifier l'état d'excitabilité des récepteurs périphériques *(Rossignol, Dubuc and Gossard, 2006)*. Cette inhibition présynaptique peut être activée par les CPG, les afférences sensorielles ou encore par des structures supra-spinales *(Rossignol, Dubuc and Gossard, 2006)*. Ainsi, durant la locomotion, l'efficacité de l'inhibition présynaptique sur les afférences sensorielles pourra être modulée et affinée en fonction de la phase du cycle.

L'ensemble de ces interactions sensorimotrices est mis à contribution durant la locomotion. Si les entrées sensorielles sont capables de générer des réponses appropriées à une perturbation pouvant apparaître durant les différentes phases ou sous-phases du cycle locomoteur, c'est grâce aux interactions dynamiques qu'il existe au sein de cette circuiterie sensorimotrice. Les afférences sensorielles atteignent la moelle épinière et projettent sur les motoneurones : i) directement, ii) via des interneurones (eux-mêmes influencés par le CPG) ; iii) ou encore le CPG lui-même. Nous avons vu que

les entrées sensorielles peuvent être modulées dès le début de la voie, via une modulation présynaptique qui peut modifier les entrées sensorielles de manière cyclique ou même sélectionner les collatérales d'une afférence qui transmettront ou non des informations aux neurones de second ordre **(Figure I-10)**. Cette inhibition présynaptique peut se produire à différents niveaux (spinal, supra-spinal), et est elle-même modulée en fonction de la phase du cycle locomoteur. De plus, la sélection du schéma moteur nécessaire à une tâche motrice particulière va activer des propriétés membranaires bien spécifiques dans les populations neuronales spinales **(Figure I-10)** qui permettront alors à ces dernières d'être plus ou moins modulées par les afférences sensorielles. Enfin, des ensembles d'interneurones peuvent être sélectionnés pour favoriser ou bloquer la transmission pendant une tâche motrice donnée ou pour contrôler la transmission en fonction de la phase de la tâche motrice en cours (sélection interneuronale) **(FigureI-10)**.

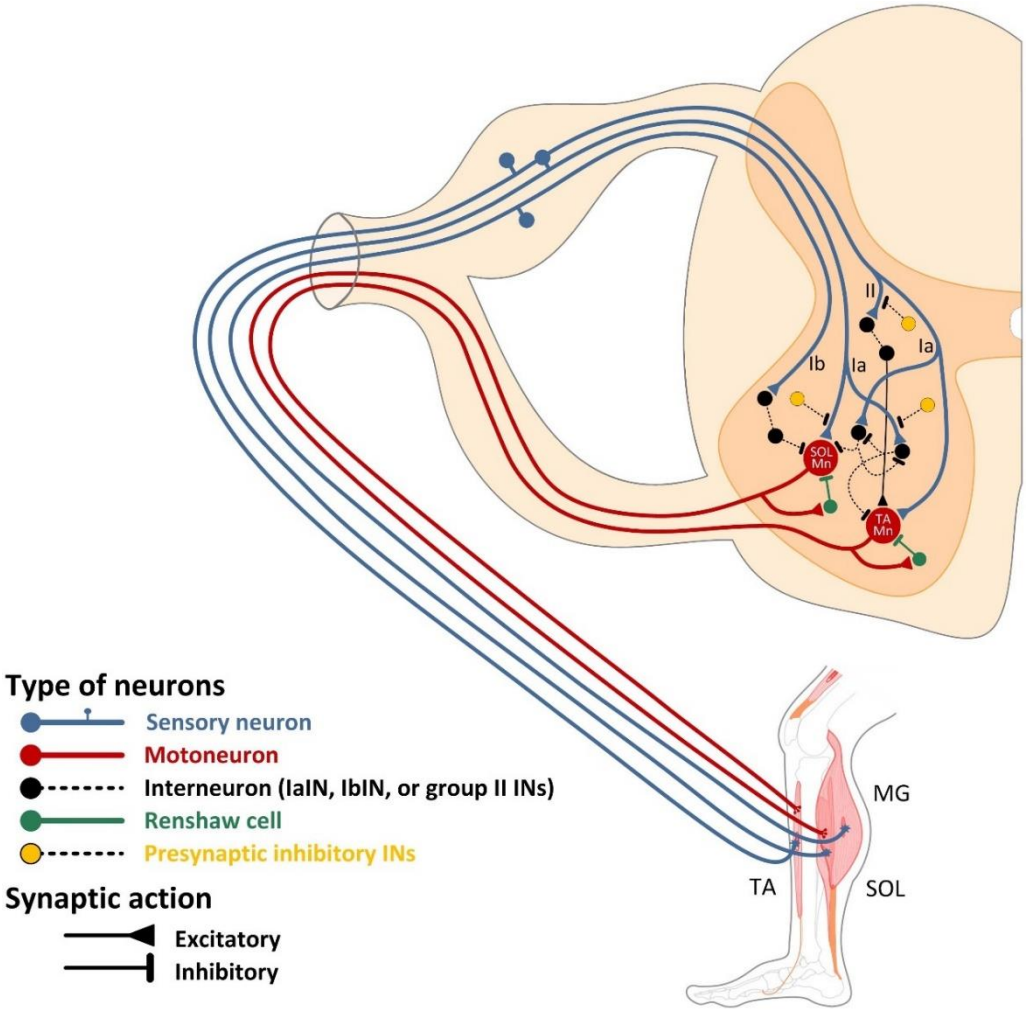


Figure I-9 : Représentation schématique de la circuiterie sensorimotrice spinale chez l'Homme

Les afférences du groupe Ia du muscle soléaire (SOL) émettent des projections excitatrices monosynaptiques vers les motoneurones homonymes et activent les interneurones inhibiteurs Ia (INs-Ia) qui inhibent les motoneurones du muscle antagoniste tibialis anterior (TA). Les INs-Ia couplés aux extenseurs inhibent les INs-Ia couplés aux fléchisseurs controlatéraux, et vice versa. La voie inhibitrice Ib des gastrocnémiens médians (GM) vers les motoneurones du SOL est représentée. Les interneurones inhibiteurs présynaptiques agissant sur les terminaisons afférentes des groupes Ia et II sont également schématisés. Les interactions sensorimotrices supportées par cette circuiterie complexe peuvent être modulées de façon dynamique et ainsi être différentes en fonction de la phase du cycle locomoteur. Les neurones situés dans la substance grise de la moelle épinière ne sont pas indiqués en fonction de leur position anatomique dans la lamina pour des raisons de clarté. Figure tirée de *Côté, Murray and Knikou, 2018*.

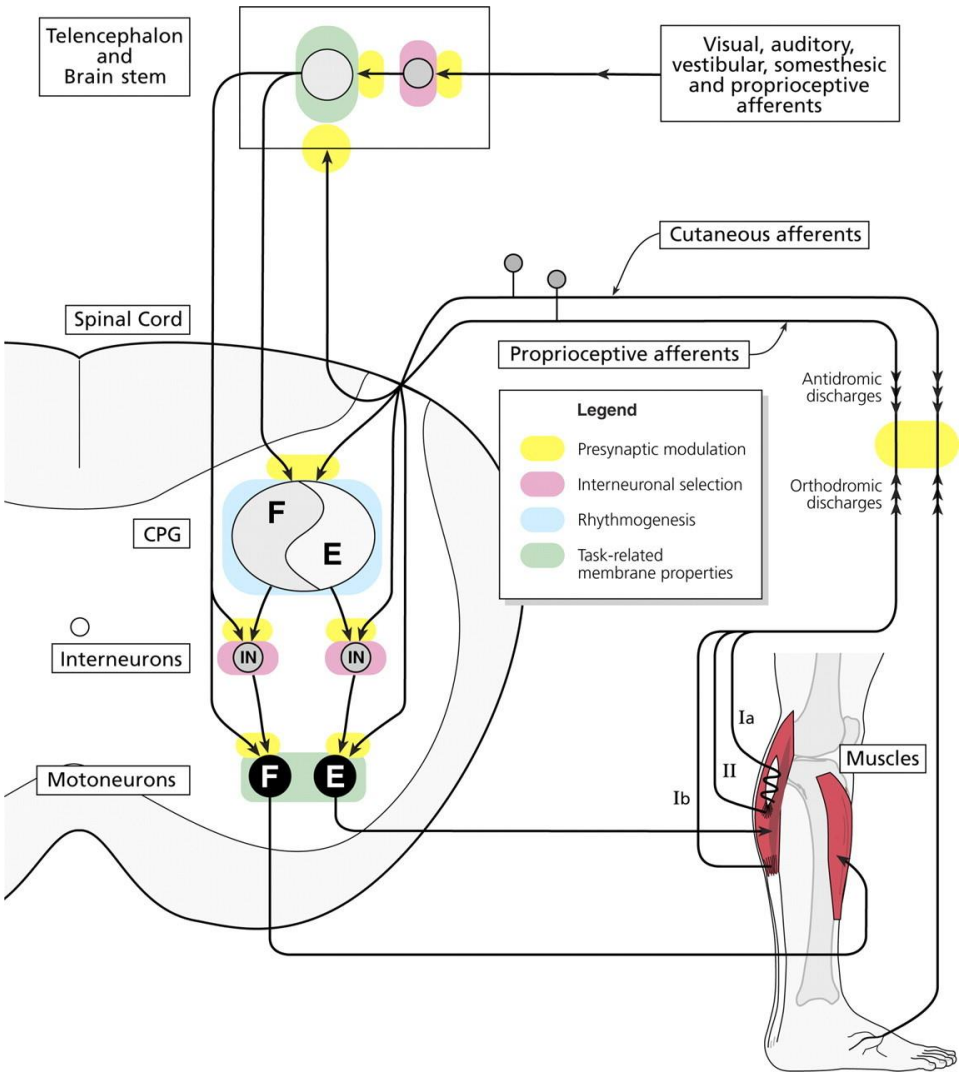


Figure I-10 : Sites non-exhaustifs d'interactions sensorimotrices dynamiques durant la locomotion

Les entrées sensorielles atteignent la moelle épinière ou le tronc cérébral et sont généralement sujettes à une inhibition réciproque phasique (jaune), pouvant même entraîner des décharges antidromiques. Les entrées projettent sur des neurones de second ordre, eux-mêmes modulés par les processus rythmiques de telle sorte que certaines voies sont facilitées ou inhibées en fonction de la phase du cycle. Ainsi, une même entrée sensorielle pourra entraîner une réponse excitatrice ou inhibitrice durant les différentes phases du cycle locomoteur (sélection interneuronale en rose). Ce mécanisme est réalisé soit par des afférences traitées directement par les interneurones du CPG, soit par des interneurones dont l'excitabilité est modulée de façon cyclique par le CPG (bleu). Les propriétés membranaires des motoneurones et des interneurones, qui ne sont visibles que pendant la locomotion, peuvent également modifier le gain des réponses aux entrées sensorielles (vert).
Figure tirée de *Rossignol, Dubuc and Gossard, 2006*.

II.4 La maturation des afférences sensorielles

Les animaux nouveau-nés présentent des réponses aux stimuli sensoriels exagérées et inadéquats *(Stelzner, 1971)*. Ces réponses s'atténuent et s'affinent avec le développement postnatal, ce qui suggère une maturation des projections afférentes et/ou de leur modulation *(Smith et al., 2017)*. Les afférences sensorielles établissent des connexions fonctionnelles avec leurs cibles spinales pendant la période prénatale, et une réorganisation et un raffinement vont se faire après la naissance *(Fitzgerald, 2005; Chakrabarty and Martin, 2011)*. En effet, les fibres présentent dans les racines dorsales pénètrent dans la substance blanche à E14 chez le rat et envahissent la substance grise à E15 avant de former les premiers boutons synaptiques sur les motoneurones à E17 *(Ziskind-Conhaim, 1990)*. Une étude a mis en évidence la formation de synapses aberrantes durant la synaptogenèse sur des motoneurones lombaires, innervés par des projections afférentes provenant du muscle antagoniste *(Seebach and Ziskind-Conhaim, 1994)*. En effet, entre E18 et E21 (juste avant la naissance), ce type de connexions aberrantes représente environ 29% des connexions entre les afférences sensorielles primaires et les motoneurones. Ces synapses, qualifiées par les auteurs de « fonctionnellement inappropriées » persistent à la naissance et atteignent même un pic entre P0 et P2 (41%), avant de diminuer significativement entre P3 et P5 (12%).

Enfin, les connexions monosynaptiques entre les afférences proprioceptives Ia et les motoneurones homonymes et synergiques sont fonctionnelles dès le 19ème jour embryonnaire *(Kudo and Yamada, 1985, 1987a; Ziskind-Conhaim, 1990; Chen et al., 2003)*. Le réflexe d'étirement est donc fonctionnel à la naissance, cependant, la réponse monosynaptique atteint son amplitude maximale au début de la première semaine postnatale (P2-P3) *(Kudo and Yamada, 1987a)*.

LES POINTS CLES DU CHAPITRE 1

Dans ce chapitre, nous avons pu voir que le comportement locomoteur repose sur un contrôle automatique, assuré par les CPG spinaux, et sur un contrôle volontaire, assuré par des structures supra-spinales. Cette sortie motrice complexe peut être fortement influencée par les afférences sensorielles, notamment intéroceptives, générées par les propriocepteurs. Cette influence repose sur de nombreuses boucles réflexes et sur une circuiterie sensorimotrice spinale complexe qui vont être modulées de façon dynamique en fonction du comportement moteur en cours. Il est important de souligner que la circuiterie motrice et sensorielle au niveau spinal est immature à la naissance chez le rongeur. De nombreux processus maturationnels se mettent en place au cours des trois premières semaines postnatales et sont concomitants à l'apparition de sorties motrices complexes.

Chapitre 2 : L'influence de l'expérience sensorimotrice sur la circuiterie sensorimotrice

Pendant très longtemps, nous avons considéré le système nerveux central comme un organe tout puissant qui contrôle et domine le corps. Mais depuis plusieurs décennies, de nombreuses études soulignent l'importance et l'influence cruciale du corps ; porte d'entrée de toutes les afférences sensorielles provenant de notre environnement interne et externe ; sur la maturation et la plasticité des circuits neuronaux. Les connexions synaptiques établies par des processus cellulaires et moléculaires intrinsèques sont fortement influencés par l'expérience et l'activité neuronale qui en découle, pendant des périodes critiques du développement. Dans ce chapitre, nous allons mettre en avant des expériences pionnières démontrant le lien entre l'expérience et le développement puis la plasticité des circuits neuronaux. Nous nous intéresserons ensuite à l'influence de l'expérience sensorimotrice atypique, à l'âge adulte et pendant le développement, sur la circuiterie sensorimotrice.

I. Contexte historique : évidences du lien étroit entre l'expérience et les circuits neuronaux

I.1 Importance de l'expérience dans l'acquisition de comportements complexes

Le lien entre l'expérience et le développement de comportements complexes a été mis en évidence au cours de l'histoire, notamment dans de rares cas d'enfants ayant grandi dans des conditions d'appauvrissement des stimuli sensoriels et sociaux. Les cas de Victor de l'Aveyron et de Genie de Los Angeles, ayant grandi respectivement avec très peu d'interactions sociales et dans des conditions de privations sociales et sensorielles sévères, en sont de bons exemples *(Curtiss et al., 1974; Fromkin et al., 1974; Lane, 1976)*. Ces enfants ont développé des comportements sociaux anormaux persistants. Ils étaient muets et présentaient de grandes difficultés à apprendre le langage. Dans les années 1940, les

travaux de René Spitz furent les premiers à montrer d'une façon plus solide l'importance de l'expérience sociale dans le développement des enfants *(Spitz, 1946, 1949; Spitz and Wolf, 1946)*. Dans son étude, il a suivi deux groupes de nouveau-nés pendant plusieurs années : un groupe élevé dans un orphelinat et ayant accès à peu d'interactions sociales ; et un groupe élevé dans une prison et ayant des interactions avec leur mère et d'autres enfants. Il a mis en évidence que le groupe d'enfants élevé dans l'orphelinat présentait un retard des performances motrices et intellectuelles dès la première année. Une grande partie d'entre eux n'était toujours pas capable de marcher ou de parler durant la troisième année. Dans les années 1960, Margaret et Harry Harlow ont approfondi les études de Spitz en développant un modèle expérimental d'isolation complète pendant 3, 6 ou 12 mois, chez le singe nouveau-né *(Harlow, Dodsworth and Harlow, 1965; van Rosmalen, van der Horst and van der Veer, 2012)*. Une fois la période d'isolement terminée, les animaux réintroduits auprès de leurs congénères présentaient un comportement social sévèrement altéré. Ces troubles du comportement pouvaient être partiellement atténués si les nouveau-nés isolés pouvaient interagir quelques heures par jour avec un autre singe qui n'était pas isolé.

D'autres études ont montré qu'une privation sensorielle pouvait également entraîner des conséquences négatives sur le développement normal de la perception. Wilson et Riesen ont montré que des singes élevés dans le noir, et donc dans des conditions de privation visuelle, pendant 3 à 6 mois, présentaient une perception visuelle altérée lorsqu'ils étaient ensuite réintroduits dans un environnement visuel normal *(Wilson and Riesen, 1966)*. De manière similaire, Marius von Senden a mis en évidence une altération de la perception visuelle chez des personnes ayant eu une cataracte à la naissance malgré une intervention chirurgicale ultérieure *(von Senden, 1960)*.

Ces études mettent en lumière les conséquences catastrophiques de privations sensorielles et sociales sévères pendant le développement, sur le comportement ultérieur de ces individus. De nombreuses autres études se sont intéressées au lien entre l'expérience et le développement de comportements

complexes, et ont mis en évidence la présence d'une **période critique** durant laquelle ce lien est particulièrement étroit.

L'acquisition du chant de pariade chez certaines espèces d'oiseaux chanteurs est un bon exemple de la notion de période critique *(Doupe et Kuhl 1999)*. Une grande partie des travaux effectués sur le sujet a été réalisée chez le diamant mandarin **(Figure I-11 A)** chez lequel l'apprentissage du chant **(Figure I-11 B)** est essentiel puisqu'il permet de trouver un partenaire sexuel. Cependant, cet apprentissage dépend d'une expérience auditive précoce durant une période développementale bien spécifique **(Figure I-11 C)**. En effet, les animaux juvéniles vont passer par un stade d'acquisition sensorielle, entre P30 et P65 pendant lequel ils vont écouter et mémoriser le chant d'un adulte mâle de leur espèce. Ils vont ensuite passer par un stade d'apprentissage sensorimoteur où ils vont faire correspondre, par feed-back auditif, leur propre chant au modèle mémorisé. Ce chant devient stable, cristallisé, au début de la maturité sexuelle. Si un animal juvénile n'est pas exposé à cette acquisition sensorielle essentielle durant les deux premiers mois du développement, il développera un chant anormal et ne pourra pas attirer les femelles pour se reproduire **(Figure I-11 D)**. Ce phénomène est irréversible, et une exposition au chant des congénères ne permettra pas de rétablir l'apprentissage normal du chant de l'individu si la période développementale d'acquisition sensorielle, aussi appelée période critique, est passée *(Ondracek and Hahnloser, 2014; London, 2019)*. La période critique correspond donc à une période de la vie d'un organisme, durant laquelle ce dernier sera affecté par une influence environnementale, de façon bien plus marquée qu'à d'autres moments de son existence *(Colombo, 1982; Bornstein, 1989)*. La durée des périodes critiques est très variable, pouvant aller de quelques heures *(Hess, 1959)* à plusieurs années *(Krashen, 1975)*, et dépend de l'espèce ou du comportement affecté.

Nous allons voir que le lien entre l'expérience et l'acquisition des comportements complexes repose sur des modifications de la fonction et de l'organisation des circuits neuronaux.

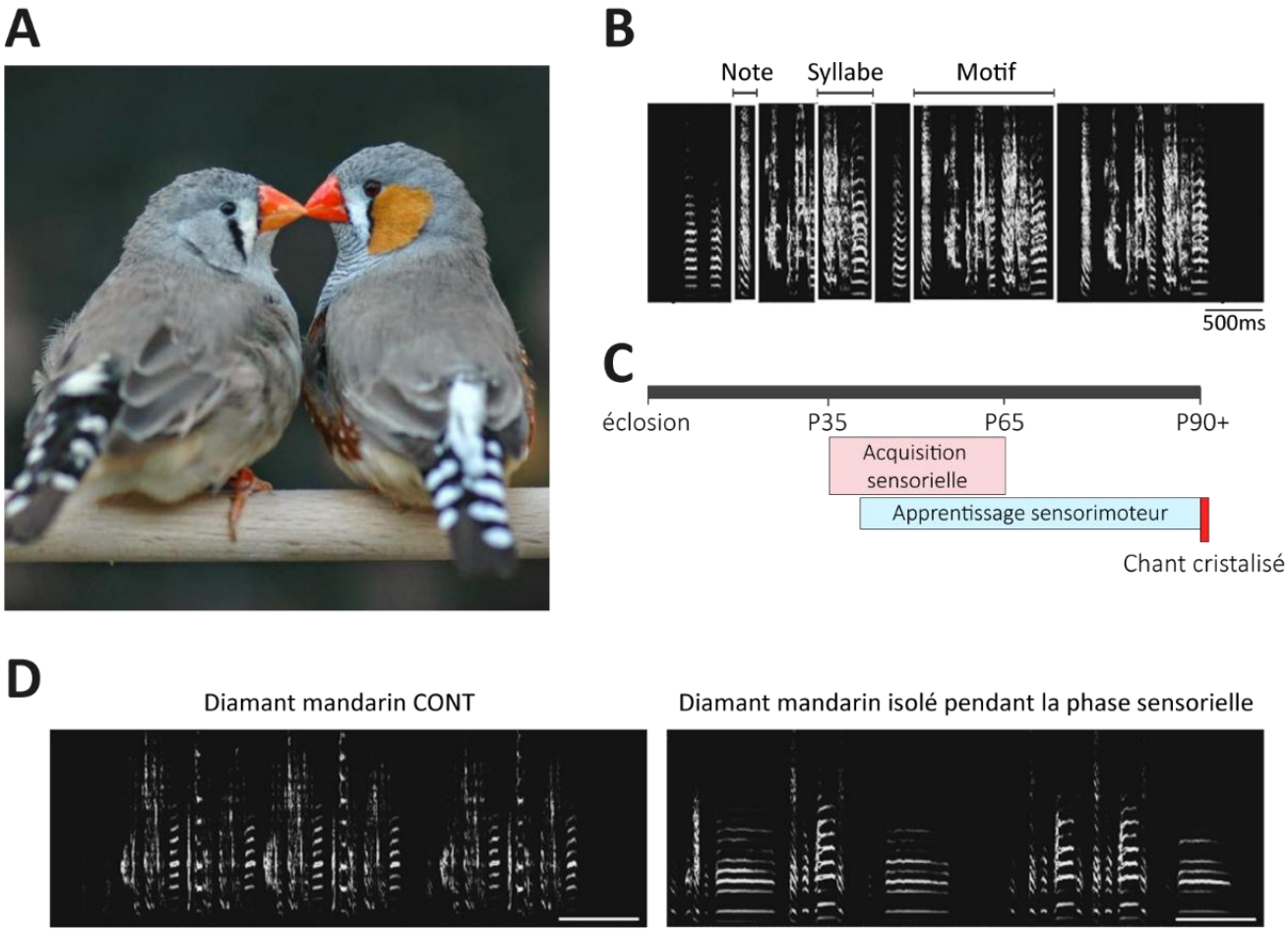


Figure I-11 : L'apprentissage du chant chez le diamant mandarin

A : Photographie d'un couple de diamants mandarins, espèce d'oiseaux très utilisée dans les études sur l'apprentissage du chant. B : Spectrogramme d'un chant adulte mâle typique. Le chant est plus long est complexe que de simples vocalises et se caractérise par des éléments qui se répètent : les notes, les syllabes, et les motifs, correspondant à des ensembles de syllabes *(Ondracek and Hahnloser, 2014)*. La structure et l'ordre des syllabes sont spécifiques à cette espèce. C : Chronologie de l'acquisition du chant chez le diamant mandarin *(London, 2019)*. La période d'acquisition sensorielle est limitée à une période critique durant le développement postnatal de l'individu. D : Spectrogramme du chant d'un diamant mandarin ayant été exposé à ses congénères (à gauche) et d'un diamant mandarin ayant été isolé de ses congénères (à droite) durant la période critique d'acquisition sensorielle *(Ondracek and Hahnloser, 2014)*. Tous les spectrogrammes sont représentés sur une échelle de 0 à 8KHz.

I.2 L'expérience influence l'organisation et le fonctionnement des réseaux immatures

Beaucoup d'études s'intéressant à l'impact de l'expérience précoce et de l'activité qui en découle, sur le développement des réseaux neuronaux, ont été faites sur le système visuel des mammifères puisqu'il est expérimentalement aisé d'élever des animaux en augmentant ou en réduisant l'expérience visuelle. De plus, l'agencement du système visuel facilite grandement l'étude de l'influence de l'expérience sur la fonction et l'organisation neuronale. David Hubel et Torsten Wiesel ont effectué un travail fondamental en étudiant l'influence de l'expérience visuelle précoce sur la fonction et l'organisation du cortex visuel primaire, et notamment des colonnes de dominance oculaire, chez le chat et le singe.

L'organisation du cortex visuel primaire en colonnes de dominance oculaire a été mise en évidence chez le singe et le chat grâce à l'introduction d'un traceur radioactif dans l'un des deux yeux **(Figure I-12 A)**. Ce dernier est transporté via les synapses jusqu'aux neurones des corps géniculés latéraux au niveau du thalamus puis jusqu'à la couche IV du cortex strié. En observant des coupes des corps géniculés latéraux et du cortex strié, on peut voir une ségrégation bien marquée des afférences provenant préférentiellement de l'œil ayant reçu le marqueur radioactif ou de l'œil controlatéral **(Figure I-12 B et C)** *(Levay, Stryker and Shatz, 1978; Sloper, 1993)*. Au niveau de la couche IV du cortex strié, les colonnes de dominance oculaire composent des bandes de préférence oculaire **(Figure I-12 C)** et toutes les fibres géniculo-striées arrivant au niveau d'une de ces colonnes transmettent les informations provenant d'un même œil *(LeVay, Wiesel and Hubel, 1980)*.

Une des nombreuses études de David Hubel et Torsten Wiesel a permis de mettre en évidence l'influence de l'expérience visuelle sur la fonction du système visuel *(Wiesel and Hubel, 1963)*. En descendant une électrode de façon oblique dans le cortex visuel primaire, il est possible d'enregistrer la réponse des neurones à la stimulation de l'un des deux yeux. Ils ont démontré qu'une occlusion monoculaire postnatale de 2,5 mois entrainait des modifications très importantes de la réponse électrophysiologique des neurones du cortex strié chez le chat adulte âgé de 35 mois. Très peu de neurones pouvaient être activés par la stimulation de l'œil initialement occlus, tandis que le nombre de

neurones activés par la stimulation de l'œil non occlus était fortement augmenté **(Figure I-13)**. De plus, l'acuité visuelle et la sensibilité au contraste de l'œil initialement occlus était grandement altérée.

À la suite de cela, ils ont mis en lumière l'influence de l'expérience visuelle sur l'organisation du système visuel, et notamment sur l'organisation des colonnes de dominance oculaire *(Hubel and Wiesel, 1977)*. En effet, à la suite d'une occlusion monoculaire par suture chez le singe, l'organisation des colonnes de dominance oculaire est fortement altérée. En effet, les animaux présentaient : **i)** un élargissement des bandes correspondant aux afférences géniculocorticales provenant de l'œil non suturé et **ii)** une réduction des bandes correspondant aux afférences provenant de l'œil suturé, privé d'expérience visuelle **(Figure I-14 A)**. Une étude effectuée chez la grenouille a permis de montrer qu'une expérience visuelle postnatale aberrante, induite par la greffe d'un troisième œil, avait également un impact sur l'organisation du système visuel *(Constantine-Paton and Law, 1978; Law and Constantine-Paton, 1981)*. Chez les grenouilles, les axones provenant de la rétine ne projettent que vers le tectum controlatéral. La transplantation d'un troisième œil près d'un des deux yeux déjà présents, durant la période larvaire, entraine une modification importante de l'organisation du tectum normalement spécifique à l'œil voisin. Les afférences des deux yeux, celui transplanté et son voisin, vont donc projeter au niveau du tectum controlatéral, tandis que l'organisation de l'autre tectum reste inchangée, comparativement à une grenouille contrôle **(Figure I-14 B)**.

Ces études pionnières dans le domaine ont permis de mettre en évidence l'influence cruciale de l'expérience précoce sur la fonction et l'organisation des circuits encore immatures. Il semble évident que c'est via ces modifications fonctionnelles et morphologiques au niveau des réseaux de neurones, que l'expérience influence l'acquisition de comportements complexes. Bien que cette influence de l'expérience sur les réseaux neuronaux soit très forte durant le développement, de nombreuses études ont également montré que l'expérience à l'âge adulte avait aussi un impact sur le système nerveux central *(Cruikshank and Weinberger, 1996; Rosenzweig and Bennett, 1996; Buonomano and Merzenich,*

1998; Holtmaat and Svoboda, 2009; Fu and Zuo, 2011; Hosp and Luft, 2011). Cependant, dans le cadre de cette thèse, nous n'allons pas entrer dans les détails de cette influence générale à l'âge adulte.

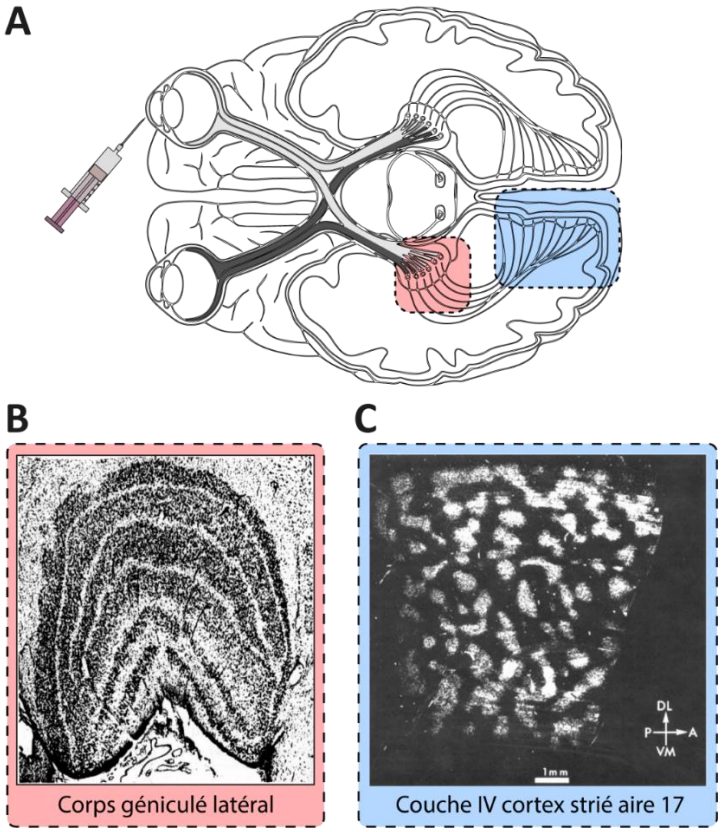


Figure I-12 : Mise en évidence et organisation des colonnes de dominance oculaire

A : Technique de marquage des colonnes de dominance oculaire. Un traceur radioactif, après avoir été injecté au niveau de la rétine d'un œil, va être transporté de façon trans-synaptique jusqu'au corps genouillé latéral puis jusqu'à la couche IV du cortex visuel primaire. B : On peut observer la distribution, organisée sous forme de bandes, des terminaisons axonales ipsilatérales (provenant de l'œil injecté) (en gris clair) et contralatérales (provenant de l'œil non injecté) (en gris foncé) au niveau du corps géniculé latéral (CGL) chez le singe *(Sloper, 1993)*. C : Auto-radiogramme des terminaisons géniculocorticales, provenant du CGL, au niveau de la couche IV du cortex visuel primaire chez le chat. On peut voir que les terminaisons de l'œil injecté (en gris clair) et de l'œil non injecté (en gris foncé), ont une organisation bien particulière en série alternée de domaines monoculaires, correspondant aux colonnes de dominance oculaire *(Levay, Stryker and Shatz, 1978)*.

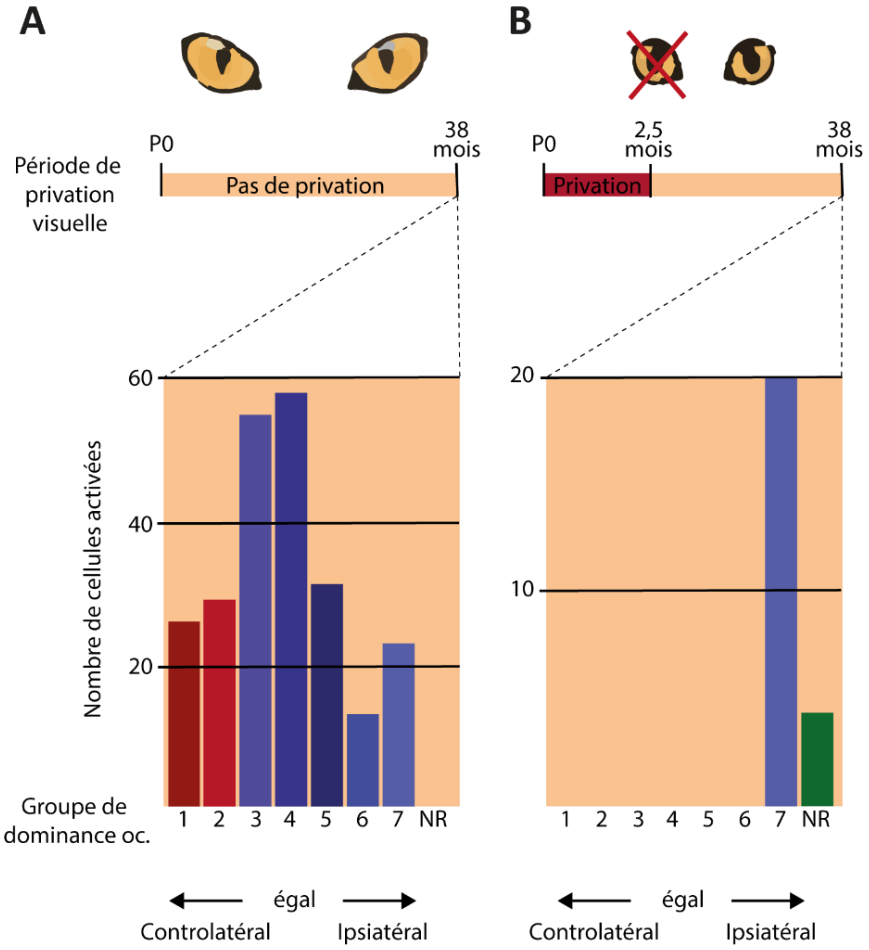


Figure I-13 : Conséquences fonctionnelles d'une privation visuelle postnatale chez le chat

Les réponses unitaires des neurones du cortex visuel ont été enregistrées à la suite de la stimulation par la lumière de chaque œil, chez le chat contrôle et le chat ayant subi une occlusion monoculaire postnatale. Les neurones sont classés dans sept catégories de dominance oculaire en fonction de la fréquence de décharge qu'ils vont adopter à la suite de la stimulation de l'œil contro ou ipsilatéral. Le groupe 1 correspond aux neurones répondant uniquement à la stimulation de l'œil controlatéral tandis que le groupe 7 correspond à ceux répondant uniquement à la stimulation de l'œil ipsilatéral. Les neurones activés de façon similaires à la stimulation de l'un ou l'autre œil appartiennent au groupe 4. **A :** Chez le chat adulte contrôle, on peut voir que la plupart des neurones ont une réponse binoculaire, et une proportion plus faible de neurones vont répondre uniquement à l'un ou l'autre des deux yeux. **B :** Dans le cas d'une occlusion monoculaire, les neurones d'un chat adulte ne répondront qu'à la stimulation de l'œil ipsilatéral (l'œil non occlus). Aucun neurone ne peut être activé par la stimulation de l'œil controlatéral (l'œil initialement occlus). *Wiesel and Hubel, 1963*

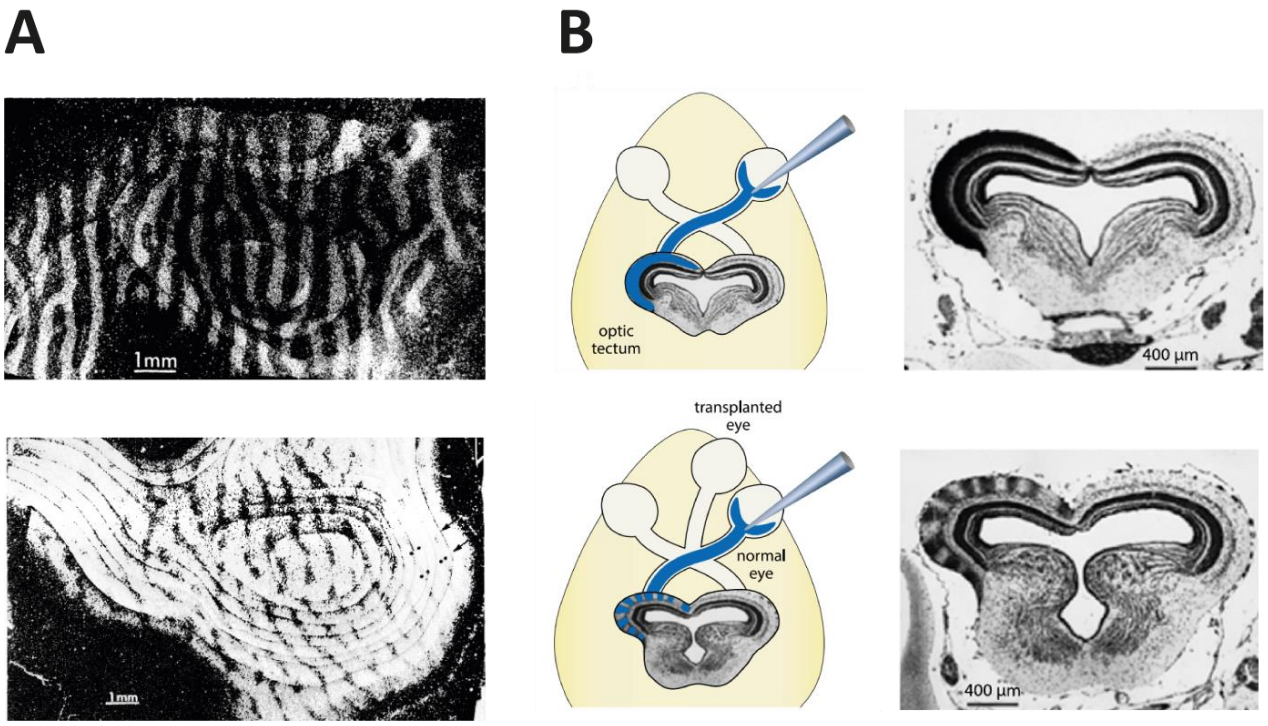


Figure I-14 : Conséquences de la privation visuelle sur l'organisation du système visuel

A : Impact de la privation visuelle monoculaire sur l'organisation des colonnes de dominance oculaire chez le singe. (En haut) On peut voir que les colonnes de dominance oculaire de la couche IV du cortex strié chez le singe contrôle sont organisées sous forme de bandes alternées régulières. (En bas) Chez le singe ayant subi une privation monoculaire, l'organisation des colonnes de dominance oculaire est fortement altérée, les afférences provenant de l'œil non suturé sont bien plus larges que la normale tandis que celles provenant de l'œil suturé, privé d'expérience visuelle, sont fortement réduites *(Hubel and Wiesel, 1977)*. B : (En haut) Projection des afférences de la rétine au niveau du tectum chez une grenouille normale. Les afférences provenant d'un œil vont projeter uniquement au niveau du tectum controlatéral. (En bas) La transplantation d'un troisième œil chez la grenouille altère l'organisation du système visuel. Le tectum controlatéral, normalement spécifique à l'œil injecté, va aussi recevoir les projections provenant de l'œil transplanté. Il y a alors apparition d'une ségrégation spécifique à chacun de ces deux yeux, rappelant les colonnes de dominance oculaire chez les mammifères *(d'après Constantine-Paton and Law, 1978)*.

II. Effet de l'expérience sensorimotrice atypique sur la locomotion

II.1 Généralités

L'expérience sensorimotrice peut entraîner des modifications de l'organisation et de la fonction du système sensorimoteur au cours de développement et à l'âge adulte. Cette influence de l'expérience sensorimotrice sur le système sensorimoteur est nécessaire tout au long de la vie afin de permettre l'apprentissage de nouvelles compétences motrices *(Kleim, Barbay and Nudo, 1998)*, ou encore l'adaptation à une évolution du corps au cours du temps (longueur des membres, efficacité musculaire etc.). De plus, nous avons pu voir dans le chapitre précédent que la circuiterie sensorimotrice et notamment les réseaux locomoteurs ne sont pas matures à la naissance chez le rat. Durant cette période, les mouvements volontaires et les rétroactions proprioceptives, l'expérience sensorimotrice de façon plus générale, influence le développement des motoneurones *(Inglis, Zuckerman and Kalb, 2000)*. Elle influence également le développement de la posture et de la locomotion chez le rat *(Westerga and Gramsbergen, 1993)* et semble avoir un rôle crucial dans la maturation des réseaux neuronaux locomoteur.

Afin d'étudier l'importance de l'expérience sensorimotrice sur les circuits sensorimoteurs et le comportement moteur à l'âge adulte et au cours du développement, de nombreux modèles présentant une expérience sensorimotrice atypique ont été mis en place. Cette expérience sensorimotrice inhabituelle peut être positive dans le cadre d'un enrichissement de l'environnement ou d'un apprentissage moteur. Elle peut aussi être négative, avec un appauvrissement des mouvements ou de l'environnement. Contrairement aux conséquences de l'apprentissage moteur ou de la pratique physique, la littérature concernant les effets d'une expérience sensorimotrice négative est beaucoup moins abondante. De plus, les travaux scientifiques concernant ce domaine se sont largement centrés sur les effets périphériques (musculaires, osseux, articulaire etc.), et moins sur l'impact fonctionnel et structurel d'une telle expérience négative. Dans le cadre de ma thèse, nous allons essentiellement aborder les conséquences d'une expérience sensorimotrice négative induite sans lésion en nous

intéressant aux modèles de suspension par la queue et aux modèles d'immobilisation des membres à l'âge adulte et au cours du développement.

II.2 Conséquences d'une expérience sensorimotrice négative à l'âge adulte

a. Le modèle de suspension par la queue à l'âge adulte :

Une grande partie des études s'étant intéressées à l'impact d'une expérience sensorimotrice anormale ont été faites chez l'animal adulte. Le modèle de suspension par la queue est notamment utilisé pour simuler l'expérience sensorimotrice appauvrie lors de vol en apesanteur ou lors de longues périodes d'alitement *(Morey-Holton and Globus, 2002; Narici and de Boer, 2011)*. Dans ce modèle, les signaux afférents provenant des mécanorécepteurs tactiles et articulaires, mais aussi des propriocepteurs, normalement activés sous l'influence de la gravité pendant la posture ou la locomotion, sont profondément modifiés.

Des études ont montré qu'une expérience sensorimotrice négative à l'âge adulte, induite par la suspension, entraîne des altérations des sorties motrices. Il a notamment été montré que la suspension par la queue chez le rat adulte pendant 7 ou 14 jours provoque l'apparition de troubles posturo-locomoteurs *(Canu and Falempin, 1996, 1998; Canu et al., 2005; Canu and Garnier, 2009)*. Ces animaux présentaient une durée de cycle de pas plus longue pendant la marche lente, avec un patron de marche alterné préservé. Une hyperextension générale des pattes postérieures a également été mise en évidence, notamment à la fin de la phase d'appui lors de la marche sur tapis roulant, responsable d'une marche digitigrade. Ces effets délétères étaient partiellement réversibles après une période de récupération de 7 jours. Il a également été montré que les animaux ayant subi la suspension présentaient des altérations locomotrices plus marquées lors de la marche sur une échelle. En plus de l'impact délétère de l'expérience sensorimotrice anormale induite par la suspension sur le comportement posturo-locomoteur, ce résultat suggère qu'elle pourrait être à l'origine d'une atteinte

des centres moteurs supra-spinaux *(Canu and Garnier, 2009)* et donc de modifications de la circuiterie sensorimotrice.

En plus d'entraîner des altérations des sorties motrices, il a été montré que la suspension par la queue à l'âge adulte entrainait des altérations périphériques. Une atrophie musculaire, et plus particulièrement des muscles posturaux, tels que le soléaire a été mise en évidence *(Ohira et al., 2002; Deschenes et al., 2003; Vermaelen et al., 2005; Wang et al., 2006; Narici and de Boer, 2011; Marzuca-Nassr et al., 2019)*. Des modifications du phénotype musculaire ont également été observées, avec une augmentation de la proportion de fibres musculaires de types 2 tandis que les fibres de type 1 s'atrophient ou évoluent vers le type 2 *(Desplanches et al., 1987; Talmadge et al., 1995; Anderson, Almeida-Silveira and Pérot, 1999; Vermaelen et al., 2005; Schuenke et al., 2009)*. Cette modification phénotypique semble liée à la diminution de l'activité des muscles posturaux, qui sont principalement composés de fibres de type 1. Enfin, une dégradation des tissus articulaires et osseux a également été mise en évidence chez ce modèle *(Simske, Greenberg and Luttges, 1991; Basso and Heersche, 2006; David et al., 2006; Shimano and Volpon, 2009; Jia et al., 2019)*. L'ensemble de ces dégradations périphériques contribue aux altérations posturo-locomotrices observées chez ces animaux.

Enfin, il n'est pas surprenant d'envisager qu'une expérience sensorimotrice inhabituelle durant une période prolongée à l'âge adulte soit à l'origine de modifications de la circuiterie sensorimotrice afin que l'organisme puisse s'adapter au mieux à ces changements. En effet, dans de nombreux cas d'expérience sensorimotrice atypique, une réorganisation des cartes motrices a notamment été mise en évidence : après une lésion des nerfs moteurs *(Sanes, Suner and Donoghue, 1990; Toldia et al., 1996; Franchi, 2000)*, une perte de l'activité musculaire *(Cohen et al., 1991; Franchi, 2002)*, ou encore à la suite d'un apprentissage moteur *(Nudo et al., 1996; Kleim, Barbay and Nudo, 1998; Plautz, Milliken and Nudo, 2000; Coq et al., 2009)*. Dans le cas d'une suspension par la queue, une désorganisation de la carte corticale motrice de la patte postérieure a été mise en évidence chez les rats adultes soumis à cette suspension pendant 14 jours. Ces animaux présentaient une diminution de l'étendue la carte

motrice, avec une diminution de la représentation des mouvements de la hanche et une augmentation des seuils de stimulation des neurones moteurs corticaux *(Langlet, Bastide and Canu, 2012)*. Cette désorganisation est notamment cohérente avec les déficits locomoteurs observés lors de la locomotion sur une échelle, nécessitant un contrôle cortical accru, comme évoqué précédemment *(Canu and Garnier, 2009)*. Plus récemment, il a été montré que cette désorganisation corticale pouvait être prévenue en partie grâce à l'administration locale du facteur de croissance IGF-1 *(Mysoet et al., 2017)*. Cependant, cette récupération partielle de l'organisation corticale n'avait que peu d'effets bénéfiques sur les altérations du comportement locomoteur observées chez ces animaux *(Mysoet et al., 2017)*. Ce résultat suggère que l'expérience sensorimotrice négative induite par la suspension aurait également un impact sur la circuiterie sensorimotrice spinale ou supra-spinale (sous-corticale). Il a notamment été montré que la suspension par la queue pendant 14 jours pouvait entrainer des modifications de la locomotion fictive induite par stimulation électrique de la MLR. Le patron moteur n'était pas fondamentalement affecté, cependant, les nerfs des muscles extenseurs étaient activés beaucoup plus fréquemment et la durée de leur activation était augmentée par rapport aux animaux contrôles *(Canu, Falempin and Orsal, 2001)*. Cela suggère que la suspension par la queue, faite à un âge ou les réseaux locomoteurs spinaux et supra-spinaux sont matures, pourrait induire des modifications plastiques de ces derniers à l'origine des altérations des sorties motrices observées.

b. L'immobilisation à l'âge adulte :

Les protocoles d'immobilisation permettent également d'étudier les conséquences d'une expérience sensorimotrice négative. Comme pour le modèle de suspension par la queue, les signaux afférents provenant des mécanorécepteurs tactiles et articulaires, mais aussi des propriocepteurs, sont profondément modifiés durant l'immobilisation. Une grande partie des études faites sur l'immobilisation d'un membre à l'âge adulte ont été réalisées chez l'Homme, et peu d'entre elles se sont intéressées aux effets d'une immobilisation dans des conditions non pathologiques.

A notre connaissance, il n'existe pas ou peu d'études complètes s'intéressant à l'impact d'une immobilisation à l'âge adulte sur le comportement posturo-locomoteur. On sait peu de choses sur la durée de la période d'inutilisation du membre minimale et nécessaire pour induire des modifications de la performance motrice ou des changements plastiques chez les personnes normales *(Moisello et al., 2008)*. Cependant, de nombreuses études ayant utilisé des protocoles d'immobilisation divers (uni ou bilatérale ; membres supérieurs ; inférieurs ; durée d'immobilisation etc.) chez l'Homme et chez l'animal à l'âge adulte ont mis en évidence des perturbations périphériques et centrales. La grande majorité de ces études s'est intéressée aux effets périphériques et aux modifications centrales induites par une telle restriction de mouvements.

En effet, il a été montré chez l'Homme que l'immobilisation articulaire entraîne une modification de la proportion de fibres musculaires rapides et lentes avec une diminution du pourcentage de fibres de type I au profit d'une augmentation du pourcentage de fibres de type II *(Veldhuizen et al., 1993; Hortobágyi et al., 2000)*. Ces observations sont en accord avec l'hypothèse selon laquelle une utilisation réduite des muscles rend ces-derniers plus rapides du fait de la modification des types de fibres qui le composent *(Caiozzo, Haddad, Baker and Baldwin, 1996; Caiozzo, Haddad, Baker, Herrick, et al., 1996)*. En effet, les études de stimulation électrique, ou de dénervation ont démontré que l'activité neurale pouvait modifier le phénotype musculaire *(Kraus, Torgan and Taylor, 1994)*. Il a également été montré que l'immobilisation d'un membre entraîne une atrophie musculaire chez le chat *(Jokl and Konstadt, 1983)* ou le rongeur *(Chacon-Cabrera, Gea and Barreiro, 2017; Jalal, Gracies and Zidi, 2020)* ainsi qu'une diminution de la force et des propriétés musculaires *(Jokl and Konstadt, 1983; Booth, 1987; Duchateau and Hainaut, 1987, 1990; Mosekilde et al., 2000; K. Seki, Taniguchi and Narusawa, 2001; Campbell et al., 2019; Ledri et al., 2020)*. Comme pour le modèle de suspension par la queue, l'immobilisation entraîne également des altérations osseuses et articulaires au niveau du membre immobilisé *(Mosekilde et al., 2000; Kunz et al., 2014; Friedman et al., 2019; Ledri et al., 2020)*.

De façon similaire, il n'est pas surprenant d'envisager qu'une immobilisation durant une période prolongée à l'âge adulte soit à l'origine de modifications de la circuiterie sensorimotrice. Il a notamment été montré chez l'Homme que l'immobilisation d'un membre supérieur pendant seulement 12 heures induit un remodelage synaptique dans les zones corticales sensorielles et motrices correspondantes *(Huber et al., 2006)*. D'autres études ont montré que l'immobilisation de courte durée de deux doigts ou de la main entière entrainait une diminution de l'excitabilité corticale *(Facchini et al., 2002; Ngomo, Leonard and Mercier, 2012)*. Les études sur les conséquences d'une immobilisation à l'âge adulte sur la circuiterie spinale sont moins abondantes. Chez l'Homme, il semblerait que l'excitation atteinte par les motoneurones pendant une contraction volontaire maximale soit réduite après une immobilisation de courte durée *(Kazuhiko Seki, Taniguchi and Narusawa, 2001; Seki, Kizuka and Yamada, 2007)*. De plus, il a été montré qu'une immobilisation du poignet et de la main pendant une période d'une semaine entraînait une augmentation de l'excitabilité du réflexe de Hoffman (augmentation de l'amplitude de la réponse H et du ratio H/M) *(Lundbye-Jensen and Nielsen, 2008)*. Cette augmentation n'était pas concomitante à des changements de l'excitabilité corticospinale, suggérant que l'immobilisation pourrait entrainer des changements de la force de l'inhibition présynaptique des afférences Ia ou de la dépression post-activation *(Lundbye-Jensen and Nielsen, 2008)*. Il a d'autant plus été montré dans de nombreuses études que les modulations de l'amplitude du réflexe H s'expliquent souvent par des changements de l'inhibition présynaptique des afférences Ia sur les motoneurones spinaux *(Hultborn, Meunier, Morin, et al., 1987; Hultborn, Meunier, Pierrot-Deseilligny, et al., 1987; Meunier and Pierrot-Deseilligny, 1989; Nielsen and Kagamihara, 1993; Faist, Dietz and Pierrot-Deseilligny, 1996)*. Il a aussi été montré qu'une immobilisation à l'âge adulte chez le rat pouvait entraîner des modifications fonctionnelles et organisationnelles centrales telles qu'une diminution de l'excitabilité corticale *(Viaro et al., 2014)*, un réarrangement des cartes corticales *(Viaro et al., 2014)* ainsi qu'une hyperexcitabilité du réflexe d'étirement au niveau central *(Ledri et al., 2020)*. Ces altérations de l'excitabilité du réflexe de Hoffman, au vu de l'importance et de l'influence des retours proprioceptifs sur le comportement

locomoteur, pourraient expliquer en partie les altérations posturo-locomotrice observées chez ces animaux.

L'ensemble de ces études démontre bien l'impact délétère qu'une expérience sensorimotrice négative et sans lésion peut avoir au niveau périphérique, au niveau des sorties motrices, mais surtout au niveau de la circuiterie sensorimotrice corticale et spinale. Et ce, même si cette expérience atypique est de courte durée, et se fait à un âge ou les réseaux sont matures. Sachant que le développement de la locomotion présente une période critique durant les deux premières semaines postnatales chez le rongeur, il semble évident qu'une expérience sensorimotrice atypique durant cette période puisse entraîner des conséquences bien plus drastiques.

II.3 Conséquences d'une expérience sensorimotrice négative développementale

La littérature concernant les conséquences d'une expérience sensorimotrice anormale et sans lésion durant le développement est beaucoup moins abondante.

A notre connaissance, peu d'études ont utilisé le modèle de suspension par la queue au cours du développement postnatal. Il a été montré que la suspension par la queue, effectuée de P13 à P31 avait des conséquences sur le comportement posturo-locomoteur *(Walton et al., 1992)*. En effet, à la suite de cette période de suspension développementale, les rats présentaient une locomotion plus lente avec une hyperextension de la cheville et une hyperflexion du genou lors de la phase de balancier. De plus, la gravité et la durée des altérations semblaient liées à la durée de la suspension ainsi qu'à l'âge auquel les animaux étaient suspendus. Il semblerait que la suspension effectuée entre P8 et P13 soit une période critique à la suite de laquelle les altérations posturo-locomotrices sont les plus importantes. Enfin, si la suspension se faisait de P13 à P31, les altérations observées persistaient à l'âge adulte (P76) et pourraient être non-réversibles *(Walton et al., 1992)*.

Des études plus nombreuses ont été faites sur les conséquences de l'immobilisation durant le développement postnatal. Il a notamment été montré qu'une immobilisation unilatérale de P1 à P20 entrainait des anormalités dans le décours temporel des activités EMG du tibialis antérieur et du gastrocnémien moyen pendant la marche *(Westerga and Gramsbergen, 1993)*. Ces anormalités persistaient puisqu'elles étaient toujours présentes 8 à 9 semaines après la fin de l'immobilisation. Ces animaux présentaient cependant un patron locomoteur fluide une à deux semaines après l'immobilisation et le degré de mouvement des articulations du genou et de la cheville n'étaient pas altérés.

Plus récemment, un autre modèle a mis en évidence qu'une période d'immobilisation postnatale des pattes postérieures en position d'extension (16h/jour ; de P2 à P28), chez le rat, entrainait un retard de croissance important *(Strata et al., 2004; Marcuzzo et al., 2008, 2010)*. Ces animaux présentaient également une dégradation des performances motrices complexes telles que l'équilibre sur le *Rotarod*, la marche sur échelle horizontale ou encore sur poutre et que ces altérations persistaient à l'âge adulte *(Strata et al., 2004; Stigger et al., 2011)*. Une atrophie du muscle soléaire avec une diminution de la proportion de fibres de type I au profit d'une augmentation de la proportion de fibres de type II a aussi été observée chez ces animaux, allant dans le sens des études faites sur les modèles adultes *(Stigger et al., 2011)*. Aussi, la densité de fibres musculaires du muscle soléaire semblait plus importante, et concomitante à une diminution du diamètre de ces dernières suite à l'immobilisation *(Marcuzzo et al., 2008)*. Les animaux immobilisés présentaient également une dégénération musculosquelettique *(Coq et al., 2008)*. En effet, une atrophie du triceps sural avec une diminution du diamètre des fibres a été mise en évidence à l'âge adulte ainsi qu'une dégénérescence des articulations du genou et de la cheville *(Coq et al., 2008)*. De plus, des altérations locomotrices lors de la marche ont été observées *(Strata et al., 2004)*. Une étude a notamment montré que la longueur du pas lors de la marche est plus courte, et s'accompagne d'une hyperextension des articulations du genou et de la cheville et une élévation de l'arrière-train *(Marcuzzo et al., 2008)*. Cette étude a également montré qu'une période d'entrainement sur tapis roulant (5 sessions/semaines pendant 3 semaines) après la période initiale d'immobilisation

avait des effets bénéfiques sur les altérations observées chez ces animaux. Cet entraînement a notamment permis d'augmenter le poids corporel et la longueur des foulées ainsi que de diminuer le degré de dégradation du muscle soléaire *(Marcuzzo et al., 2008)*. Au niveau central, les animaux immobilisés de P2 à P28 présentaient une désorganisation de la représentation cutanée des pattes arrières et des propriétés neuronales au niveau du cortex somatosensoriel *(Coq et al., 2008)* ; une désorganisation des cartes motrices *(Strata et al., 2004)* ; ainsi qu'une réduction du nombre de neurones dans la couche V du cortex somatosensoriel *(Marcuzzo et al., 2010)*.

Plus récemment, il a été montré qu'une immobilisation des pattes postérieures en position d'hyperextension (16h/jour de P0 à P28) chez le rat entraine des altérations périphériques **(Figure I-15)**, centrales **(Figure I-16)**, ainsi que des sorties motrices **(Figure I-17)**, qui persistent jusqu'à l'âge adulte *(Delcour, Massicotte, et al., 2018; Delcour, Russier, et al., 2018)*. Il a été montré que les animaux immobilisés présentaient une démarche et une posture dégradées sur un tapis roulant, persistant jusqu'à l'âge adulte *(Delcour, Massicotte, et al., 2018)*. En effet, ces animaux présentaient une phase de transfert plus longue et une phase d'appui plus courte, une vitesse de marche plus lente ainsi qu'une marche digitigrade. Une hyperextension des articulations de la cheville et du genou ont aussi été observées avec une réduction de la longueur et de la densité des os tibiaux et des altérations de l'articulation du genou. Ces animaux présentaient également une atrophie des myofibres du gastrocnémien, mais avec des signes de régénération musculaire. Enfin, une diminution de la dépression post-activation du réflexe de Hoffman a aussi été mise en évidence à P60, soit un mois après la fin du protocole d'immobilisation. Ce dernier résultat suggère que l'immobilisation, durant le développement postnatal, entraîne des modifications de la circuiterie centrale qui persiste jusqu'à l'âge adulte. Cette augmentation de l'excitabilité du réflexe de Hoffman va dans le sens des études faites chez le modèle adulte *(Lundbye-Jensen and Nielsen, 2008; Ledri et al., 2020)*. En plus de ces altérations de la circuiterie spinale, cette immobilisation postnatale entraine des altérations des cartes motrices et somatosensorielles, persistant jusqu'à l'âge adulte *(Delcour, Russier, et al., 2018)*. En effet, les animaux immobilisés présentaient une dégradation de la représentation somatotopique des pattes postérieures

au niveau du cortex somatosensoriel. Les champs récepteurs étaient altérés, avec une superposition et un élargissement de ces derniers, suggérant une dégradation de la discrimination tactile chez ces animaux. De plus, des changements des propriétés des neurones du cortex somatosensoriel ont été observés. Ces derniers présenteraient une hyperexcitabilité puisque la réponse neuronale à la stimulation tactile était augmentée. De plus, l'aire des cartes motrices des pattes postérieures était réduite chez ces animaux *(Delcour, Russier, et al., 2018)*. Le seuil des réponses motrices, à la suite de la stimulation neuronales, était également fortement réduit chez les animaux immobilisés, suggérant une hyperexcitabilité corticale. Cette hyperexcitabilité est corroborée par une plus grande concentration extracellulaire de glutamate chez les rats immobilisés, tandis que la concentration extracellulaire de GABA n'était pas différente de celle des animaux contrôles. De plus, la quantité du transporteur vésiculaire du glutamate (vGLUT1) était également augmentée chez les animaux immobilisés tandis que le transporteur vésiculaire de GABA (vGAT) était inchangé. Enfin, aucun signe histopathologique n'a été observé au microscope dans les cortex somatosensoriel moteur et cingulaire ou dans la substance blanche sous-jacente, y compris dans le corps calleux, chez ces animaux. La densité numérique des neurones n'était pas non plus altérée, que ce soit dans la représentation somatosensorielle ou dans la représentation motrice de la patte arrière.

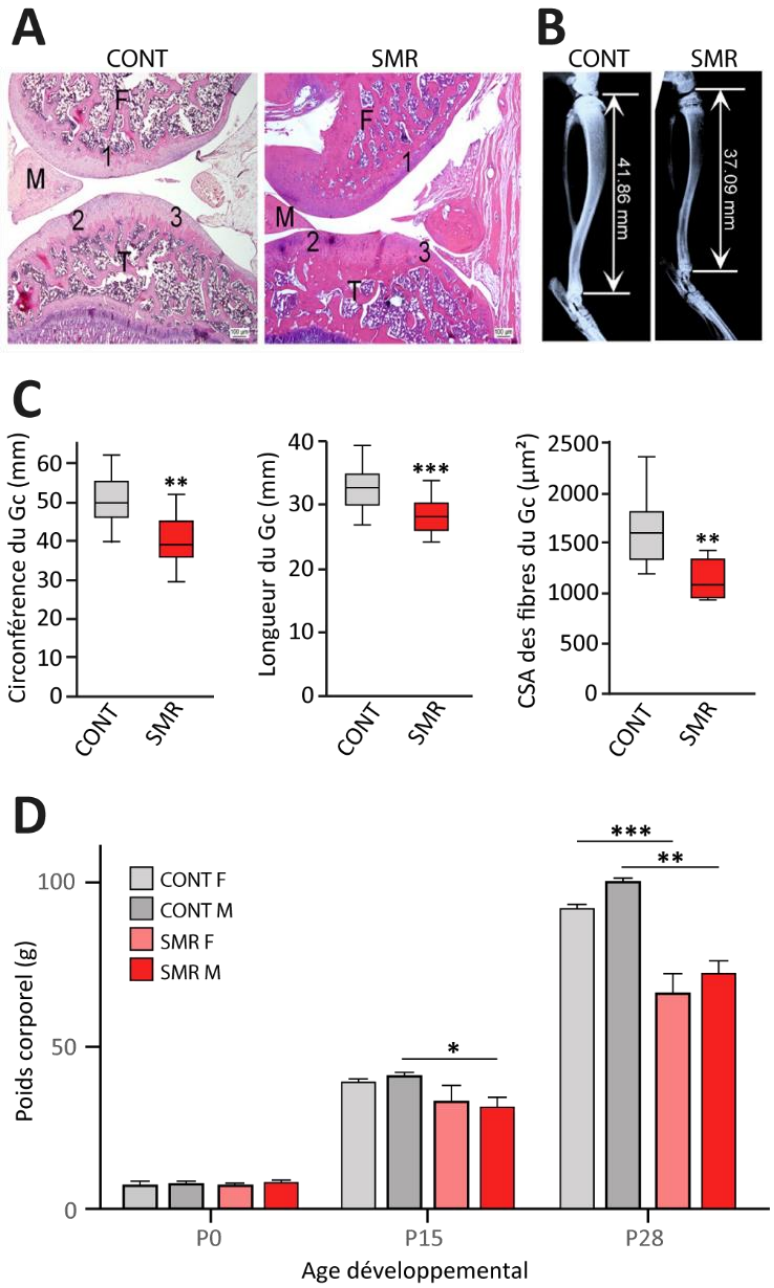


Figure I-15 : Altérations périphériques obtenues à l'âge adulte après une immobilisation de P0 à P28

A : Photographie de la coloration du cartilage de l'articulation du genou d'un animal CONT et SMR prise au microscope. On peut voir que le marquage articulaire est altéré chez l'animal SMR. **B :** Image à rayon X de l'os tibial. On peut voir visuellement la diminution de la taille de l'os chez l'animal SMR. **C :** Quantification de l'atrophie du gastrocnémien (Gc) chez les animaux SMR. La circonférence et la taille du Gc est réduite chez ces derniers. De plus, la « cross-sectional area » (CSA) des fibres du Gc est également réduite chez ces animaux. **D :** Quantification du poids corporel des animaux CONT et SMR mâle et femelle. On peut voir que les animaux SMR mâles présentent un retard de croissance dès P15. C'est le cas de l'ensemble des animaux SMR à P28. (* : P < 0,05 ; ** : P < 0,01 ; *** : P < 0,001)
D'après *Delcour, Massicotte, et al., 2018*.

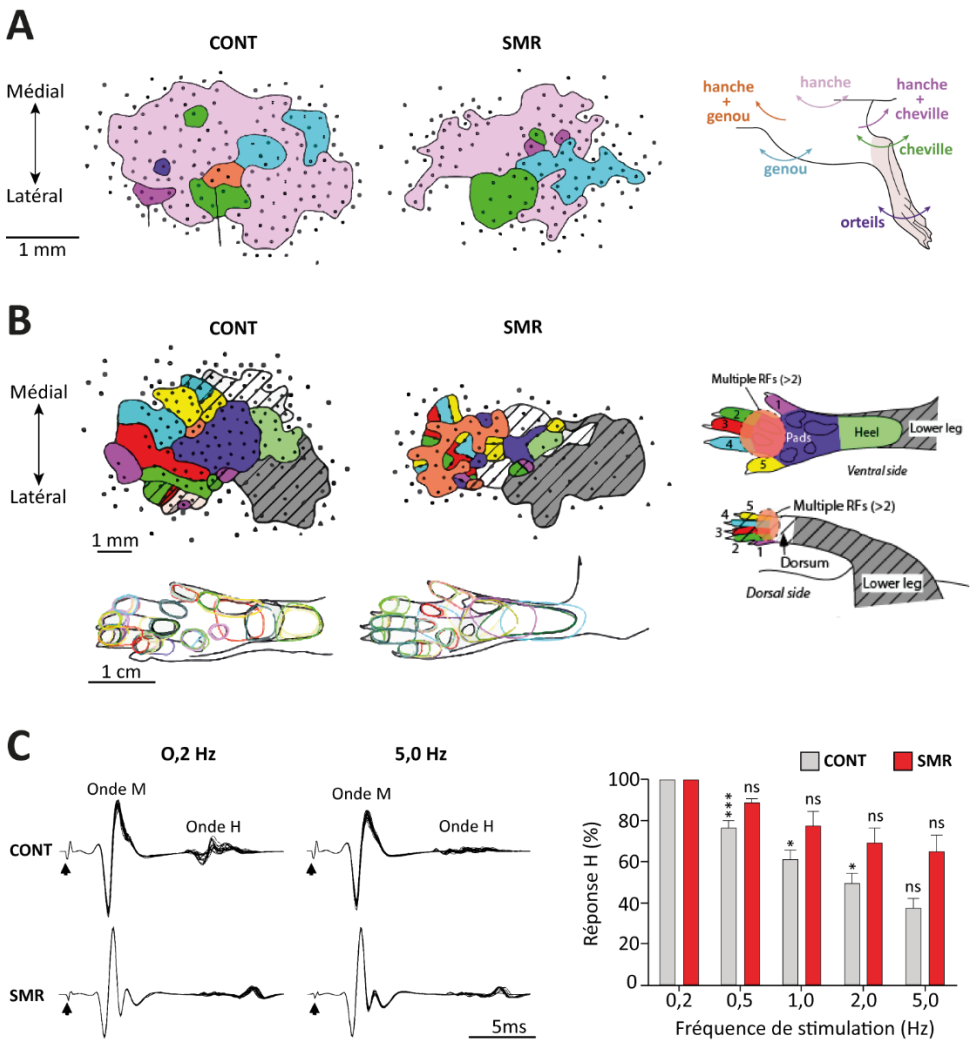
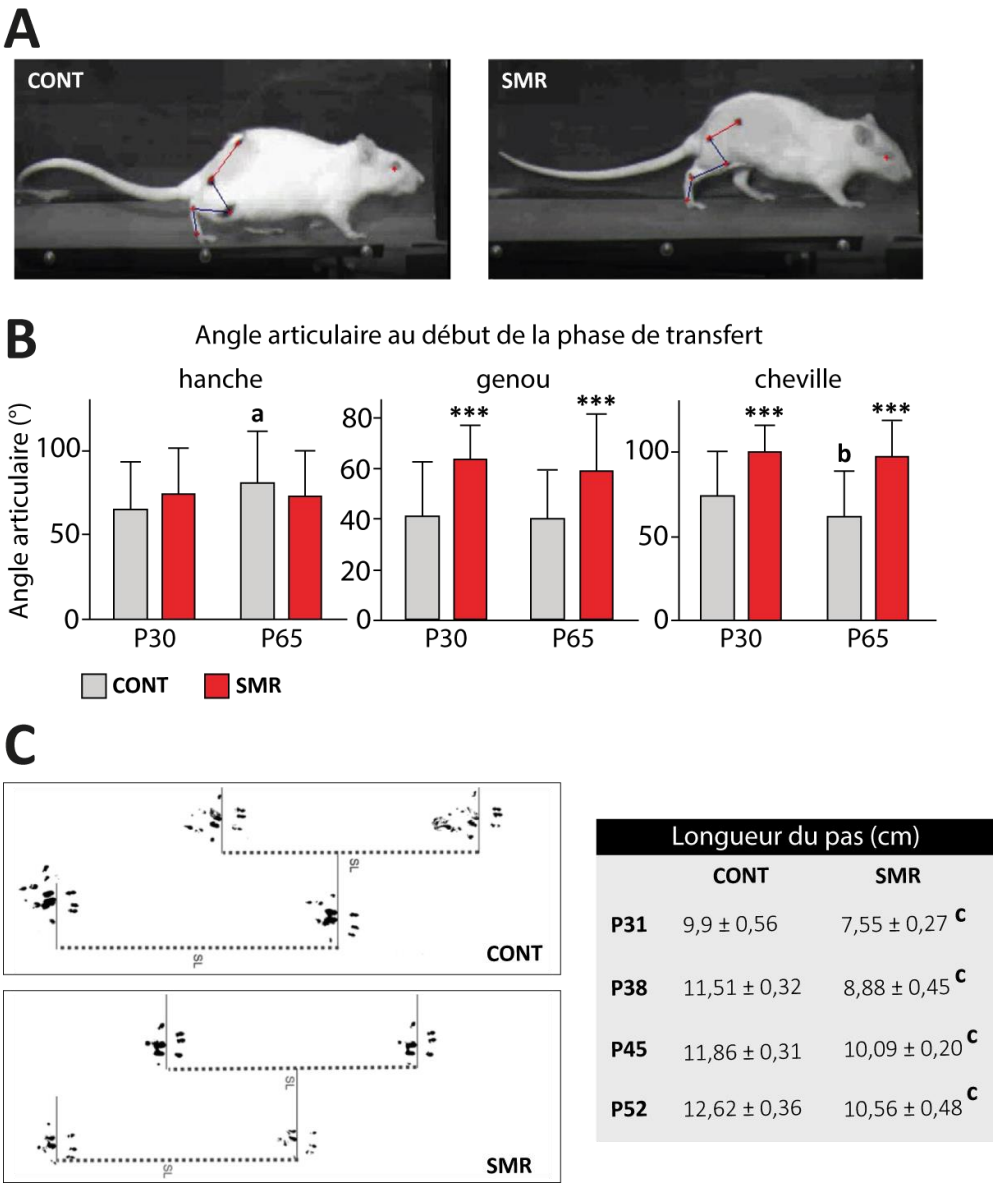


Figure I-16 : Altérations centrales obtenues à l'âge adulte après une immobilisation de P0 à P28

A : Représentation des cartes motrices chez les animaux CONT et SMR (à gauche). A droite se trouve un schéma précisant les mouvements des différentes articulations de la patte postérieure, induit par la stimulation corticale. On peut voir que la taille de la carte motrice de la patte postérieure est diminuée chez les animaux SMR. B : Représentation des cartes somatosensorielles des pattes postérieures des CONT et SMR (à gauche) avec les champs récepteurs de la patte postérieure correspondante (en dessous des cartes). A droite est représenté le code couleur des cartes. On peut voir que les cartes somatosensorielles sont fortement altérées chez les animaux SMR et que les champs récepteurs de ces derniers se chevauchent, suggérant des déficits de la discrimination tactile. C : Dépression post-activation (DPA) du réflexe de Hoffmann. Les tracés enregistrés in vivo sur des animaux CONT et SMR sont représentés à gauche. La quantification de la DPA, exprimée en pourcentage par rapport à la réponse H obtenue à 0,02Hz est représentée sur l'histogramme de droite. On peut voir que la DPA est significativement moins importante chez les animaux immobilisés en postnatal. Ce résultat suggère des altérations de la transmission entre les afférences Ia et les motoneurones, ou de la modulation de cette transmission. (* : P < 0,05 ; *** : P < 0,001)
D'après *Delcour, Massicotte, et al., 2018* (C) et *Delcour, Russier, et al., 2018* (A-B).



Longueur du pas (cm)		
	CONT	SMR
P31	9,9 ± 0,56	7,55 ± 0,27 c
P38	11,51 ± 0,32	8,88 ± 0,45 c
P45	11,86 ± 0,31	10,09 ± 0,20 c
P52	12,62 ± 0,36	10,56 ± 0,48 c

Figure I-17 : Altérations locomotrices obtenues à l'âge adulte après une immobilisation de P0/P2 à P28

A : Photographie du début de la phase de transfert. On peut voir que les animaux SMR présentent une hyperextension de l'articulation de la cheville et du genou. B : Quantification de l'angle articulaire de la hanche, du genou et de la cheville au début de la phase de transfert. Cette hyperextension du genou et de la cheville est présente à P30 et à P65. C : Image représentant la longueur du pas des animaux CONT et SMR à P52. Le tableau de droite récapitule ce paramètre à P31, P38, P45 et P52. On peut voir que les animaux SMR présentent une longueur de pas plus courte à chacun de ces âges. (*** : P < 0,001 SMR vs CONT ; a : P < 0,05 P65 vs P30 ; b : P < 0,01 P65 vs P30 ; c : P < 0,02 SMR vs CONT)
D'après *Delcour, Massicotte, et al., 2018* (A-B) et *Marcuzzo et al., 2008* (C)

LES POINTS CLES DU CHAPITRE 2

Dans ce chapitre, nous avons pu voir que l'expérience sensorielle vécue pendant le développement, et notamment lors de périodes dites critiques, pouvait avoir un profond impact sur l'organisation et la fonction des réseaux neuronaux. Bien que moins considérable, l'expérience vécue à un âge ou les réseaux sont matures influence quand même ces derniers. Beaucoup de ces études se sont intéressées au système visuel, mais il a été montré que le comportement moteur est sensible à l'expérience sensorimotrice, qu'elle soit positive ou négative. En effet, une expérience sensorimotrice aberrante, induite par une immobilisation ou une suspension par la queue chez le rat, provoque des altérations périphériques, centrales ainsi que des sorties motrices. Les déficits induits par cette expérience sensorimotrice négative à l'âge adulte apparaissent réversibles tandis qu'ils persistent jusqu'à l'âge adulte lorsque cette expérience négative est vécue durant le développement postnatal. Ces résultats soulignent la présence d'une période critique du développement moteur, et suggère une dégradation des processus maturationnels postnataux, rendant ce système plus vulnérable à une atteinte précoce.

HYPOTHESE DE TRAVAIL ET OBJECTIFS DE LA THESE

Au cours de la revue bibliographique, nous avons pu voir qu'il existe un dialogue réciproque et permanent entre les propriétés des muscles et le système nerveux central. Les muscles reçoivent une commande des motoneurones situés dans la moelle épinière et, en retour, le système nerveux central reçoit des entrées afférentes des récepteurs proprioceptifs et cutanés. Cette circuiterie sensorimotrice complexe est essentielle au contrôle de la posture et du mouvement. Ainsi, il est tout à fait légitime de penser qu'une altération de ce dialogue réciproque puisse être à l'origine d'une plasticité maladaptative et puisse ainsi induire des altérations de la circuiterie sensorimotrice.

Nous avons pu voir que de nombreuses études vont dans ce sens. En effet, une expérience sensorimotrice négative à l'âge adulte, réalisée chez des modèles animaux via la suspension par la queue ou l'immobilisation, peut induire des troubles posturo-locomoteur associés à des dégradations musculosquelettiques. Ces troubles étaient accompagnés de modifications centrales, notamment au niveau des cartes corticales motrices et somatosensorielles des membres du corps directement affectés par l'expérience atypique ainsi que d'altérations spinales, notamment au niveau de la transmission entre les afférences Ia et les motoneurones. Ainsi, une période d'inactivité génère une atrophie musculaire à l'origine d'entrées sensorielles anormales, qui altèrent alors le système nerveux central en désorganisant la circuiterie sensorimotrice corticale et spinale via une plasticité maladaptative. Notre hypothèse est la suivante : ces désorganisations centrales génèrent à leur tour une altération de la commande motrice, affectant les propriétés musculaires et le mouvement. Ces dernières sont alors à leur tour à l'origine d'entrées sensorielles anormales entrainant ainsi un cercle vicieux reposant sur une perturbation du dialogue réciproque entre la périphérie et le système nerveux central.

De façon générale, ces études ont montré que ces déficits sont réversibles lorsque l'expérience inhabituelle est vécue à des âges auxquels la circuiterie sensorimotrice est mature. En revanche, lorsque l'expérience sensorimotrice atypique est vécue à un âge plus précoce, c'est à dire lorsque la circuiterie

sensorimotrice est encore immature, les déficits observés à l'âge adulte sont plus sévères. Nous supposons que cette expérience atypique, lorsqu'elle est vécue à des âge précoce et plus spécifiquement durant la période critique postnatale, pourrait entraîner des déficits de la maturation de la circuiterie sensorimotrice spinale et ainsi être responsable de la persistance et de la gravité des déficits observés (Figure I-18).

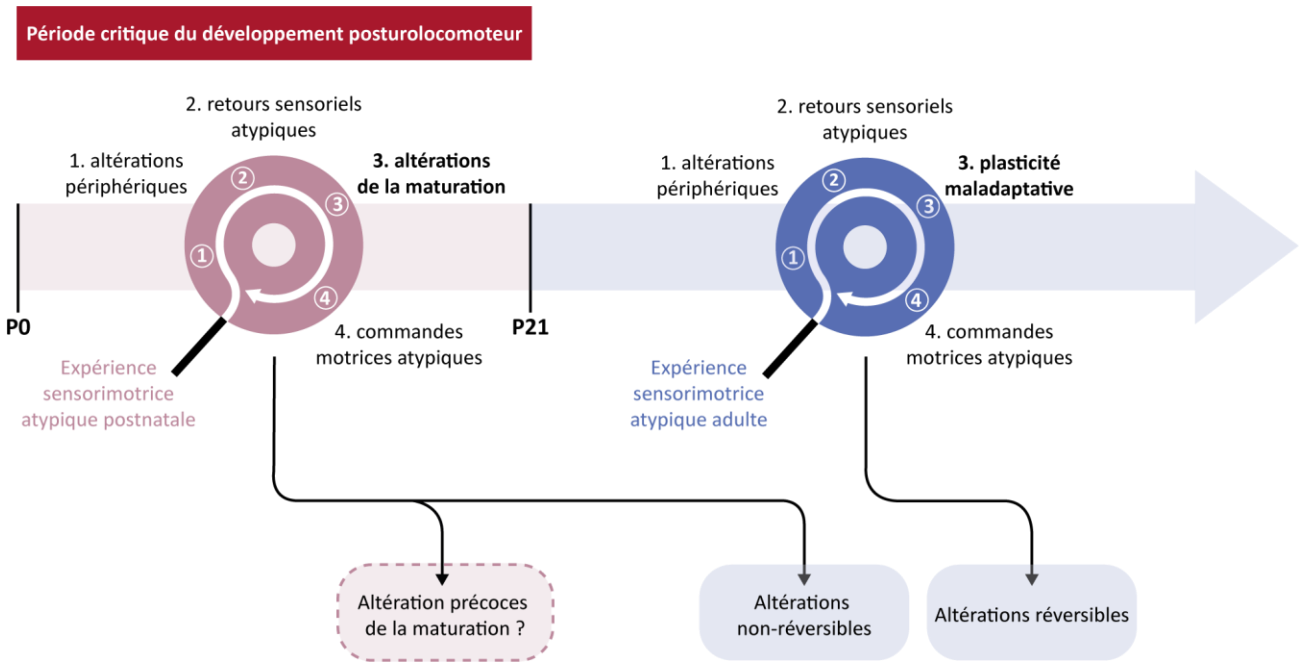


Figure I-18 : Représentation schématique de notre hypothèse de travail

De nombreuses études ont montré que l'expérience sensorimotrice atypique vécue à l'âge adulte entraîne des altérations périphériques. Ces déficits vont être responsables de retours sensoriels atypiques pouvant être à l'origine d'une plasticité maladaptative et pouvant expliquer les altérations centrales également observées. Ces altérations centrales seraient alors à l'origine de commandes motrices atypiques, elles même responsables d'altérations périphériques générant ainsi un cercle vicieux. Lorsque cette expérience est vécue à l'âge adulte, les altérations observées sont réversibles. En revanche, une expérience atypique vécue à un âge précoce entraine des altérations qui persistent à l'âge adulte. Notre hypothèse est que cette expérience, vécue durant la période critique du développement posturo-locomoteur, pourrait altérer la maturation de la circuiterie sensorimotrice. Le but de cette thèse a été de mettre en lumière les altérations précoces à la suite d'une immobilisation effectuée pendant cette période critique.

Dans le cadre de cette thèse, nous avons utilisé le modèle d'immobilisation des pattes postérieures de P0 à P28 décrit dans les études de M. Delcour présentées précédemment. Les objectifs de ma thèse étaient les suivants :

- Etudier l'impact de l'immobilisation postnatale sur : i) le phénotype ; ii) les sorties motrices ; iii) et la circuiterie sensorimotrice spinale, afin de mettre en lumière de possibles altérations précoces. Pour cela, nous avons étudié l'évolution du phénotype de nos animaux CONT et SMR de P0 à P7 et à P14. Les comportements moteurs rendant compte de la maturation de la circuiterie sensorimotrice ainsi que de potentielles altérations des comportements locomoteurs de la nage et de la marche ont été explorés. Enfin, nous avons considéré la possibilité de modifications spinales en nous intéressants aux propriétés des motoneurones lombaires et sacrés, au réflexe monosynaptique, à la locomotion fictive et aux activités spontanées des sorties motrices.
- Approfondir l'étude des altérations observées à l'âge adulte. Pour cela, nous avons tenté de déterminer la présence d'une hyperéflexie *in vivo* à P30 et nous avons poursuivi son étude à P60. Enfin, nous nous sommes également intéressés aux paramètres de la marche à P30.

PARTIE II : MATERIELS & METHODES

« On ne peut se passer d'une méthode pour se mettre en quête de la vérité des choses »

-

René Descartes

L'ensemble des procédures expérimentales a été réalisé en accord avec les directives européennes (2010/63/UE) et les lois françaises (décret 2013-118) concernant l'expérimentation animale (*APAFIS#20829-2019051718013359*). Cette étude a été menée sur des rats de souche Wistar âgés de 0 à 60 jours postnataux (P0 - P60), sans distinction de sexe et appartenant à deux groupes : **i) un groupe contrôle (CONT)** ; **ii) un groupe présentant une expérience sensorimotrice postnatale atypique (SMR)**. Les rats ont accès à l'eau et à la nourriture *ad libitum* et sont soumis à un cycle jour/nuit de 12h.

I. Modèles expérimentaux et étude phénotypique

I.1. Modèles expérimentaux de restriction sensorimotrice postnatale

a. Intérêt du rat nouveau-né

Le rat constitue un modèle expérimental intéressant puisqu'il présente un développement rapide rend possible l'étude de la motricité à 3 échelles : celui du neurone et de ses propriétés électrophysiologiques, celui du réseau moteur et enfin celui de l'organisme entier et de son comportement. Dans le cadre de cette étude, le point le plus avantageux de ce modèle animal est sa facilité de manipulation, simplifiant grandement la restriction sensorimotrice mise en place. De plus, il s'agit d'un modèle préclinique de pathologies neurodéveloppementale en l'absence de lésion cérébrale *(Coq et al., 2020)*.

Son niveau d'immaturité néonatal, la faible épaisseur du système nerveux central ainsi que la faible quantité de myéline sont un avantage considérable pour l'étude électrophysiologique des réseaux et des neurones spinaux. En effet, l'oxygénation ainsi que la pénétration des métabolites présents dans les solutions de perfusion sont facilitées et permettent de maintenir les préparations de moelle épinière isolée en vie pendant plusieurs heures *(Lev-Tov and Pinco, 1992)*. Enfin, la préservation des motoneurones de grande taille ainsi que la visibilité sur tranche de moelle épinière sont plus importantes chez le nouveau-né. Ces conditions *in vitro* à un âge développemental précoce nous

permettent d'effectuer des enregistrements électrophysiologiques intracellulaires et extracellulaires stables et durables.

b. Méthode de restriction sensorimotrice postnatale

Afin d'induire une expérience sensorimotrice atypique dans le groupe SMR, les animaux sont soumis à une immobilisation transitoire des membres postérieurs en position d'hyperextension pendant 16 heures par jour, essentiellement durant la phase active et dès la naissance (**Figure II-1 A et B**). Pour les animaux faisant moins de 8 grammes, généralement de P0 à P2, les pattes postérieures sont liées ensemble avec du sparadrap médical microporeux (Raffin). Passé ce poids, l'immobilisation est effectuée à l'aide de sparadrap médical et d'un moule initialement fabriqué en époxy, puis imprimé en 3D.

Ces moules, bien tolérés par la mère et les ratons, permettent à ces derniers de mouvoir l'articulation de la hanche, d'uriner, de déféquer, et de recevoir les soins maternels. Durant les procédures d'immobilisation et de libération, les animaux appartenant aux deux groupes sont séparés de la mère, et les animaux du groupe CONT sont également manipulés afin de réduire au maximum les biais intergroupes. Les animaux SMR sont libres de mouvement 8 heures par jour, essentiellement durant la phase inactive. Lors de cette étude nous avons utilisé des modèles SMR précoce et tardif, décrits ci-dessous.

c. Modèle précoce

Nous avons vu que le développement des réseaux locomoteur n'est pas entièrement mature à la naissance chez le rat et continue de s'affiner durant les premières semaines post-natales. Les différents paramètres étudiés durant la phase développementale précoce ne peuvent pas être effectués aux mêmes âges postnataux. Il faut donc garder à l'esprit que chaque jour d'immobilisation supplémentaire

représente un modèle précoce à part entière (**Figure II-1 C**). Ainsi, les animaux utilisés avant P14 sont considérés comme modèle précoce puisqu'ils auront subi une période d'immobilisation brève.

d. Modèle tardif

Il a déjà été montré qu'une restriction sensorimotrice sur une période de P0 à P28 ou de P2 à P28 entraine des altérations qui persistent jusqu'à l'âge adulte *(Strata et al., 2004; Coq et al., 2008; Marcuzzo et al., 2008, 2010; Delcour, Massicotte, et al., 2018; Delcour, Russier, et al., 2018)*. Dans cette étude, nous avons continué à caractériser ce modèle tardif, correspondant à des animaux ayant subi la restriction durant la période développementale de P0 à P28 (**Figure II-1 C**).

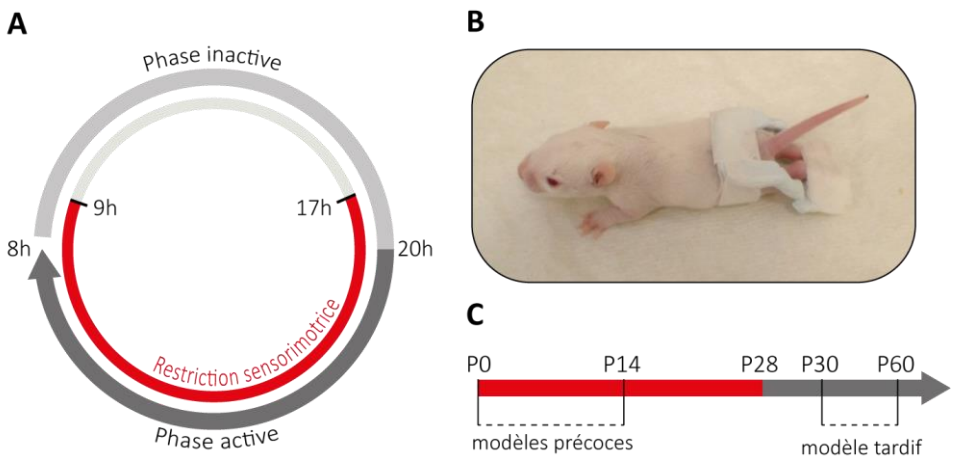


Figure II-1 : Méthode de restriction sensorimotrice postnatale et modèles utilisés

A : Représentation de la durée de restriction sensorimotrice sur un cycle de 24h. La restriction sensorimotrice est maintenue 16 heures par jour, essentiellement durant la phase active. Les animaux sont libérés 8 heures durant la phase inactive. **B :** Photographie de la restriction sensorimotrice sur un animal âgé de P10. Les pattes postérieures sont immobilisées en position d'hyperextension avec un moule en époxy. **C :** Représentation des périodes développementales de restriction sensorimotrice à l'origine des différents modèles utilisés. **En rouge :** période de restriction sensorimotrice.

I.2. Etude du développement phénotypique général et moteur

a. Développement phénotypique général

Courbe de croissance

Le poids corporel des animaux CONT et SMR que nous avons utilisés pour l'étude du patron locomoteur est mesuré à P0, P7 et P14 afin d'étudier l'impact de la restriction sur la courbe de croissance des animaux.

Positionnement des pattes postérieures

La position des pattes postérieures des animaux CONT et SMR est mesurée de P1 à P7 et à P14 à la suite de l'observation d'une différence phénotypique importante. Les animaux sont maintenus par la peau du cou et une photo est prise de profil (**Figure II-2 A**). L'angle de l'articulation de la cheville est alors mesuré à postériori avec deux traits placés : entre l'articulation du genou et de la cheville ; et de la cheville et des orteils. Les photos sont prises le matin et le soir afin de voir s'il y a une récupération lorsque les animaux sont libres.

Position de la queue

La position de la queue des animaux CONT et SMR est également comparée de P1 à P7 et à P14 à la suite de l'observation d'une différence phénotypique importante. En effet, les animaux SMR présentent une position de queue anormale en « tire-bouchon ». Les animaux sont placés face ventrale sur un fond blanc puis pris en photo par le dessus (**Figure II-2 B**). Afin de quantifier cette différence phénotypique, nous avons calculé un index de sévérité *(d'après Marcantoni et al., 2020)*. Pour cela, la queue est divisée en 4 points (a, b, c et d) et en trois segments (A, B et C). (**Figure II-2 B**). Trois mesures sont prises : l'angle θ1 entre les segments A et B, l'angle θ2 entre les segments B et C, ainsi que la relation entre la

longueur Dmax (correspondant à la somme de tous les segments (A, B et C)) et la plus courte distance entre la base de la queue (a) et le bout de la queue (d).

Les angles sont comparés à leur valeur maximale (180°) et normalisés au poids spécifique qui a été attribué à chaque paramètre dans l'indice de gravité. Nous avons donné un poids plus important aux angles de la queue (0,45) et un poids moins important à la relation Dmax/D (0,1). Les trois paramètres sont additionnés afin de calculer l'indice de gravité comme indiqué dans la formule (**Figure II-2 B**). Plus cet index se rapproche de 0, plus la sévérité du phénotype atypique est importante.

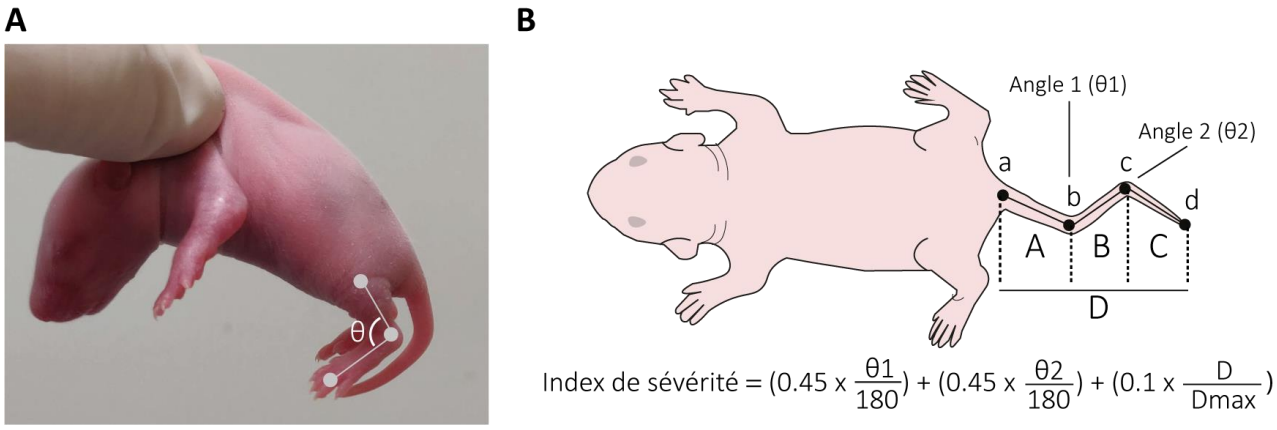


Figure II-2 : Etude de la position des pattes postérieures et de la queue

A : Photo présentant l'angle articulaire θ de la cheville, mesuré chez les animaux CONT et SMR. Pour effectuer cette mesure, nous avons dessiné à postériori deux segments entre l'articulation du genou et de la cheville et entre l'articulation de la cheville et les orteils de l'animal. **B :** Représentation de la méthode utilisée afin de quantifier la sévérité du phénotype atypique de la queue.

b. Développement phénotypique moteur

L'étude des mouvements spontanés généraux, du réflexe de retournement, de la nage ainsi que de la marche est effectuée en fin de phase inactive afin qu'il y ait une période maximale entre la libération des animaux SMR et le début des enregistrements.

Mouvements spontanés généraux

Afin d'étudier les mouvements spontanés généraux, les animaux CONT et SMR sont placés sur une plaque chauffante (37°C), à P5. Une caméra est placée au-dessus des animaux afin d'enregistrer en continu leurs mouvements spontanés. L'expérience ne débute que lorsque les animaux sont endormis et que leur température est stable, et l'enregistrement dure 5 minutes. Les mouvements spontanés de la queue et des pattes postérieures sont quantifiés à postériori et manuellement, et séparés en *twitches* < 1 seconde et en mouvements spontanés complexes > 1 seconde. Pour chaque animal, l'analyse correspond à la moyenne de trois périodes d'une minute.

Reflexe de retournement

Le réflexe de retournement est la capacité motrice de l'animal à se remettre sur ses pattes après avoir été mis sur le dos. Ce reflexe apparaît en moyenne aux alentours de P5 chez le rat *(Fox, 1965; Feather-Schussler and Ferguson, 2016)*. Nous avons réalisé ce test chez nos animaux CONT et SMR de P4 à P7. Les animaux sont maintenus sur le dos par les épaules et la queue pendant 5 secondes. Une fois relâchés, le temps nécessaire pour se retourner est mesuré (**Figure II-3**). Ce test est répété trois fois et moyenné pour chaque animal.

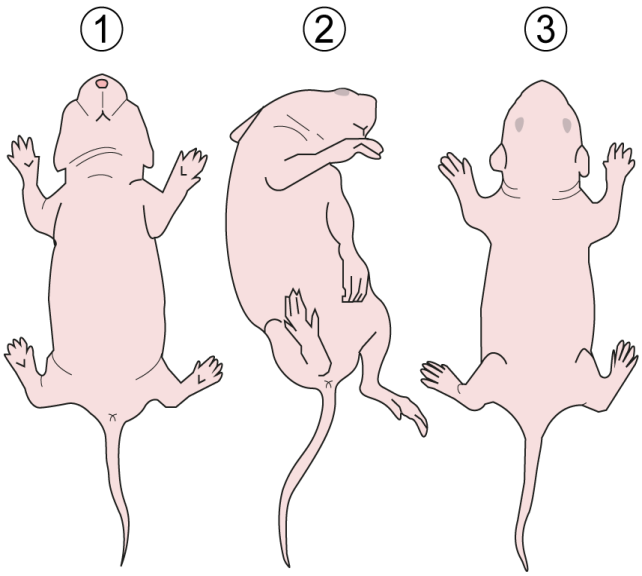


Figure II-3 : Protocole du réflexe de retournement

(1) L'animal est placé sur le dos et est maintenu au niveau de la tête et de la queue pendant 5 secondes. (2) Une fois relâché, l'animal va se retourner et se repositionner sur sa face ventrale, avec les quatre pattes contre le support sur lequel il se trouve (3). Le but est de quantifier le temps, Δt (s), nécessaire pour que l'animal passe de la position (1) à la position (3).

Etude de la nage

Afin d'étudier la nage, les rats CONT et SMR âgés de 12 jours postnataux sont placés individuellement au centre d'une bassine de 189 litres, remplie d'eau chauffée à 35-37°C. Nous avons mesuré la distance et à la vitesse de nage ainsi que la proportion de mobilité et d'immobilité des animaux. Chaque animal est enregistré avec une caméra vidéo, deux fois pendant 30s, avec deux minutes de repos entre chaque enregistrement. A la fin de chaque enregistrement, l'animal est immédiatement retiré de la bassine, séché à l'aide de papier et remis dans la cage avec ses congénères. L'analyse des vidéos est effectuée avec un système automatisé de suivi vidéo Ethovision (Noldus) afin d'extraire les paramètres de la nage.

Etude du patron locomoteur

La maturation de la marche est complète dès la fin de la deuxième semaine postnatale chez le rat *(Vinay et al., 2002)*. Nous avons donc étudié les performances de la marche de nos rats CONT et SMR à P14 et P30 avec le système CatWalk XT (v10.3, Noldus Information Technology, Pays-Bas). Les animaux marchent librement sur une plateforme en verre éclairée par des faisceaux de lumière verte et délimitée par un couloir adapté à leur taille. Leurs empreintes sont enregistrées avec d'une caméra placée sous la plateforme. Nous avons réalisé trois enregistrements par animal et un enregistrement est considéré comme réussi lorsque la vitesse de marche est relativement constante, sans arrêt, ni toilettage. Les paramètres de la marche analysés sont les suivants : les durées des phases d'appui et de transfert relatives à chaque patte, le cycle du pas, la longueur du pas, la surface d'empreinte, le polygone de sustentation avant et arrière, et la vitesse ainsi que le patron de marche **(Figure II-4)**. Tous ces paramètres sont analysés à l'aide du logiciel CatWalk XT et la classification des empreintes est vérifiée et corrigée manuellement. Nous avons moyenné les 3 essais de chaque animal pour chacun des paramètres étudiés.

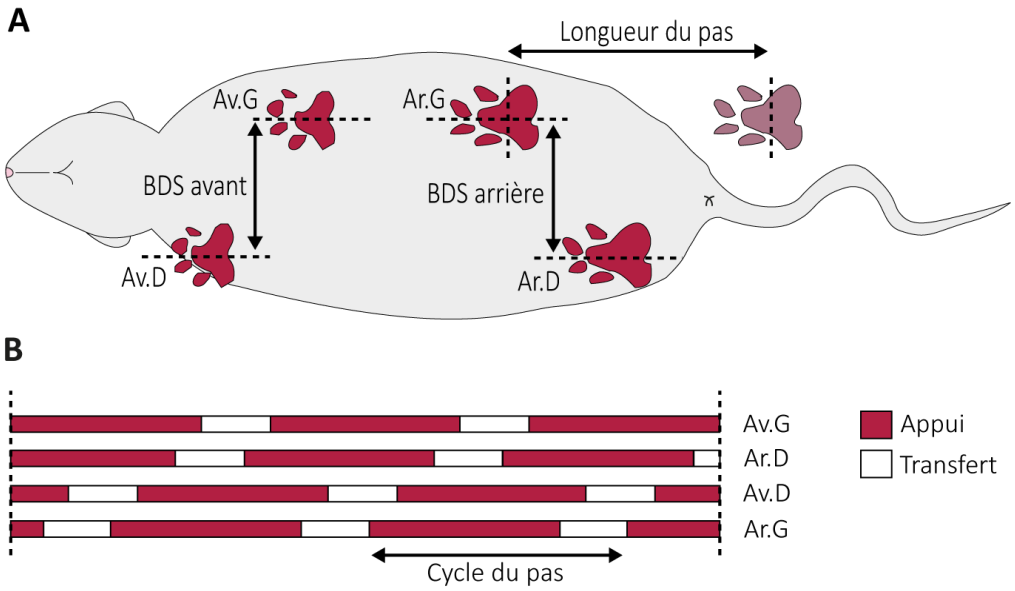


Figure II-4 : Schéma représentant les paramètres de la marche analysés au CatWalk

A : Représentation d'un rat vu du dessous. La longueur du pas correspond à la distance entre les appuis consécutifs d'une même patte. La base de support (BDS) correspond à la distance entre les deux pattes avant ou les deux pattes arrière. B : Représentation du patron de la marche. Le cycle du pas correspond à la durée entre les fins de phases d'appui consécutives d'une même patte et comprend la phase de transfert et la phase d'appui de cette dernière.

II. Méthodes d'enregistrements électrophysiologiques *in vitro*

II.1. Enregistrements électrophysiologiques sur moelle isolée

a. Dissection et mises en place des préparations

La préparation de moelle épinière isolée présente l'avantage de conserver l'intégrité du réseau neuronal spinal lombaire. L'animal est décapité puis rapidement éviscéré. La dissection est effectuée dans une boîte de Pétri dont le fond est recouvert d'une résine (Sylgard), et remplie d'une solution physiologique composée de (en mM) : NaCl 120 ; KCl 4 ; $CaCl_2$ 1,2 ; $MgSO_4$ 1,3 ; NaH_2PO_4 1,25 ; $NaHCO_3$ 25 ; Glucose 20, oxygénée par un mélange d'O_2 et de CO_2 (95%-5%) ; pH ajusté à 7,4 et maintenue à 4°C. L'intégralité de la dissection est réalisée sous loupe binoculaire. L'animal est posé sur sa face dorsale puis les vertèbres sont sectionnées bilatéralement selon un axe rostrocaudal, donnant ainsi

accès à la moelle épinière. Après avoir incisé la dure-mère le long de la ligne médiane, les racines ventrales et dorsales sont sectionnées au niveau des ganglions dorsaux afin de préserver au maximum leur longueur et la moelle épinière est sectionnée au niveau thoracique T8 avant d'être prélevée. Une fois isolée du reste du corps, la préparation de moelle épinière est transférée puis fixée, face ventrale vers le haut, dans une chambre d'enregistrement, continuellement perfusée par la solution physiologique oxygénée et maintenue à 26°C pour les enregistrements d'activité spontanée et de locomotion fictive ou 32°C pour les enregistrements du réflexe myotatique. L'ensemble des racines dorsales et ventrales sont épinglées à l'aide de minuties afin de bien immobiliser la préparation. Les électrodes de stimulation ou d'enregistrement en acier sont placées en configuration « en passant », c'est-à-dire en contact avec les racines d'intérêt et isolées électriquement par de la vaseline. Une fois les préparations mises en place, nous attendons 45 minutes avant de procéder à tout enregistrement afin de laisser la moelle épinière au repos. Les enregistrements d'activité spontanée et de locomotion fictive sont faits sur des animaux P2, et les enregistrements du réflexe myotatique et de sa dépression post-activation sur des animaux de P4 à P6. Les stimulations sont effectuées avec un stimulateur (A-M Systems 2100), les signaux obtenus sont amplifiés (Amplificateur A-M Systems 1700 ; bande passante : 300Hz-5kHz ; gain : x1000), puis recueillis par un convertisseur analogique/digital (Digidata 1322A). L'ensemble est connecté à un ordinateur muni du logiciel pClamp9 (Axon Instrument ; fréquence d'échantillonnage de 1 à 5kHz). Les enregistrements de locomotion fictive sont rectifiés et intégrés sur une fenêtre glissante de 100ms et ceux de l'activité spontanée et de locomotion fictive sont uniquement rectifiés. L'ensemble des analyses est effectué avec le logiciel Clampfit 9 (Axon Instrument).

b. Protocoles utilisés et méthode d'analyse des enregistrements extracellulaires

Activité spontanée et locomotion fictive

Nous avons enregistré l'activité des 2ème et 5ème racines ventrales des segments lombaires (L2 et L5), droites et gauches (**Figure II-5 A**). L'activité spontanée des racines est enregistrée pendant une période de 10 minutes. Afin de quantifier et de comparer l'activité spontanée des racines L2 et L5 des animaux CONT et SMR, nous avons mesuré l'aire sous la courbe du signal rectifié.

Afin d'induire la locomotion fictive, nous avons ajouté les agents pharmacologiques suivant à la solution physiologique d'enregistrement : NMDA (4µM) et 5-HT (10µM). Nous avons réalisé un enregistrement de 20 minutes pour chaque préparation de moelle épinière (**Figure II-5 B**). L'analyse est effectuée à des endroits bien spécifiques des enregistrements. Lorsque les bouffées rythmiques d'activité commencent à apparaître sur les tracés, nous attendions 5 minutes afin que la fréquence et l'amplitude de ces dernières se stabilisent. Puis nous analysons deux fois 3 minutes avec 4 minutes d'intervalle (**Figure II-5 C**). Nous nous sommes intéressés à deux points : **i) les paramètres généraux de la locomotion fictive** (la fréquence des bouffées au niveau L2 et L5) ; **ii) La stabilité du rythme** (les valeurs du coefficient d'auto-corrélation et de corrélations croisées). La corrélation décrit la relation mutuelle qui existe entre deux ou plusieurs signaux. Lorsqu'on fait une auto-corrélation, on corrèle le signal (l'activité d'une racine) avec lui-même, plus spécifiquement avec sa version décalée dans le temps de lui-même. Cela nous permet de mesurer la stabilité du rythme d'une même racine spinale au cours du temps. Plus le coefficient d'auto-corrélation est proche de 1, plus le rythme de la racine est stable. Lorsqu'on fait une corrélation croisée, on corrèle un signal donné (l'activité d'une racine spinale X) avec un autre signal (l'activité d'une racine spinale Y) afin de mesurer la coordination de leur rythme. Plus le coefficient de corrélation tend vers -1, plus les racines sont en opposition de face, et plus ce coefficient est proche de 1, plus les racines sont en phase.

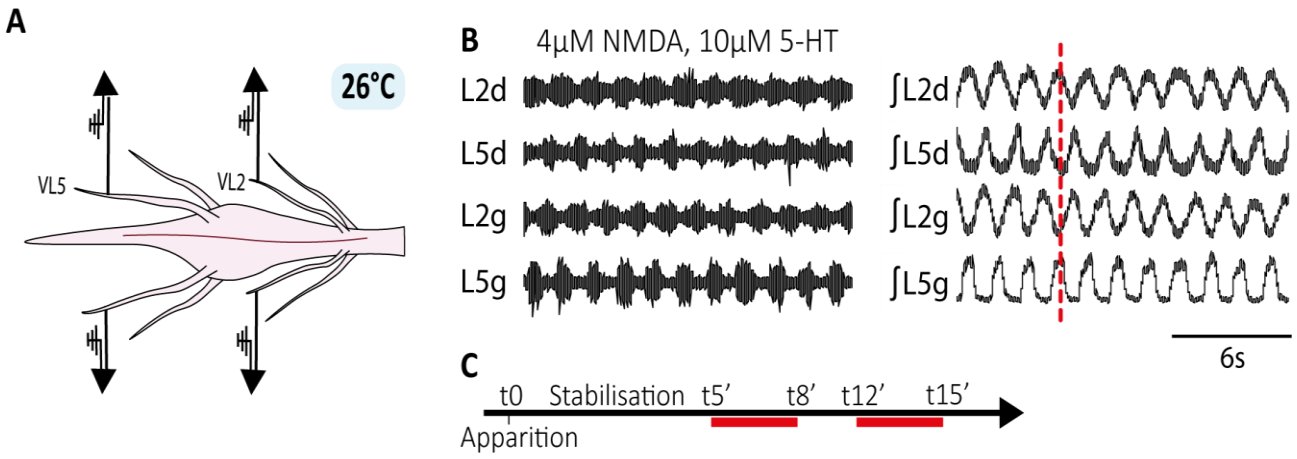


Figure II-5 : Méthode d'enregistrement et d'analyse de l'activité spontanée et de la locomotion fictive

A : Représentation de la préparation et du placement des électrodes d'enregistrement au niveau des 2ème et 5ème racines ventrales lombaires, droites et gauches. La moelle est placée face ventrale vers le haut. **B :** Tracés bruts **(gauche)** et rectifiés **(droite)** de la locomotion fictive induite pharmacologiquement. On peut voir par exemple, au niveau du trait rouge, que les racines L5 droite et L2 gauche sont en phase, tandis que les racines L2 gauche et L5 gauche sont en opposition de phase. **C :** Représentation des portions de tracés analysés **(en rouge)**. L'analyse est effectuée deux fois durant 3 minutes ; 5 minutes et 12 minutes après le début de l'apparition de la locomotion fictive pour optimiser la stabilisation du signal.

Dépression post-activation de la réponse monosynaptique

Au cours de cette étude, nous nous sommes également intéressés au réflexe myotatique et avons étudié son seuil et sa dépression post-activation. Pour cela, nous avons enregistré l'activité des 5ème racines lombaires, ventrales, tout en stimulant les 5ème racines dorsales (**Figure II-6 A**). Dans un premier temps, nous avons mesuré le seuil de déclenchement de la réponse monosynaptique et de la réponse de la racine dorsale. La racine dorsale est stimulée à une fréquence de 0,03 Hz à des intensités croissantes. La stimulation initiale est de 0 mA et un Δ de 0,1 mA est appliqué. Dans un second temps, nous avons effectué le protocole de dépression post-activation. La racine dorsale est stimulée 15 fois à des fréquences croissantes (en Hz) : 0,05 ; 0,1 ; 0,5 ; 1 ; 2 ; 5 et 10 ; avec une intensité de 5 fois le seuil. Ce protocole est répété trois fois et une période de repos de 2 minutes est systématiquement respectée

entre chaque fréquence de stimulation. Nous avons ensuite mesuré et moyenné l'aire sous la courbe de la réponse monosynaptique de la racine ventrale à chaque fréquence, que nous avons normalisée par rapport à l'aire obtenue à 0,05 Hz afin de comparer la dépression post-activation entre les animaux CONT et SMR.

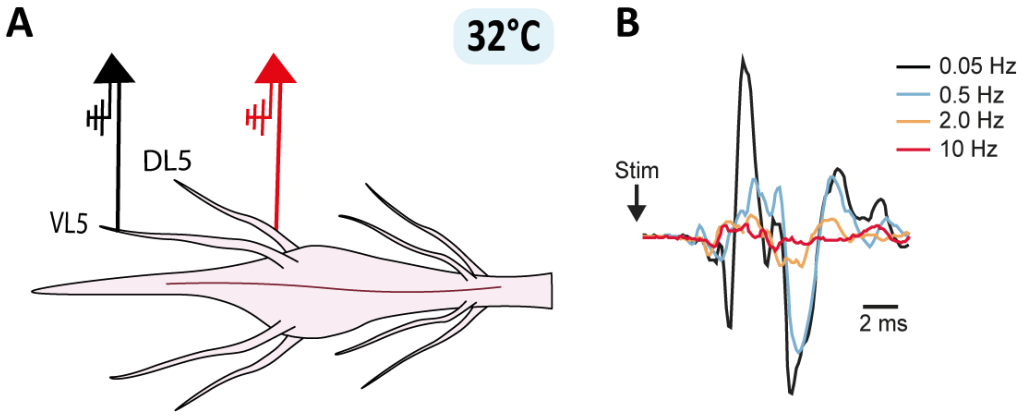


Figure II-6 : Méthodes d'enregistrement et d'analyse du reflexe myotatique et de DPA

A : Représentation de la préparation et du placement des électrodes d'enregistrements et de stimulation au niveau des 5ème racines lombaires, ventrale et dorsale. La moelle est placée face ventrale vers le haut. En noir : électrode d'enregistrement. En rouge : électrode de stimulation. B : Exemple d'un tracé typique de la dépression de la réponse monosynaptique de la racine ventrale chez un animal contrôle. La racine dorsale est stimulée à des fréquences croissantes (en Hz) : 0,05 ; 0,1 ; 0,5 ; 1 ; 2 ; 5 et 10. Pour un souci de clarté, l'ensemble des fréquences utilisées n'est pas représenté. Nous avons mesuré et normalisé l'aire sous la courbe de cette réponse à chaque fréquence afin de déterminer l'ampleur de la dépression dans les deux groupes (CONT et SMR). Le seuil de la réponse monosynaptique a été mesuré à la fréquence de stimulation de 0,05Hz.

II.2. Enregistrements électrophysiologiques sur tranche de moelle épinière

a. Dissection et mise en place des préparations

L'ensemble des enregistrements effectués en patch-clamp est fait sur des animaux CONT et SMR âgés de 5 à 7 jours postnataux. Le prélèvement de la moelle épinière utilisée pour effectuer des tranches lombaires ou sacrées est réalisé comme pour les enregistrements extracellulaires. Cependant, la solution utilisée lors de cette dissection est une solution de sucrose maintenue à 4°C, dont la

composition est la suivante (en mM) : sucrose 252 ; KCl 3 ; NaH_2PO_4 1,25 ; $MgSO_4$ 4 ; $CaCl_2$ 0,2 ; $NaHCO_3$ 26 ; D-Glucose 25 ; O_2/CO_2 95/5%. Une fois isolée, les racines ventrales et dorsales sont coupées et la moelle épinière est sectionnée au niveau T13 pour les tranches lombaires ; ou L5 pour les tranches sacrées. La partie isolée est ensuite placée sur un bloc d'Agar 4% puis recouverte d'un gel d'agarose afin de stabiliser la moelle pendant la coupe. L'ensemble est transféré dans la chambre du vibratome (Leica, VT1000) préalablement remplie de solution de sucrose maintenue à 4°C et oxygénée. Des coupes transversales de la moelle épinière de 300 µm d'épaisseur sont alors effectuées soit au niveau du 5ème segment lombaire, soit au niveau des 1er et 2ème segments sacrés. Les tranches sont ensuite placées pendant une heure dans une solution physiologique, dont la composition est la suivante (en mM) : : NaCl 120 ; KCl 4 ; $CaCl_2$ 1,2 ; $MgSO_4$ 1,3 ; NaH_2PO_4 1,25 ; $NaHCO_3$ 25 ; Glucose 20, oxygénée par un mélange d'O_2 et de CO_2 (95%-5%) ; pH ajusté à 7,4. Elles sont ensuite transférées dans la chambre d'enregistrement et perfusées avec la même solution physiologique avec un débit de 15 mL/min, chauffée à 32°C avec un module Peltier. Nous n'avons pas effectué de marquage rétrograde des motoneurones lombaires et sacrés. Nous nous sommes basés sur des images d'Atlas avec marquage de la choline acétyltransférase dans la moelle épinière du rat (**Figure II-7**) pour identifier les régions d'intérêt *(Watson et al., 2009)*. Nous nous sommes ensuite basés sur la morphologie et les propriétés électrophysiologiques des neurones enregistrés afin de cibler les motoneurones. Nous avons sélectionné les neurones dont la taille du soma est supérieure à 20µm ainsi que ceux présentant une rhéobase importante et une faible résistance. Les électrodes de verre (World Precision Instruments. Diamètre externe : 1,5 mm ; Diamètre interne : 1,12 mm) utilisées pour les enregistrements sont préparées avec d'une étireuse numérique (Sutter Instrument P90). La résistance d'entrée des électrodes se situe entre 2 et 4 MΩ. Les électrodes sont ensuite remplies d'une solution intracellulaire composée (en mM) de : K^+-gluconate 140 ; NaCl 5 ; $MgCl_2$ 2 ; HEPES 10 ; EGTA 0,5 ; ATP 2 ; GTP 0,4 ; pH 7,3 (280-290 mOsm). L'ensemble des analyses est effectué avec le logiciel Clampfit 9 (Axon Instrument).

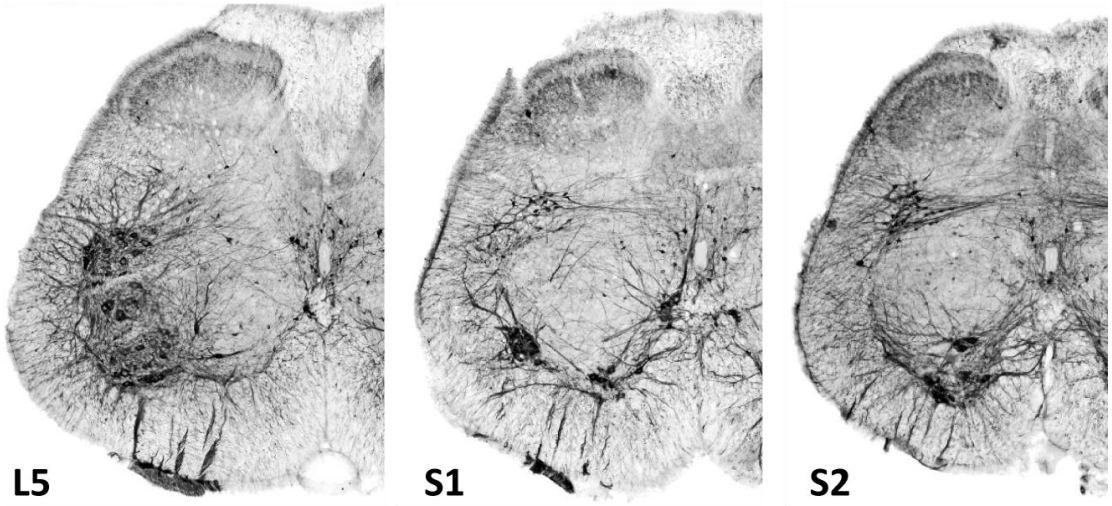


Figure II-7 : Marquage ChAT au niveau du 5ème segment lombaire et des 1er et 2ème segments sacrés

Comme nous n'avons pas effectué de marquage rétrograde des motoneurones, nous nous sommes basés sur des images d'Atlas avec marquage de la choline acétyltransférase (ChAT) chez le rat, ainsi que la morphologie et les propriétés électrophysiologiques des neurones enregistrés en patch-clamp. Les images de l'Atlas nous ont permis de cibler les régions d'intérêts dans lesquelles sont regroupés des motoneurones.
Figure tirée de *Watson et al., 2009*.

b. Protocoles utilisés et méthode d'analyse des enregistrements en patch-clamp

Nous nous sommes intéressés à l'excitabilité et aux propriétés électrophysiologiques des motoneurones lombaires et sacrés ainsi qu'au seuil de déclenchement du plateau des motoneurones lombaires, caractérisée récemment au laboratoire chez le rat et la souris *(Bouhadfane et al., 2013; Bos et al., 2018)*.

Pour ce qui est de l'excitabilité et des propriétés électrophysiologiques, nous avons mesuré la rhéobase, la résistance membranaire, le seuil du potentiel d'action, le potentiel de repos ; et l'amplitude, la durée et les pentes ascendantes et descendantes maximales du potentiel d'action. Pour cela, nous avons réalisé un protocole de courbe courant-voltage (courbe IV) avec des créneaux rectangulaires de courant de courte durée (700ms) et d'intensité croissante (I0 : -100 pA ; Δ : +50 pA). La relation U (V) = R (Ω) x I (A) est utilisée pour calculer la résistance membranaire (MΩ). C'est le premier potentiel d'action apparu sur la dépolarisation induite pendant le protocole de courbe I-V qui nous a permis de calculer le seuil de

déclenchement ainsi que les propriétés du potentiel d'action. La rhéobase correspond au courant minimal injecté pour induire un potentiel d'action. Afin de la calculer précisément, le potentiel du motoneurone n'était pas imposé et le Δ du courant injecté était de 10pA. Le potentiel de repos et le potentiel seuil du déclenchement du potentiel d'action ont été mesurés au début des enregistrements et n'ont pas été rectifiés du potentiel de jonction *(Pambo-Pambo, Durand and Gueritaud, 2009)*. Si un motoneurone présentait une amplitude de potentiel d'action <50 mV, il n'était pas pris en compte pour les analyses.

Afin d'étudier le seuil du plateau des motoneurones lombaires, nous avons injecté un créneau dépolarisant infraliminaire de 15 secondes surmonté d'une brève dépolarisation supraliminaire de 2 secondes avant de redescendre à la dépolarisation infraliminaire initiale pendant 7 secondes. Ces créneaux infraliminaires ont été incrémentés jusqu'à l'obtention du plateau, le courant initial injecté était de 100 pA avec un Δ de + 100 pA à chaque nouveau créneau. Lorsque le plateau est atteint, le motoneurone auto-entretient sa décharge après l'arrêt de la dépolarisation supraliminaire *(Bouhadfane et al., 2013)* (Figure II-8).

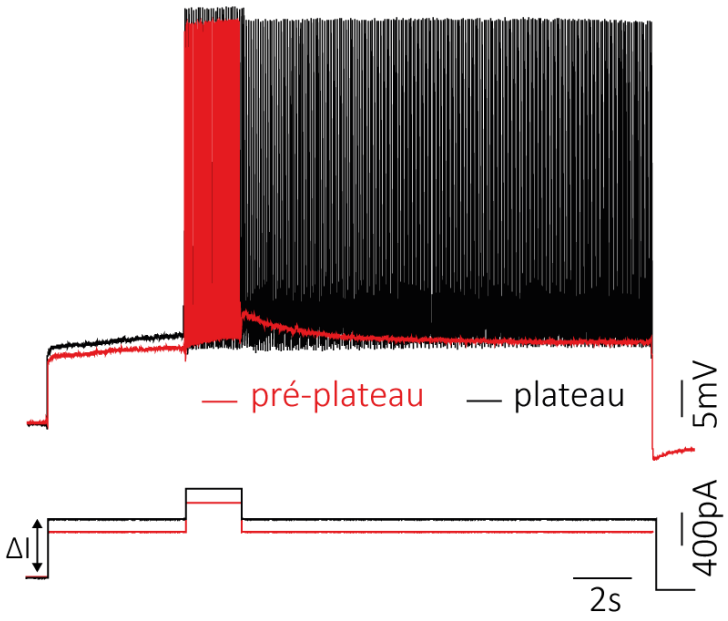


Figure II-8 : Protocole de plateau effectué sur les motoneurones lombaires

Le tracé du bas correspond aux créneaux de courant injectés dans le motoneurone tandis que le tracé du haut correspond à la réponse du motoneurone. Ce dernier est maintenu à un voltage imposé de -70mV afin que son potentiel initial soit le même à chaque créneau dépolarisant. Un courant infraliminaire de 15secondes surmonté d'une brève dépolarisation supraliminaire de 2 secondes sont injectés. Le courant initiale du créneau infraliminaire était de 100pA avec un Δ de +100 pA à chaque nouveau créneau. Sur le tracé rouge, le motoneurone n'a pas encore atteint le plateau. On peut voir sur le tracé noir que le motoneurone auto-entretient sa décharge après l'arrêt de la dépolarisation supraliminaire : le plateau est atteint. Nous nous sommes intéressés au courant (ΔI) infraliminaire nécessaire à l'induction du plateau des motoneurones lombaires.

III. Méthodes d'enregistrements électrophysiologiques in vivo

III.1. Mise en place *in vivo*

Nous nous sommes intéressés à la dépression post-activation du réflexe de Hoffman (réflexe H) de notre modèle tardif. Les enregistrements sont effectués chez les CONT et les SMR âgés de 1 (P30) et 2 mois (P60). Les animaux sont anesthésiés à l'aide de kétamine 0,6mL/Kg et d'isoflurane (aux alentours de 0,1%) puis placés face ventrale sur un tapis chauffant. Lorsque l'animal est endormi et ne réagit plus au pincement de sa patte, les électrodes sont ensuite placées afin de procéder à l'enregistrement du réflexe H et à sa dépression post-activation (Figure II-9 A et B).

III.2. Techniques d'enregistrement et de stimulations et analyse

L'ensemble des analyses est effectué avec le logiciel Clampfit 9 (Axon Instrument). Dans un premier temps, nous avons réalisé une courbe courant-voltage afin de mesurer le seuil de déclenchement de l'onde M, de l'onde H, ainsi que l'intensité nécessaire pour induire la réponse Mmax et Hmax. Lors de ce protocole, nous avons réalisé 50 stimulations à une fréquence de 0,3 HZ, avec une intensité initiale de 0 A et un Δ de 0,05 A.

Dans un second temps, nous avons effectué le protocole de dépression post-activation. Le nerf tibialis a été stimulé 15 fois à des fréquences croissantes (en Hz) : 0,2 ; 1 ; 2 ; 5 et 10 avec l'intensité correspondant à la réponse Hmax. Ce protocole est répété deux fois et une période de repos de 2 minutes est systématiquement respectée entre chaque fréquence de stimulation. Nous avons ensuite rectifié, mesuré et moyenné l'aire sous la courbe de la réponse H à chaque fréquence, que nous avons normalisée par rapport à l'aire obtenue à 0,2 Hz. Cela nous a permis de comparer la dépression post-activation entre les animaux CONT et SMR. Nous avons également mesuré l'aire sous la courbe de la réponse M à chaque fréquence afin de nous assurer de la stabilité de la préparation. L'amplitude et la latence des réponses M et H ainsi que le ratio Hmax/Mmax ont été mesurés à la fréquence de 0,2Hz.

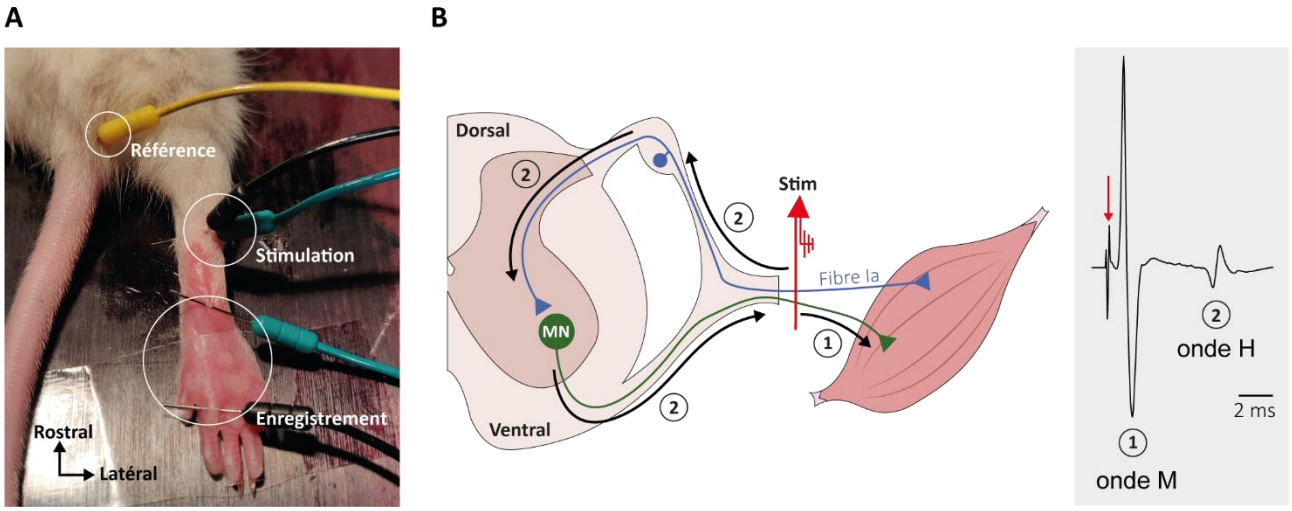


Figure II-9 : Protocole d'enregistrement électromyographique in vivo du réflexe de Hoffman

A : Mise en place de la préparation *in vivo*. Une électrode de référence est placée en sous-cutané au niveau de la base de la queue. Une électrode d'enregistrement (+) est placée dans le muscle Flexor Digitorum Brevis (FDB) et une autre (-) au niveau du quatrième doigt de la patte enregistrée. Deux électrodes de stimulation sont placées à proximité du nerf tibialis. B : A gauche : représentation schématique d'un enregistrement EMG après la stimulation d'un nerf spinal. Cette dernière induit l'excitation des fibres motrices qui génèrent rapidement l'onde M (1) mais également des fibres sensorielles Ia (2). Leur stimulation mime le réflexe d'Hoffmann, ou réflexe myotatique, consistant en la réponse monosynaptique des motoneurones générant alors une deuxième onde de contraction musculaire tardive : l'onde H. A droite : Exemple d'un tracé d'EMG obtenu au niveau du FDB. On peut bien voir la latence de l'onde H par rapport à l'onde M.

IV. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel Prism 8 (Graphpad Software). Les résultats sont présentés sous la forme : SMR *vs* CONT ; m ± sd (n) où m est la moyenne arithmétique ; sd l'écart-type ; et n l'effectif.

Concernant le poids des animaux ; la mesure de l'angle de la cheville ; l'index de sévérité du phénotype de la queue ; les paramètres de la nage ; les paramètre de la marche ; les mouvements spontanés généraux ; le réflexe de retournement ; l'activité spontanée *in vitro* ; les paramètres de la locomotion fictive ; les propriétés électrophysiologiques des motoneurones lombaires et sacrés ; les paramètres de

la réponse monosynaptique *in vitro* et du réflexe de Hoffman *in* vivo, nous avons utilisé le test non paramétrique et non apparié de Mann-Whitney.

Concernant la dépression post-activation du réflexe monosynaptique *in vitro* et du réflexe de Hoffman *in vivo*, nous avons réalisé une ANOVA à deux facteurs, suivie d'un test de Tukey afin de mesurer l'effet de la fréquence et du groupe.

Les valeurs significativement différentes sont représentées dans les figures par des astérisques (* $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$).

PARTIE III : RESULTATS

« Ayez foi dans celui qui fit l'expérience ! »

-

Virgile / L'Énéide

I. Caractérisation du modèle précoce après une immobilisation postnatale courte

Nous avons pu voir dans la première partie de ce manuscrit qu'une immobilisation postnatale entraîne des altérations périphériques, centrales, et des sorties motrices, persistant à l'âge adulte. L'objectif premier de ma thèse a donc été de caractériser les modèles précoces de restriction sensorimotrice chronique. Nous avons voulu déterminer si cette immobilisation a un impact **précoce** et significatif sur le développement général et moteur de nos animaux, ainsi que sur les réseaux spinaux comparativement aux animaux CONT.

I.1. Retard de croissance

L'immobilisation postnatale entraine un retard de croissance important chez les animaux SMR comparativement aux animaux contrôles. Le poids des animaux, répartis dans les deux groupes (CONT et SMR), ne présente pas de différence à P0 *(6,592 ± 0,323 (12) gr vs 6,454 ± 0,301 (12) gr ; p=0,2831 ; test de Mann-Whitney)* (**Figure III-1 A**). Dès P7, les animaux SMR présentent un poids inférieur aux animaux contrôles *(13,38 ± 1,843 gr (22) vs 15,75 ± 1,478 gr (25) ; p<0,0001 ; test de Mann-Whitney)*, persistant jusqu'à P14 *(25,30 ± 3,605 gr (23) vs 30,84 ± 3,359 gr (26) ; p<0,0001 ; test de Mann-Whitney)* (**Figure III-1 A**). De façon concomitante, les animaux SMR présentent une taille de queue plus courte que les animaux contrôles dès P7 *(29,36 ± 1,502 mm (11) vs 34,18 ± 0,7508 mm (11) ; p<0,0001 ; test de Mann-Whitney)* et persistant jusqu'à P14 *(51,64 ± 3,641 mm (11) vs 62,00 ± 4,870 mm (8) ; p=0,0002 ; test de Mann-Whitney)* tandis qu'il n'y a pas de différence à P0 *(18,60 ± 1,075 mm (10) vs 18,08 ± 0,6686 mm (12) ; p=0,2064 ; test de Mann-Whitney)* (**Figure III-1 B**).

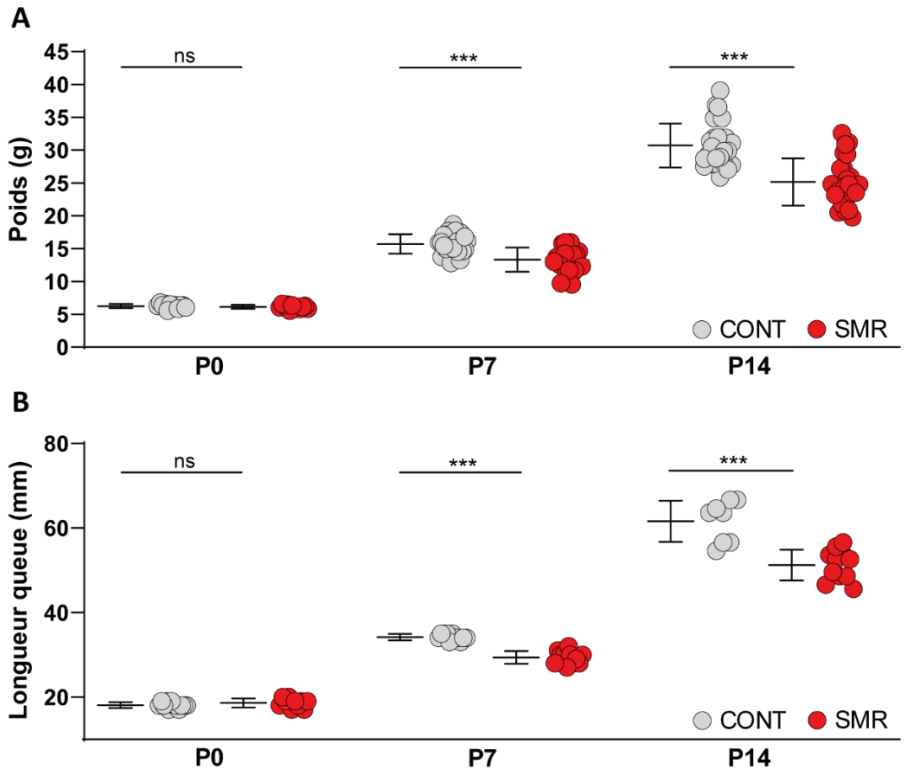


Figure III-1 : L'immobilisation postnatale induit un retard de croissance

A : Comparaison du poids (gr) des animaux CONT et SMR à P0, P7 et P14. Les animaux répartis dans les deux groupes ne présentent pas de différence de poids à P0. Les animaux SMR présentent un poids significativement plus faible que les animaux CONT dès P7. Ce poids inférieur est maintenu jusqu'à P14. B : Comparaison de la taille de la queue (mm) des animaux CONT et SMR à P0, P7 et P14. Les animaux répartis dans les deux groupes ne présentent pas de différence de taille de la queue à P0. Les animaux SMR présentent une queue significativement plus courte que les animaux CONT dès P7. Cette différence de taille est maintenue jusqu'à P14.

I.2. Position des pattes postérieures

À la suite de l'observation d'une hyperextension précoce des pattes postérieures chez les animaux immobilisés, nous avons mesuré et comparé l'angle articulaire de la cheville chez les animaux CONT et SMR. Dans un premier temps, nous avons pu mettre en évidence que l'hyperextension est plus importante juste après avoir enlevé le moule de restriction (H+0), comparé au moment où les animaux sont à nouveau restreints (H+8) chez les animaux immobilisés (Figure III-2 A et B) *(152,4 ± 16,34° (40) vs 145,7 ± 11,21° (44) ; p=0,0148, test de Mann-Whitney)*. Nous avons donc effectué la mesure de l'angle articulaire à H+8 chez les animaux SMR et CONT.

Cette analyse a permis de mettre en évidence que l'immobilisation postnatale entraine bien une hyperextension marquée de l'articulation de la cheville chez les animaux SMR, et ce dès **P1** *(136,0 ± 13,37° (18) vs 102,9 ± 11,40° (22) ; p<0,0001 ; test de Mann-Whitney)*. Cette hyperextension persiste jusqu'à **P7** *(P2 (138,9° ± 13,5° (23) vs 113,2 ± 13,13° (25) ; p<0,0001 ; test de Mann-Whitney) ; P3 (142,9 ± 12,82° (21) vs 118,8 ± 13,18° (25) ; p<0,0001 ; test de Mann-Whitney) ; P4 (142,4 ± 12,88° (20) vs 116,6 ± 12,98° (24) ; p<0,0001 ; test de Mann-Whitney) ; P5 (144,4 ± 12,75° (18) vs 122,2 ± 13,57° (17) ; p<0,0001 ; test de Mann-Whitney) ; P6 (143,9 ± 12,80° (18) vs 125,1 ± 12,24° (22) ; p=0,0001 ; test de Mann-Whitney) ; P7 (143,1 ± 13,24° (12) vs 121,7 ± 10,52° (18) ; p=0,0002 ; test de Mann-Whitney)* et au moins jusqu'à **P14** *(138,9 ± 17,91° (11) vs 104,6 ± 13,29° (14) ; p=0,0002 ; test de Mann-Whitney)* (**Figure III-2 C et D**).

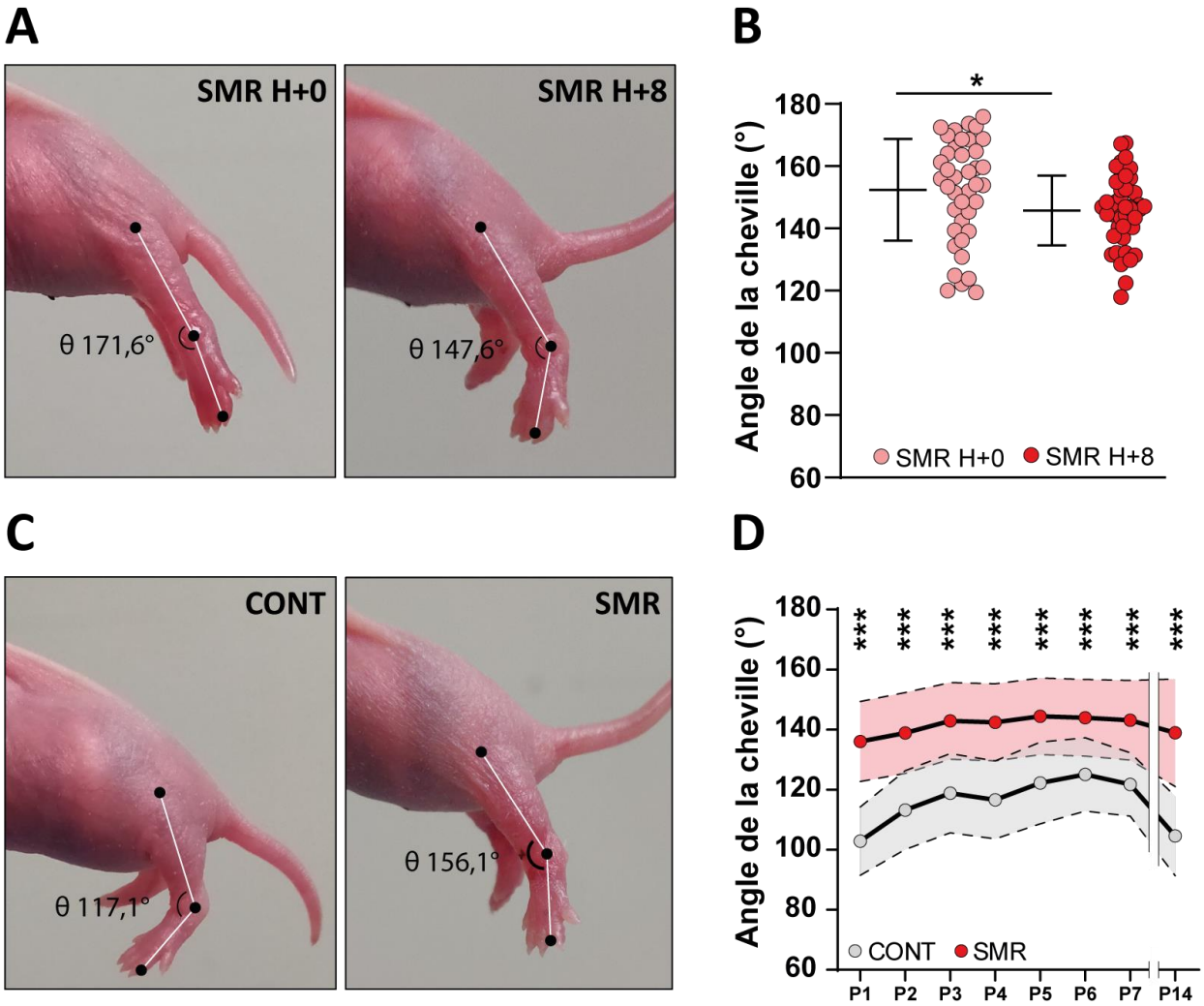


Figure III-2 : L'immobilisation postnatale entraine une hyperextension des pattes postérieures transitoire

A : Photographies de l'articulation de la cheville d'un rat SMR juste après avoir retiré le moule de restriction (H+0) et juste avant de le remettre (H+8) B : Quantification de l'angle articulaire chez les animaux SMR à H+0 et à H+8. L'hyperextension est plus importante juste après avoir enlevé le moule de restriction (H+0), comparé au moment où les animaux sont à nouveau restreints (H+8). L'ensemble des photos et des quantifications de l'angle articulaire est donc fait à H+8 chez les CONT et les SMR. C : Photographies de l'articulation de la cheville d'un rat CONT et d'un rat SMR. D : Quantification de l'angle articulaire chez les animaux CONT et SMR au cours du développement. L'hyperextension chez les animaux SMR apparaît dès P1 et persiste jusqu'à P14.

I.3. Propriétés électrophysiologiques des motoneurones lombaires

Une différence de l'excitabilité des motoneurones extenseurs de la moelle épinière pourrait expliquer ce phénotype d'hyperextension des pattes postérieures chez nos animaux SMR. Nous avons donc étudié les propriétés des motoneurones au niveau du 5ème segment lombaire en *patch-clamp*.

Dans un premier temps, nous avons étudié et comparé les propriétés électrophysiologiques de ces motoneurones. La résistance membranaire *(22,13 ± 12,29 MΩ (34) vs 22,54 ± 17,62 MΩ (26) ; p=0,6757 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-3 A)**, la rhéobase *(1153 ± 583,1 pA (34) vs 1437 ± 833,0 pA (26) ; p=0,2451 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-3 B)**, le potentiel de repos *(-66,09 ± 5,490 mV (23) vs -68,84 ± 5,288 mV (22) ; p=0,1112 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-3 C)** ainsi que le seuil de déclenchement du potentiel d'action (PA) *(-48,92 ± 4,903 mV (31) vs -48,39 ± 6,317 mV (26) ; p=0,9462 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-3 D)** ne présentent pas de différence significative chez les SMR comparativement aux CONT.

Nous avons également étudié la proportion de sous population de motoneurones ayant un profile de décharge immédiat et retardé chez les animaux CONT et SMR ainsi que les propriétés passives de ces sous-populations. La proportion de motoneurones présentant le profil immédiat *(34,5 % (10) vs 45,8 % (11) ; p=0,5732 ; test de Fisher)* ou retardé *(65,5 % (19) vs 54,2 % (13) ; p=0,5732 ; test de Fisher)* ne présente pas de différence entre les deux groupes d'animaux **(Figure III-4 A)**. Dans la sous-population présentant le profil immédiat, aucune différence significative n'a été mise en évidence concernant le potentiel de repos *(-68,19± 2,438 mV (10) vs -68,34 ± 3,229 mV (11) ; p=0,7172 ; test de Mann-Whitney)* ou encore la rhéobase *(1089 ± 549,9 pA (10) vs 1443 ± 802,0 pA (11) ; p=0,2438 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-4 B)**. Cependant, la résistance membranaire est significativement plus importante chez les animaux SMR comparativement aux animaux CONT *(28,00 ± 12,04 MΩ (10) vs 16,18 ± 6,660 MΩ (11) ; p=0,0213 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-4 B)**. Concernant la sous-population présentant le profil retardé, les deux groupes d'animaux ne présentent pas de différence significative concernant le potentiel de repos *(-64,55 ± 5,745 mV (19) vs -68,67 ± 3,923 mV (13) ; p=0,0504 ; test de Mann-*

Whitney), la résistance membranaire *(18,60 ± 10,37 MΩ (19) vs 19,88 ± 12,59 MΩ (13) ; p=0,8757 ; test de Mann-Whitney)* ou la rhéobase *(1306 ± 578,5 pA (19) vs 1427 ± 873,7 pA (13) ; p=0,8132 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-4 C)**.

Nous avons également quantifié le courant minimal à injecter dans les motoneurones lombaires pour induire un plateau. On peut voir que ce courant ne présente pas de différence significative entre les animaux SMR et CONT *(930,5 ± 557,4 pA (21) vs 1151 ± 649,2 pA (20) ; p=0,3064 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-5 A)**. Les propriétés du potentiel d'action des motoneurones lombaires ne présentent pas non plus de différence entre les deux groupes d'animaux. En effet, l'amplitude du potentiel d'action *(59,21 ± 7,397 mV (32) vs 58,70 ± 8,566 mV (26) ; p=0,7771 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-5 B)**, sa durée *(0,5613 ± 0,1155 ms (31) vs 0,6046 ± 0,2063 (26) ; p=0,7899 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-5 C)**, sa pente ascendante maximale *(254,3 ± 61,09 mV.ms^{-1} (32) vs 245,3 ± 61,58 mV.ms^{-1} (26) ; p=0,5782 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-5 D)** et sa pente descendante maximale *(-112,1 ± 21,70 mV.ms^{-1} (32) vs -103,8 ± 23,54 mV.ms^{-1} (26) ; p=0,2883 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-5 E)** ne présentent pas de différence significative chez les SMR comparativement aux CONT.

L'excitabilité des motoneurones lombaires ne présentent donc pas de différence entre les deux groupes d'animaux **(Figure III-3, III-4 et III-5)**.

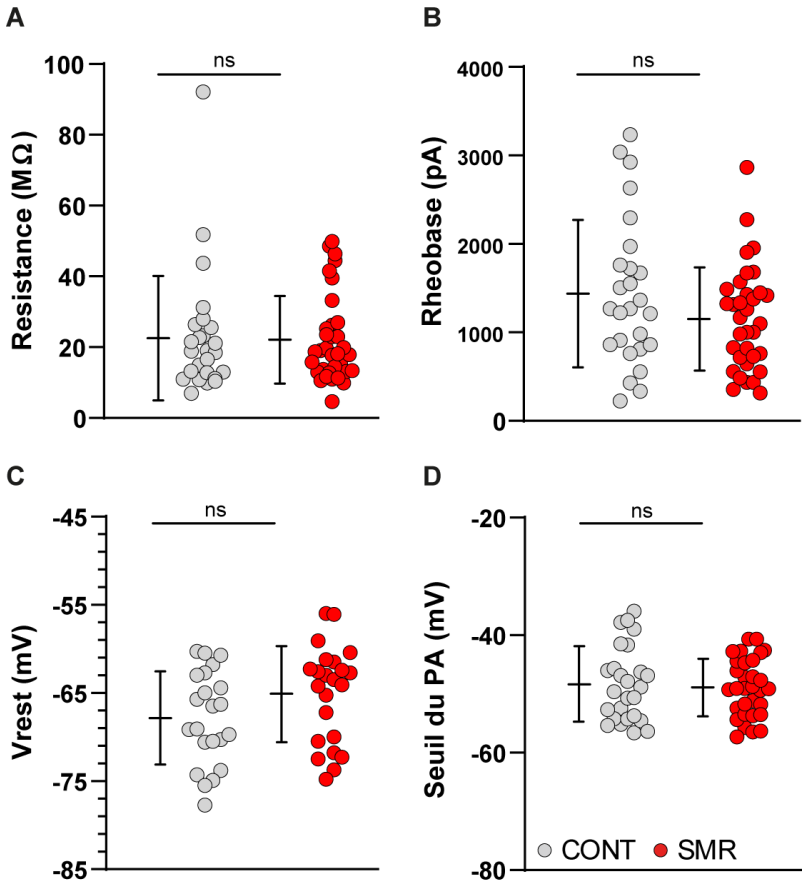


Figure III-3 : L'immobilisation postnatale n'affecte pas l'excitabilité des motoneurones lombaires

A : Résistance membranaire (MΩ) des motoneurones lombaires CONT et SMR. B : Rhéobase (pA) des motoneurones lombaires CONT et SMR. C : Potentiel de repos (mV) des motoneurones lombaires CONT et SMR. D : Seuil de déclenchement du potentiel d'action (mV) des motoneurones lombaires CONT et SMR. On peut voir que la restriction sensorimotrice précoce effectuée jusqu'à P7 n'entraine pas de modification de l'excitabilité des motoneurones lombaires.

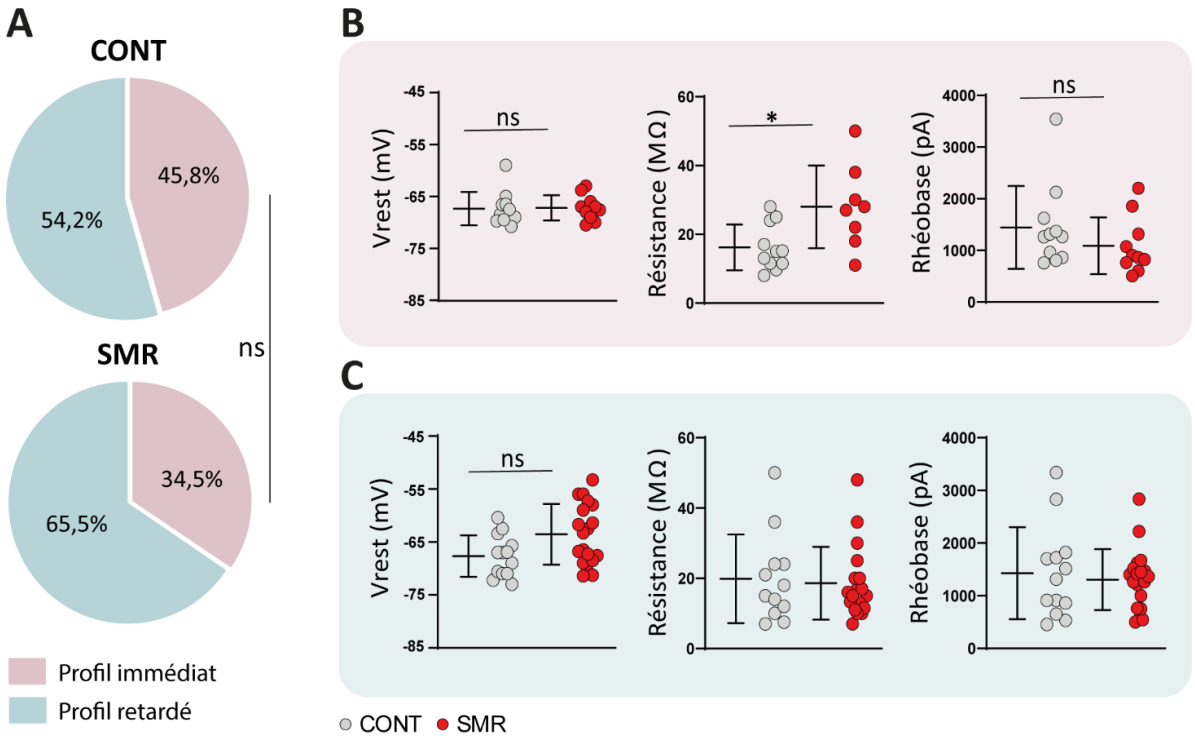


Figure III-4 : Proportion et propriétés passives des MNs au profil de décharge immédiat et retardé

A : Représentation de la proportion de motoneurones enregistrés présentant le profil de décharge immédiat ou retardé chez les CONT et les SMR. B : Propriétés passives des motoneurones présentant le profil de décharge immédiat. C : Propriétés passives des motoneurones présentant le profil de décharge retardé.

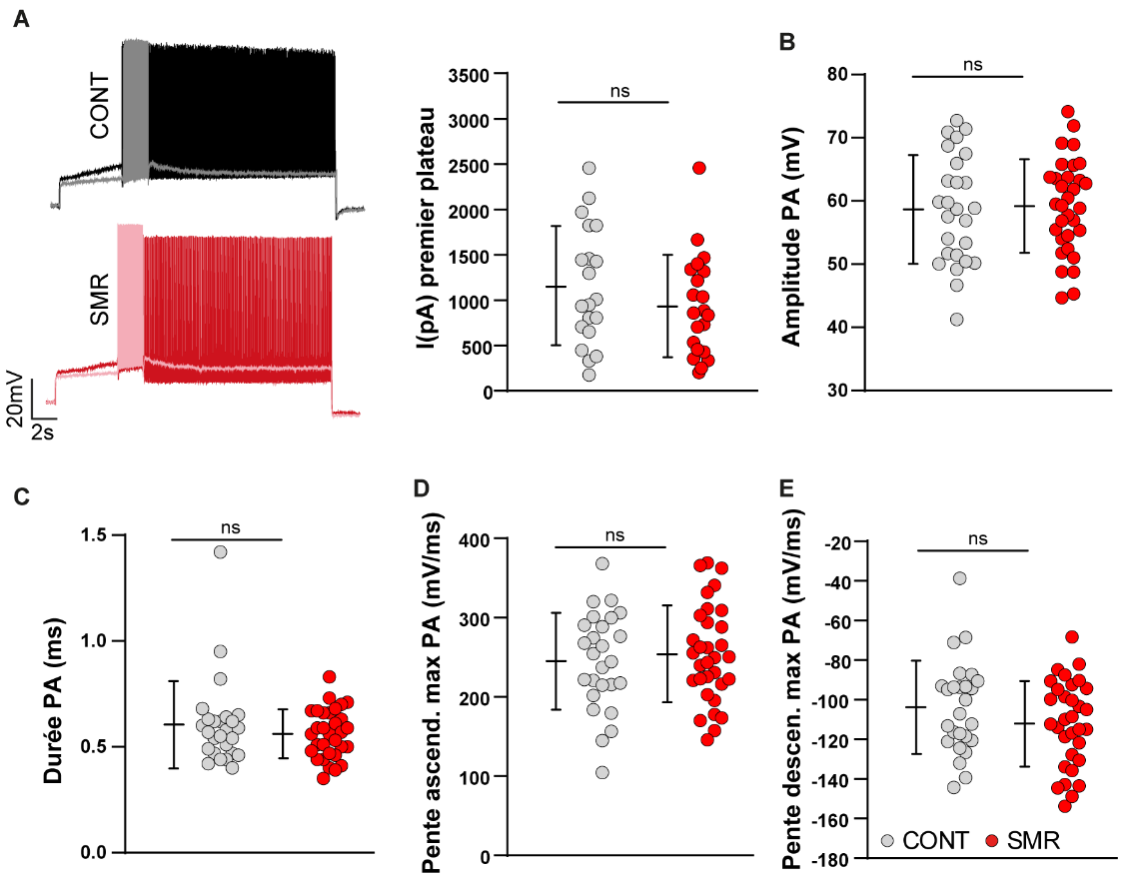


Figure III-5 : L'immobilisation postnatale n'affecte pas les propriétés des motoneurones lombaires

A : (A gauche) Enregistrements du plateau d'un motoneurone lombaire CONT et SMR. En clair : le tracé pré-plateau ; en foncé : le tracé d'apparition du plateau. (A droite) Quantification du courant minimal à injecter pour induire le potentiel de plateau dans les motoneurones lombaires CONT et SMR. B : Quantification de l'amplitude du potentiel d'action. C : Quantification de la durée du potentiel d'action. D : Quantification de la pente ascendante maximale du potentiel d'action. E : Quantification de la pente descendante maximale du potentiel d'action.

I.4. Dépression du réflexe monosynaptique lombaire in vitro

Nous nous sommes également intéressés au réflexe monosynaptique *in vitro* à P5-P6 afin de voir si l'hyperréflexie lombaire observée chez le modèle tardif est déjà présente précocement. Une altération de ce réflexe pourrait également expliquer le phénotype d'hyperextension de la cheville, observé chez les animaux SMR. On peut voir sur des exemples de tracés que la dépression post-activation de la réponse monosynaptique semble similaire entre les deux groupes d'animaux (Figure III-6 A). Nous avons dans un premier temps quantifié le seuil de cette réponse dans les deux groupes d'animaux. Les

animaux SMR et CONT présentent un seuil similaire *(32,50 ± 10,35 µA (8) vs 30,83 ± 4,916 (6) ; p=0,8498 ; test de Mann-Whitney)* (**Figure III-6 B**). La quantification de la réponse monosynaptique démontre que les animaux SMR présentent un niveau de dépression post-activation similaire à celui des animaux CONT à **0,1 Hz** *(91,834 ± 6,996 % (11) vs 102,921 ± 7,264 % (12) ; p=0,0986 ; two-way ANOVA)*, à **0,5 Hz** *(52,935 ± 13,523 % (11) vs 53,029 ± 14,702 % (12) ; p>0,9999 ; two-way ANOVA)*, à **1,0 Hz** *(35,741 ± 16,673 % (11) vs 33,017 ± 10,230 % (12) ; p=0,9960 ; two-way ANOVA)*, à **2,0 Hz** *(24,302 ± 15,001 % (11) vs 24,106 ± 7,061 % (12) ; p>0,9999 ; two-way ANOVA)*, à **5,0 Hz** *(21,756 ± 16,288 % (11) vs 23,176 ± 4,199 % (12) ; p>0,9999 ; two-way ANOVA)* et à **10 Hz** *(21,418 ± 14,257 % (11) vs 24,652 ± 3,560 % (12) ; p=0,9887 ; two-way ANOVA)* (**Figure III-6 C**). Les animaux immobilisés ne présentent pas d'hyperexcitabilité du réflexe monosynaptique à ce stade développemental.

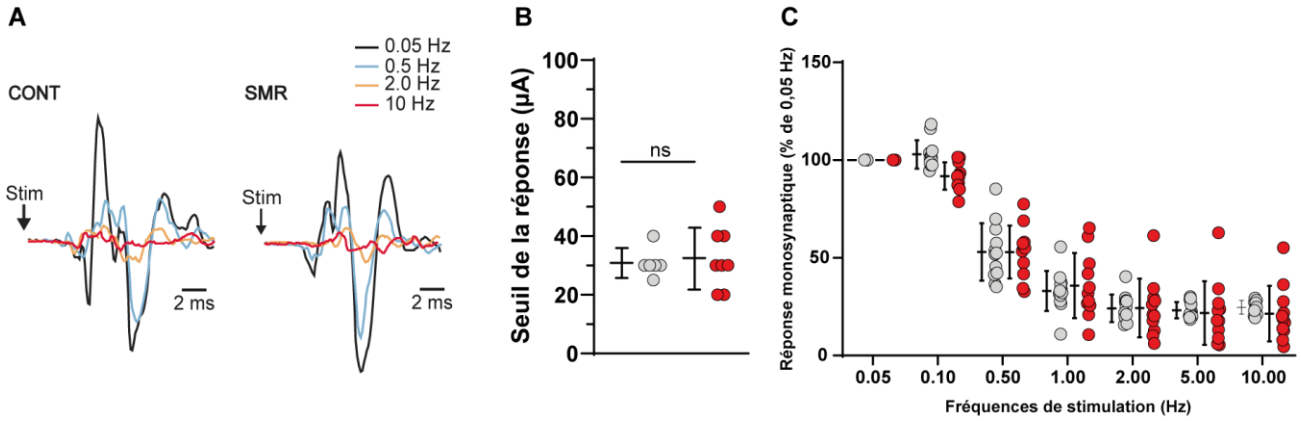


Figure III-6 : L'immobilisation postnatale n'entraine pas d'hyperréflexie lombaire *in vitro* à P5-6

A : Exemple d'enregistrements de la réponse monosynaptique enregistrée au niveau de la racine ventrale à la suite de la stimulation de la racine dorsale. Par souci de clarté, les réponses aux différentes fréquences de stimulation ne sont pas toutes représentées. **B :** Quantification du seuil de déclenchement de la réponse monosynaptique chez les animaux CONT et SMR. **C :** Quantification de la dépression de la réponse monosynaptique, normalisée par rapport à la réponse à la fréquence de 0,05Hz, des animaux CONT et SMR à P5-6. On peut voir que l'augmentation de la fréquence de stimulation entraine une dépression similaire de la réponse monosynaptique dans les deux groupes d'animaux.

I.5. Position de la queue

Nous avons également observé un phénotype atypique en tire-bouchon au niveau de la queue chez les animaux SMR. Nous avons quantifié un index de sévérité afin d'étudier l'apparition et la persistance de ce phénotype au cours du développement.

De la même manière que pour l'hyperextension des pattes postérieures, le phénotype de la queue est plus important juste après avoir enlevé le moule de restriction (H+0), comparé au moment où les animaux sont à nouveau restreints (H+8) (**Figure III-7 A et B**) *(0,7782 ± 0,1091 (19) vs 0,8444 ± 0,1112 (40) ; p=0,0139, test de Mann-Whitney)*. Nous avons donc effectué la mesure de l'index à H+8 chez les animaux SMR et CONT. Ce phénotype atypique n'est pas présent à **P1** *(0,9323 ± 0,05832 (18) vs 0,9382 ± 0,05919 (17) ; p=0,6509 ; test de Mann-Whitney)* et **P2** *(0,8959 ± 0,07131 (18) vs 0,9327 ± 0,05407 (17) ; p=0,0904 ; test de Mann-Whitney)*. Il apparaît à **P3** *(0,8659 ± 0,08627 (18) vs 0,9232 ± 0,04495 (19) ; p=0,0500 ; test de Mann-Whitney)* et persiste jusqu'à **P7** *(P4 (0,8766 ± 0,08160 (17) vs 0,9318 ± 0,05975 (16) ; p=0,0259 ; test de Mann-Whitney) ; P5 (0,8536 ± 0,1141 (16) vs 0,9692 ± 0,04037 (11) ; p=0,0011 ; test de Mann-Whitney) ; P6 (0,8489 ± 0,1059 (11) vs 0,9795 ± 0,02183 (20) ; p<0,0001 ; test de Mann-Whitney) ; P7 (0,8284 ± 0,1177 (8) vs 0,9673 ± 0,02104 (13) ; p<0,0001 ; test de Mann-Whitney)*. Cependant, ce phénotype ne se maintient pas jusqu'à **P14** *(0,9883 ± 0,02364 (11) vs 0,9783 ± 0,03111 (12) ; p=0,3433 ; test de Mann-Whitney)* (**Figure III-7 C et D**).

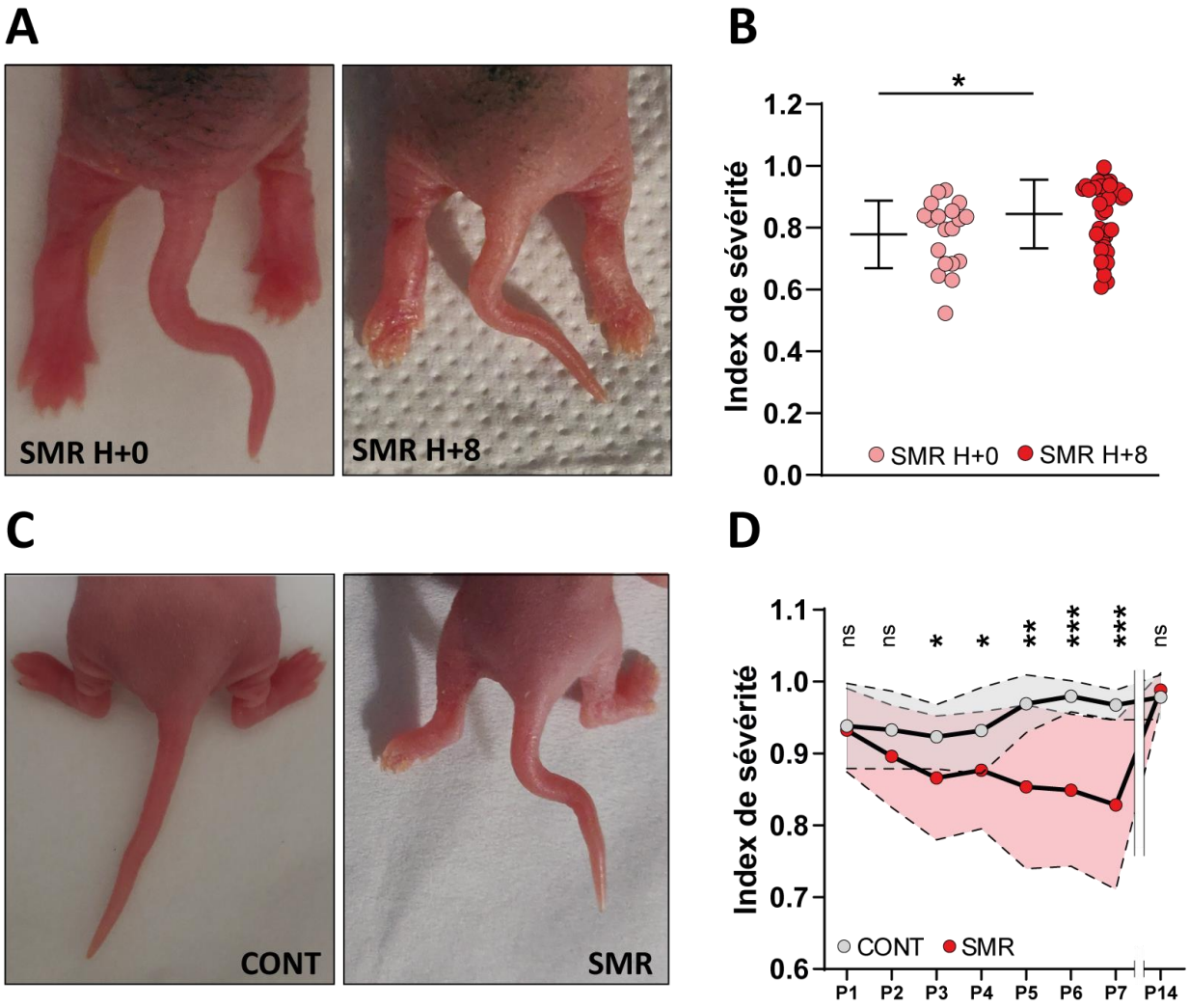


Figure III-7 : L'immobilisation postnatale entraine un phénotype atypique de la queue

A : Photographies de la queue d'un rat SMR juste après avoir retiré le moule de restriction (H+0) et juste avant de le remettre (H+8) B : Quantification de l'index de sévérité du phénotype chez les SMR à H+0 et à H+8. Le phénotype est plus marqué juste après avoir enlevé le moule de restriction (H+0), comparé au moment où les animaux sont à nouveau restreints (H+8). L'ensemble des photos et des quantifications de l'angle articulaire est donc fait à H+8 chez les CONT et les SMR. C : Photographies de la queue d'un rat CONT et d'un rat SMR. D : Quantification de l'index de sévérité chez les animaux CONT et SMR au cours du développement. Le phénotype apparaît à P3 et persiste jusqu'à P7 mais ne se maintient pas jusqu'à la deuxième semaine postnatale.

I.6. Propriétés électrophysiologiques des motoneurones sacrés

Le phénotype observé au niveau de la queue des animaux SMR à partir de P3 et jusqu'à P7 pourrait s'expliquer par une hyperexcitabilité transitoire des motoneurones sacrés de P3 à P7. Nous avons donc

également étudié les propriétés électrophysiologiques des motoneurones des 1er et 2ème segments sacrés entre P5 et P7.

Nous avons dans un premier temps étudié et comparé les propriétés électrophysiologiques de ces motoneurones. Les animaux SMR présentent une résistance membranaire significativement plus importante que les animaux CONT allant dans le sens d'une hyperexcitabilité *(36,87 ± 9,860 MΩ° (9) vs 20,31 ± 8,481 MΩ (6) ; p=0,0076 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-8 A)**. En revanche, on peut voir que la rhéobase ne présente pas de différence entre les deux groupes d'animaux *(911,9 ± 268,6 pA (9) vs 1079 ± 394,8 pA (6) ; p=0,4559 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-8 B)**. Le potentiel de repos *(-59,87 ± 7,872 mV (9) vs -53,10 ± 7,084 mV (6) ; p=0,0925 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-8 C)** ainsi que le seuil de déclenchement du PA *(-38,43 ± 9,441mV (9) vs -41,96 ± 5,330 mV (6) ; p=0,6889 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-8 D)** ne présentent pas de différence significative chez les SMR comparativement aux CONT.

Nous avons également comparé les propriétés du potentiel d'action des motoneurones sacrés et aucune différence significative n'a été mise en évidence l'amplitude du PA *(65,43 ± 7,705 mV (9) vs 58,69 ± 11,99 mV (6) ; p=0,5287 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-9 A)**, sa durée *(08744 ± 0,2234 ms (9) vs 0,7491 ± 0,1275 (6) ; p=0,2859 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-9 B)**, sa pente ascendante maximale *(217,3 ± 58,89 mV.ms^{-1} (9) vs 189,0 ± 63,88 mV.ms^{-1} (6) ; p=0,4559 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-9 C)** et sa pente descendante maximale *(-72,70 ± 22,76 mV.ms^{-1} (9) vs -80,62 ± 18,76 mV.ms^{-1} (6) ; p=0,3884 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-9 D)** entre les deux groupes d'animaux.

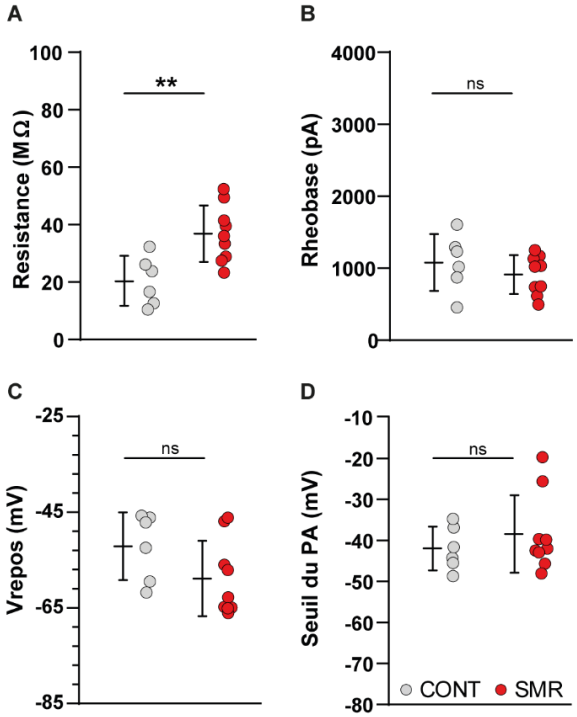


Figure III-9 : L'immobilisation postnatale n'altère pas l'excitabilité des motoneurones sacrés

A : Résistance membranaire (MΩ) des motoneurones lombaires CONT et SMR. B : Rhéobase (pA) des motoneurones lombaires CONT et SMR. Les animaux SMR présentent une résistance significativement plus importante que celle des animaux CONT. C : Potentiel de repos (mV) des motoneurones lombaires CONT et SMR. D : Seuil de déclenchement du potentiel d'action (mV) des motoneurones lombaires CONT et SMR. On peut voir que la restriction sensorimotrice précoce effectuée jusqu'à P7 n'entraine pas de modification de l'excitabilité des motoneurones lombaires.

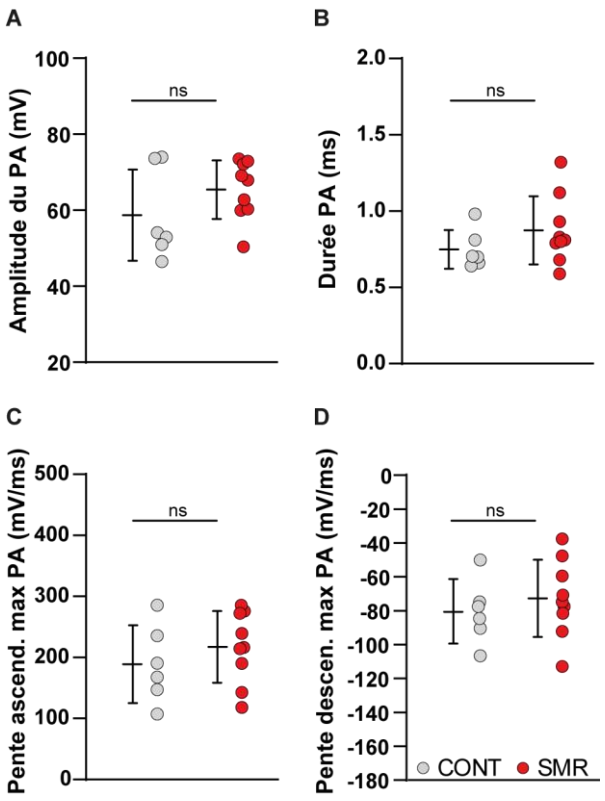


Figure III-8 : L'immobilisation postnatale n'affecte pas les propriétés des motoneurones sacrés

A : Quantification de l'amplitude du potentiel d'action. B : Quantification de la durée du potentiel d'action. C : Quantification de la pente ascendante maximale du potentiel d'action. D : Quantification de la pente descendante maximale du potentiel d'action.

	Segments lombaires L4-L5		Segments sacrés S1-S2	
	CONT	SMR	CONT	SMR
Taille du soma (largeur x longueur) (µm²)	954,9 ± 251,9 (25)	923,7 ± 237,7 (31) ns	722 ± 112,7 (6)	638 ± 90,88 (8) ns
Résistance d'entrée (MΩ)	22,54 ± 17,62 (26)	22,13 ± 12,29 (34) ns	20,31 ± 8,481 (6)	36,87 (9) **
Rhéobase (pA)	1437 ± 833 (26)	1153 ± 583,1 (34) ns	1079 ± 394,8 (6)	911,9 (9) ns
Potentiel de repos (mV)	-68,84 ± 5,288 (22)	-66,09 ± 5,490 (23) ns	-53,10 ± 7,084 (6)	-59,87 ± 7,872 (9) ns
Seuil du potentiel d'action (mV)	-48,39 ± 6,317 (26)	-48,92 ± 4,903 (31) ns	-41,96 ± 5,33 (6)	-38,43 ± 9,441 (9) ns
Courant premier plateau (pA)	1151 ± 649,2 (20)	930,5 ± 557,4 (21) ns	/	/
Amplitude du potential d'action (mV)	58,70 ± 8,566 (26)	59,21 ± 7,397 (32) ns	58,69 ± 11,99 (6)	65,43 ± 7,705 (9) ns
Durée du potentiel d'action (ms)	0,6046 ± 0,2063 (26)	0,5613 ± 0,1155 (31) ns	0,7491 ± 0,1275 (6)	0,8744 ± 0,2234 (9) ns
Pente ascendante max PA (mV/ms)	245,3 ± 61,58 (26)	254,3 ± 61,09 (32) ns	189 ± 63,88 (6)	217,3 ± 58,89 (9) ns
Pente descendante max PA (mV/ms)	-103,8 ± 23,54 (26)	-112,1 ± 21,70 (32) ns	-80,62 ± 18,76 (6)	-72,70 ± 22,76 (9) ns

Table III-1 : Récapitulatif des propriétés des motoneurones lombaires et sacrés

Dans chaque case : moyenne ± écart-type (nombre de cellules) et résultat statistique SMR vs CONT.

I.7. Réflexe de retournement

Au vu du retard de croissance marqué chez nos animaux SMR, nous avons étudié l'impact de l'immobilisation sur la maturation du réflexe de retournement et donc de la maturation posturale. Nous n'observons pas de différence du réflexe de retournement chez les animaux SMR comparativement aux animaux CONT à **P4** *(9,385 ± 6,758s (14) vs 7,693 ± 7,178s (12) ; p=0,2740 ; test de Mann-Whitney).* Une différence apparaît dès P5, les animaux SMR mettent significativement plus de temps pour se retourner à **P5** *(6,216 ± 4,223s (22) vs 5,051 ± 6,184s (16) ; p=0,0418 ; test de Mann-Whitney)* et **P6** *(5,374 ± 5,965s (21) vs 2,383 ± 1,360s (27) ; p=0,0440 ; test de Mann-Whitney)* (**Figure III-10**). Cependant, cette différence de réflexe de retournement n'est plus présente à **P7** *(2,987 ± 2,843s (20) vs 2,390 ± 1,865s (21) ; p=0,9641 ; test de Mann-Whitney)*. Bien que l'immobilisation entraine un retard de la maturation de ce reflexe, elle ne semble pas induire de déficit au niveau de la coordination posturale nécessaire au retournement des animaux à la fin de la première semaine postnatale.

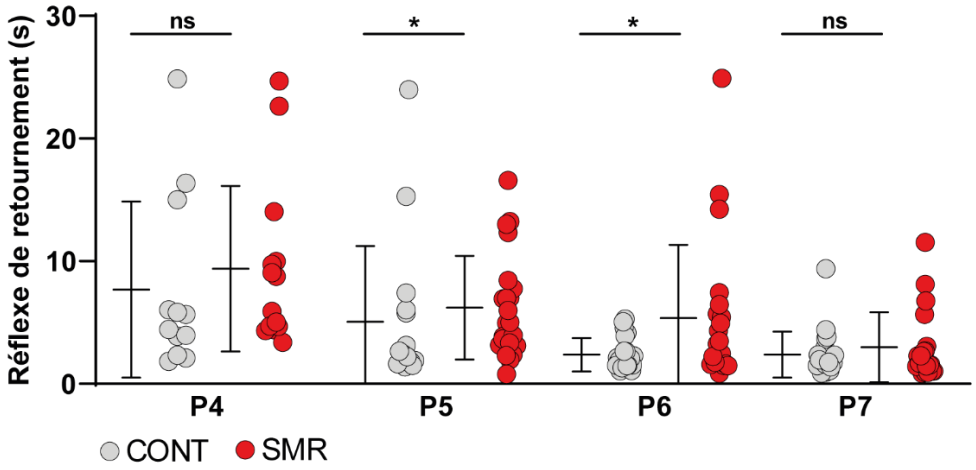


Figure III-10 : L'immobilisation postnatal induit un retard de maturation du réflexe de retournement

Quantification du temps nécessaire au retournement des animaux CONT et SMR de P4 à P7. Ce temps n'est significativement pas différent entre les deux groupes à P4. Les animaux SMR mettent plus de temps à se retourner à P5 et P6. Cette différence disparaît à P7 signifiant donc que la maturation du réflexe à la fin de la première semaine postnatale est similaire entre les CONT et les SMR.

I.8. Mouvements spontanés

Etant donné l'implication des retours sensorimoteurs dans les mouvements spontanés et du rôle crucial de ces derniers dans le développement et la maturation des réseaux locomoteur, nous les avons quantifiés chez les animaux CONT et SMR. Les animaux SMR présentent un nombre plus important de mouvements spontanés de type *twitch* par minute au niveau des pattes postérieures et de la queue *(16,73 ± 3,245 (12) vs 12,13 ± 3,907 (14) ; p=0,0021 ; test de Mann-Whitney)* (**Figure III-11 A**). Cette augmentation du nombre de mouvements spontanés courts et présente au niveau de la queue seule *(9,021 ± 2,175 (12) vs 7,054 ± 2,346 (14) ; p=0,0388 ; test de Mann-Whitney)*, et des pattes postérieures seules *(7,708 ± 1,644 (12) vs 5,071 ± 1,662 (14) ; p=0,0007 ; test de Mann-Whitney)* (**Figure III-11 A**). En revanche, les animaux SMR ne présentent pas de différence au niveau du nombre de mouvements spontanés complexes au niveau de la queue et des pattes postérieures *(2,938 ± 1,589 (12) vs 2,446 ± 1,840 (14) ; p=0,4091 ; test de Mann-Whitney)* (**Figure III-10 B**). Même pris individuellement, la queue *(1,625 ± 1,194 (12) vs 1,536 ± 1,139 (14), p=0,8490 ; test de Mann-Whitney)* ou les pattes postérieures *(1,313 ± 0,8127 (12) vs 0,9107 ± 0,7634 (14) ; p=0,2222 ; test de Mann-Whitney)* ne présentent pas d'augmentation du nombre de mouvements spontanés complexes par minutes chez les SMR (**Figure III-10 B**). Ce résultat suggère que l'activité spontanée des réseaux est augmentée chez les animaux SMR.

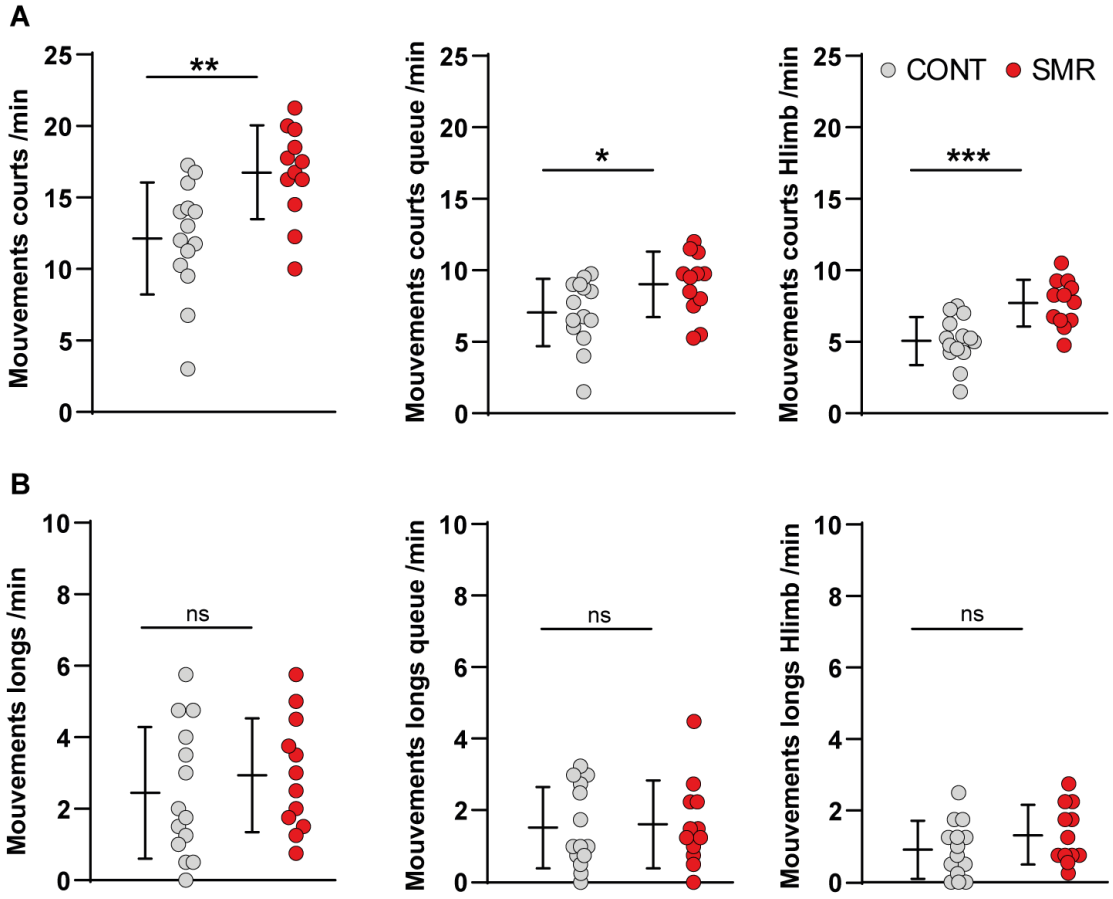


Figure III-11 : L'immobilisation postnatale provoque une altération des mouvements spontanés

A : Quantification des mouvements spontanés courts de la queue et des pattes postérieures (gauche) ; de la queue seule (centre) ; et des pattes postérieures seules (droite), par minute chez les CONT et les SMR. B : Quantification des mouvements spontanés longs de la queue et des pattes postérieures (gauche) ; de la queue seule (centre) ; et des pattes postérieures seules (droite), par minute chez les CONT et les SMR.

I.9. Activité spontanée in vitro

Etant donné les résultats obtenus au niveau des mouvements spontanés, nous avons voulu comparer l'activité spontanée *in vitro* entre les deux groupes d'animaux. Les animaux SMR et CONT présentent un niveau d'activité spontanée très faible à P2 (Figure III-12). La quantification de cette activité indique une absence de différence significative entre les SMR et les CONT au niveau du deuxième *(0,002125 ± 0,0001687 V.ms^{-1} (10) vs 0,002059 ± 0,0003858 V.ms^{-1} (10) ; p>0,9999 ; test de Mann-Whitney)* et du

cinquième *(0,002200 ± 0,0005536 V.ms^{-1} (11) vs 0,001979 ± 0,0002544 V.ms^{-1} (11) ; p=0,6401 ; test de Mann-Whitney)* segment lombaire à P2 **(Figure III-12)**.

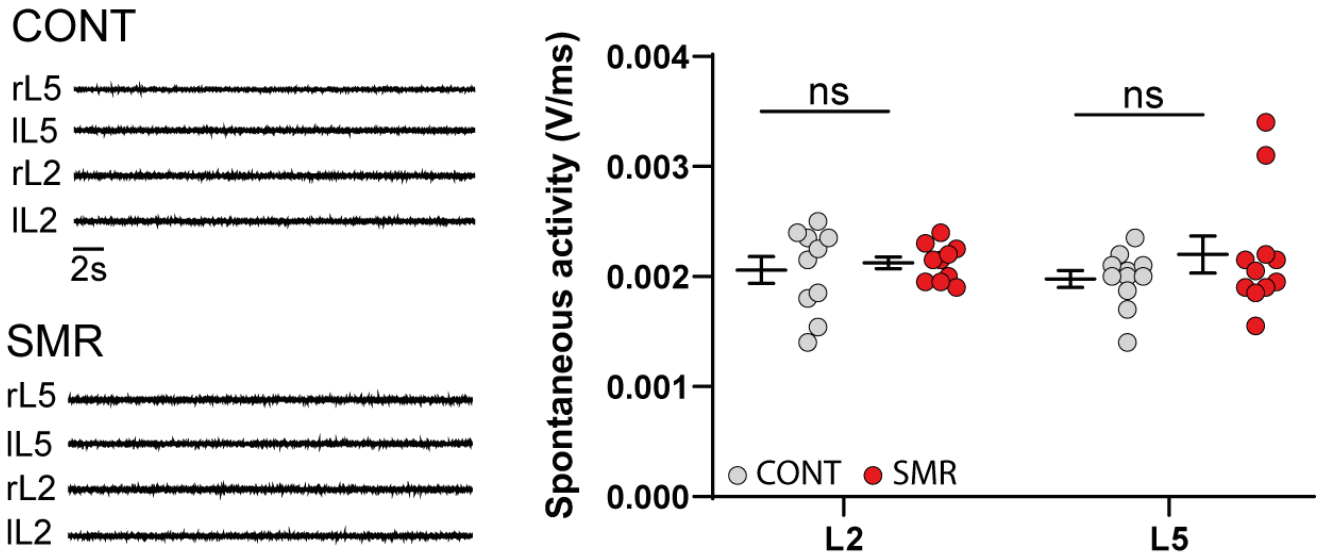


Figure III-12 : L'immobilisation postnatale n'a pas d'impact sur l'activité spontanée in vitro sur moelle épinière entière

(A gauche) Exemples de tracés d'enregistrement de l'activité spontanée des racines ventrales droites et gauches des deuxièmes et cinquièmes segment lombaires chez le CONT et le SMR. **(A droite)** Quantification de l'activité spontanée au niveau du segment 2 et du segment 5 chez les deux groupes d'animaux. Chaque segment comprend la moyenne de l'activité spontanée des racines ventrales droite et gauche.

I.10. Etude de la nage

Nous nous sommes également intéressés au comportement locomoteur des animaux CONT et SMR. Dans un premier temps, nous avons étudié les paramètres de la nage à P12. On peut voir sur les Heatmap que les animaux SMR explorent moins la bassine de nage que les animaux CONT (**Figure III-13 A**). La quantification de la distance parcourue confirme cette observation. Les animaux SMR parcourent une distance significativement plus courte que les animaux CONT *(167,5 ± 51,38 cm (12) vs 240,5 ± 58,04 cm (14) ; p=0,0047 ; test de Mann-Whitney)* (**Figure III-13 B**). La vitesse de nage des animaux SMR est également significativement plus faible que celle des animaux CONT *(6,753 ± 1,930 cm.s^{-1} (12) vs*

9,716 ± 2,198 cm.s^{-1} (14) ; p=0,0021 ; test de Mann-Whitney) (Figure III-13 C). Malgré ces différences de distance parcourue et de vitesse de nage, les animaux SMR ne présentent pas de différence significative de leur mobilité comparativement aux animaux CONT. En effet, la proportion de temps mobile *(83,98 ± 11,19 % (12) vs 89,0 ± 5,22 % (14) ; p=0,1090 ; test de Mann-Whitney effectué sur les données brutes)*, et immobile *(16,02 ± 11,19 % (12) vs 11,0 ± 5,22 % (14) ; p=0,1411 ; test de Mann-Whitney effectué sur les données brutes)*, sur le temps total de nage, est similaire entre les deux groupes, suggérant que les animaux SMR sont autant actifs que les animaux CONT lors de la nage.

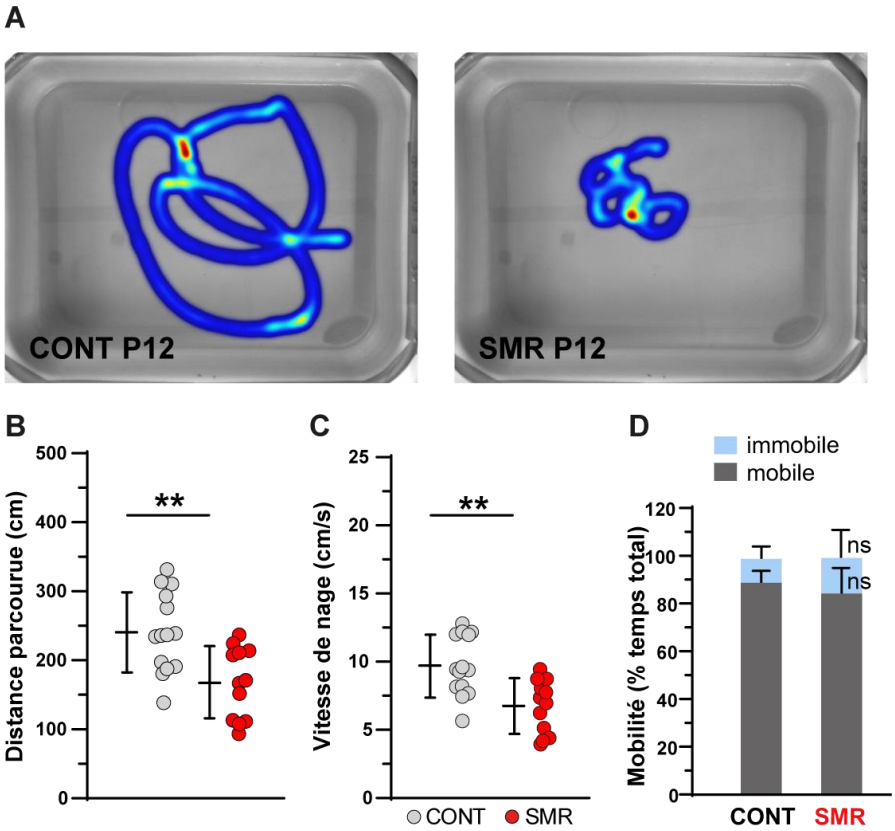


Figure III-13 : L'immobilisation postnatale entraine des altérations de la nage

A : Heatmap d'une session de nage de 30s d'un rat CONT et d'un rat SMR à P12. On peut voir que l'animal SMR explore beaucoup moins la bassine. B : Quantification de la distance moyenne parcourue par les deux groupes d'animaux. Les animaux SMR parcourent une distance significativement plus courte. C : Quantification de la vitesse de nage. Les animaux SMR présentent une vitesse de nage inférieure aux animaux CONT. D : Mobilité des animaux, normalisée par rapport au temps total de l'enregistrement de nage. On peut voir que les animaux SMR ont une mobilité similaire aux animaux CONT.

I.11. Etude de la marche

En plus de l'étude de la nage, nous nous sommes aussi intéressés aux paramètres de la marche des animaux CONT et SMR à P14. Concernant les paramètres généraux de la marche, on peut voir que les animaux ayant subi une restriction sensorimotrice durant les deux premières semaines postnatales présentent une vitesse de marche plus faible que les animaux CONT *(6,789 ± 2,287 cm.s^{-1} (11) vs 10,43 ± 2,078 cm.s^{-1} (10) ; p=0,0011 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-14 A)**. Le patron de la marche est également altéré, avec une diminution du patron alterné *(56,29 ± 29,47 % des CONT (11) vs 79,64 ± 11,07 % des CONT (10) ; p=0,0396 ; test de Mann-Whitney)* au profit d'une augmentation du patron croisé *(19,77 ± 22,68 % des CONT (11) vs 9,832 ± 9,233 % des CONT (10) ; p=0,5457 ; test de Mann-Whitney)* et circulaire *(23,94 ± 25,84 % des CONT (11) vs 10,53 ± 14,35 % des CONT (10) ; p=0,2826 ; test de Mann-Whitney)* chez les SMR **(Figure III-14 B)**.

Nous nous sommes également intéressés aux paramètres de marche des pattes avant des animaux CONT et SMR. On peut voir que l'aire de l'empreinte des pattes avant, enregistrée lors de la marche, ne présente pas de différence significative entre les deux groupes d'animaux *(0,3082 ± 0,1073 cm² (11) vs 0,3080 ± 0,06697 cm² (10) ; p=0,9853 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-15 A)**. En revanche, la longueur du pas avant plus faible *(3,775 ± 0,9498 cm (11) vs 4,920 ± 0,5095 cm (10) ; p=0,0058 ; test de Mann-Whitney)* et la base de support avant est plus importante *(2,044 ± 0,2786 cm (11) vs 1,492 ± 0,2845 cm (10) ; p=0,0002 ; test de Mann-Whitney)* chez les animaux SMR comparativement aux animaux CONT **(Figure III-15 B et C)**. Le cycle du pas avant est également modifié chez les animaux SMR qui présentent une phase de transfert significativement plus courte *(24,47± 4,696 % des CONT (11) vs 29,21 ± 2,988 % des CONT (10) ; p=0,0390 ; test de Mann-Whitney effectué sur les données brutes)* au profit d'une phase d'appui plus longue *(77,34 ± 13,18 % des CONT (11) vs 70,79 ± 2,988 % des CONT (10) ; p=0,4679 ; test de Mann-Whitney effectué sur les données brutes)* par rapport aux animaux CONT **(Figure III-15 D)**.

Concernant les paramètres de marche des pattes arrière, l'aire de l'empreinte de ces dernières est significativement plus faible chez les animaux SMR *(0,1255 ± 0,09180 cm² (11) vs 0,2210 ± 0,04606 cm² (10) ; p=0,0051 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-16 A)**. La base de support arrière est quant à similaire entre les deux groupes d'animaux *(2,339 ± 0,3378 cm (11) vs 2,122 ± 0,1359 cm (10) ; p=0,0690 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-16 B)**. Nous n'avons pas étudié le cycle de pas arrière et la longueur du pas arrière car les animaux SMR trainent les pattes arrière lors de la marche **(Figure III-16 C)**.

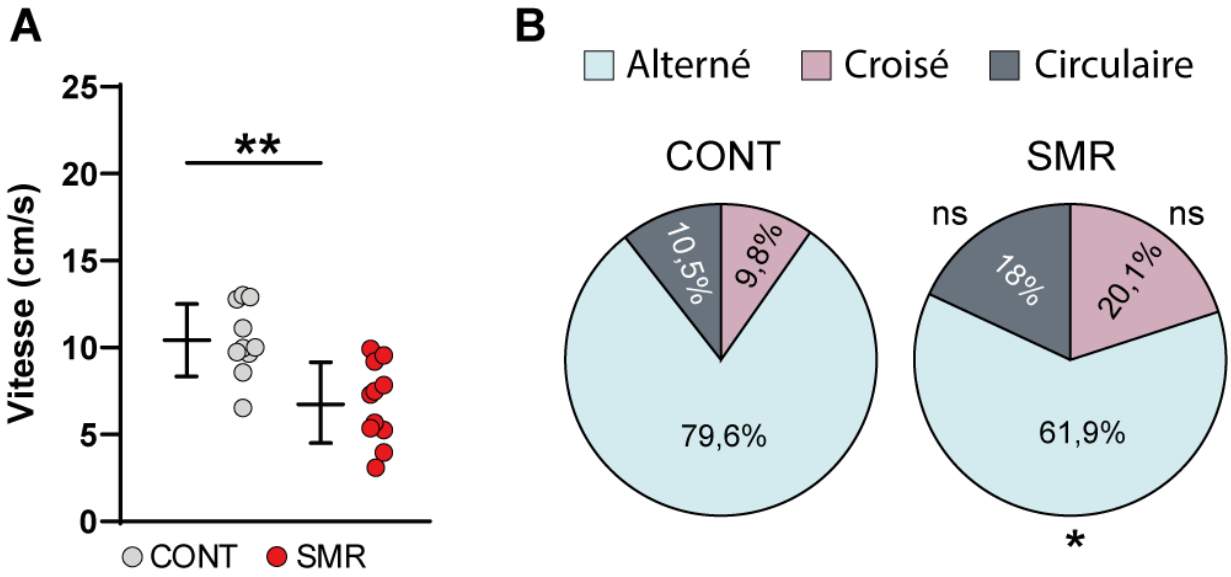


Figure III-14 : L'immobilisation postnatale entraine des déficits de la marche à P14

A : Vitesse de marche des animaux CONT et SMR. Les animaux ayant subi une restriction présentent une vitesse de marche significativement plus faible que les animaux CONT. **B :** Patron de marche des animaux CONT et SMR. La proportion de patron de marche alternée est significativement plus faible chez les animaux SMR au profit d'une augmentation du patron circulaire et croisé, comparativement aux animaux CONT.

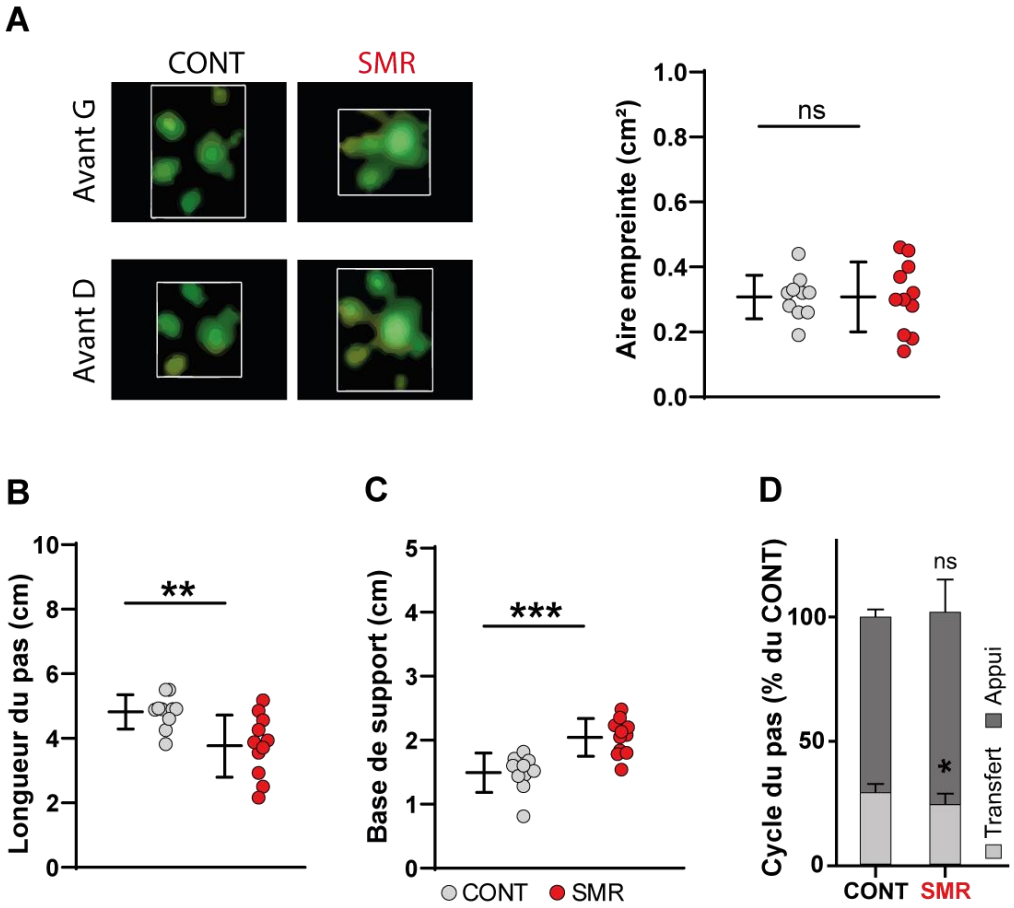


Figure III-15 : L'immobilisation postnatale altère les paramètres de marche des pattes avant à P14

A : (A gauche) Exemple d'empreintes avant droite et gauche d'un animal CONT et d'un animal SMR, acquises pendant la marche. (A droite) Quantification de l'aire des empreintes des pattes avant qui est similaire chez les CONT et les SMR. Chaque point correspond à la moyenne de l'aire des pattes gauche et droite d'un animal. B : Quantification de la longueur du pas avant chez les CONT et les SMR. Chaque point correspond à la moyenne de la longueur du pas des pattes gauche et droite d'un animal. On peut voir que les animaux SMR présentent une longueur de pas avant significativement plus faible que les CONT. C : Quantification de la base de support avant des CONT et des SMR. Ces derniers présentent une augmentation significative de la base de support avant. D : Cycle du pas avant, normalisé par rapport aux animaux CONT. La phase de transfert des pattes avant est significativement plus faible chez les animaux SMR. Il n'y a pas de différence significative concernant la phase d'appui.

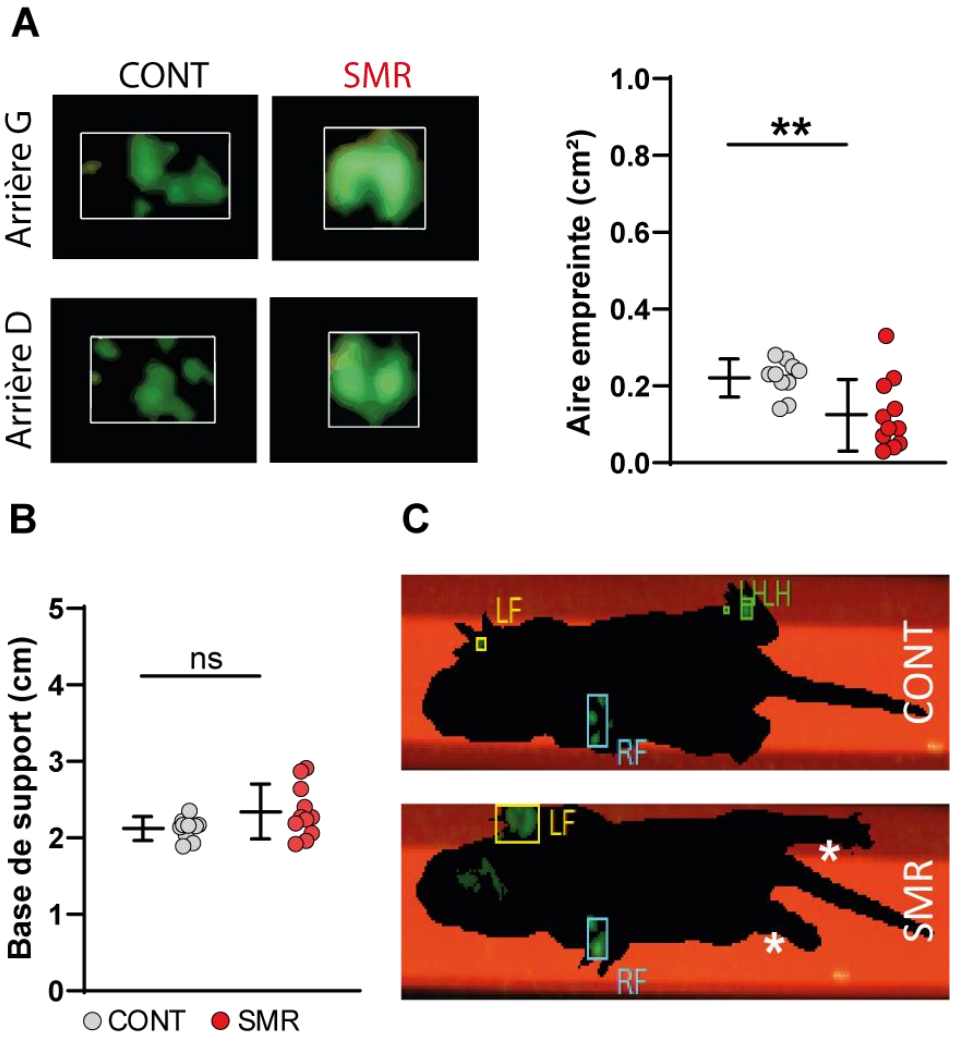


Figure III-16 : L'immobilisation postnatale altère les paramètres de marche des pattes arrière à P14

A : (A gauche) Exemple d'empreintes arrière droite et gauche d'un animal CONT et d'un animal SMR, acquises pendant la marche. (A droite) Quantification de l'aire des empreintes des pattes arrière chez les CONT et les SMR. Chaque point correspond à la moyenne de l'aire des pattes gauche et droite d'un animal. On peut voir que les animaux SMR présentent une aire d'empreinte arrière plus faible que les animaux CONT. B : Quantification de la base de support arrière des CONT et des SMR. Les deux groupes d'animaux présentent une base de support similaire. C : Images d'un rat CONT et d'un rat SMR prises lors de la marche. Les animaux SMR posent rarement les pattes arrière de façon plantigrade et ont tendance à traîner ces dernières lors de la marche. Les astérisques mettent en évidence cette position de patte qui traîne.

I.12. Locomotion fictive in vitro

En parallèle de l'étude du patron de la marche et de la nage *in vivo*, nous avons étudié *in vitro* la locomotion fictive des animaux CONT et SMR à P2. Les tracés d'enregistrement de la locomotion fictive (**Figure III-17 A**) ne semblent pas montrer de différence entre les deux groupes d'animaux. La fréquence des bouffées rythmique ne présente pas de différence entre les SMR et les CONT au niveau des racines du cinquième *(0,3537 ± 0,09094 Hz (6) vs 0,3964 ± 0,08434 Hz (7) ; p=0,4452 ; test de Mann-Whitney)* et du deuxième segment lombaire *(0,3452 ± 0,1062 Hz (5) vs 0,3904 ± 0,08382 Hz (8) ; p=0,4351 ; test de Mann-Whitney)* (**Figure III-17 B**). Nous avons également étudié la stabilité de l'activité rythmique des racines lombaires. Dans un premier temps, nous avons étudié le facteur d'auto-corrélation de ces dernières. On peut voir que les animaux SMR et CONT ont des facteurs d'auto-corrélation similaires *(0,7568 ± 0,0924 (6) vs 0,7671 ± 0,08774 (8) ; p>0,9999 ; test de Mann-Whitney)* (**Figure III-17 C**). Dans un second temps, nous avons étudié les facteurs de cross-corrélation des racines droites *vs* gauches *(-0,7983 ± 0,09806 (6) vs -0,7963 ± 0,09242 (8) ; p=0,9764 ; test de Mann-Whitney)* puis des fléchisseurs *vs* extenseurs controlatéral *(0,7680 ± 0,1522 (5) vs 0,7757 ± 0,1016 (7) ; p=0,9722 ; test de Mann-Whitney)* et aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les deux groupes d'animaux (**Figure III-17 D et E**).

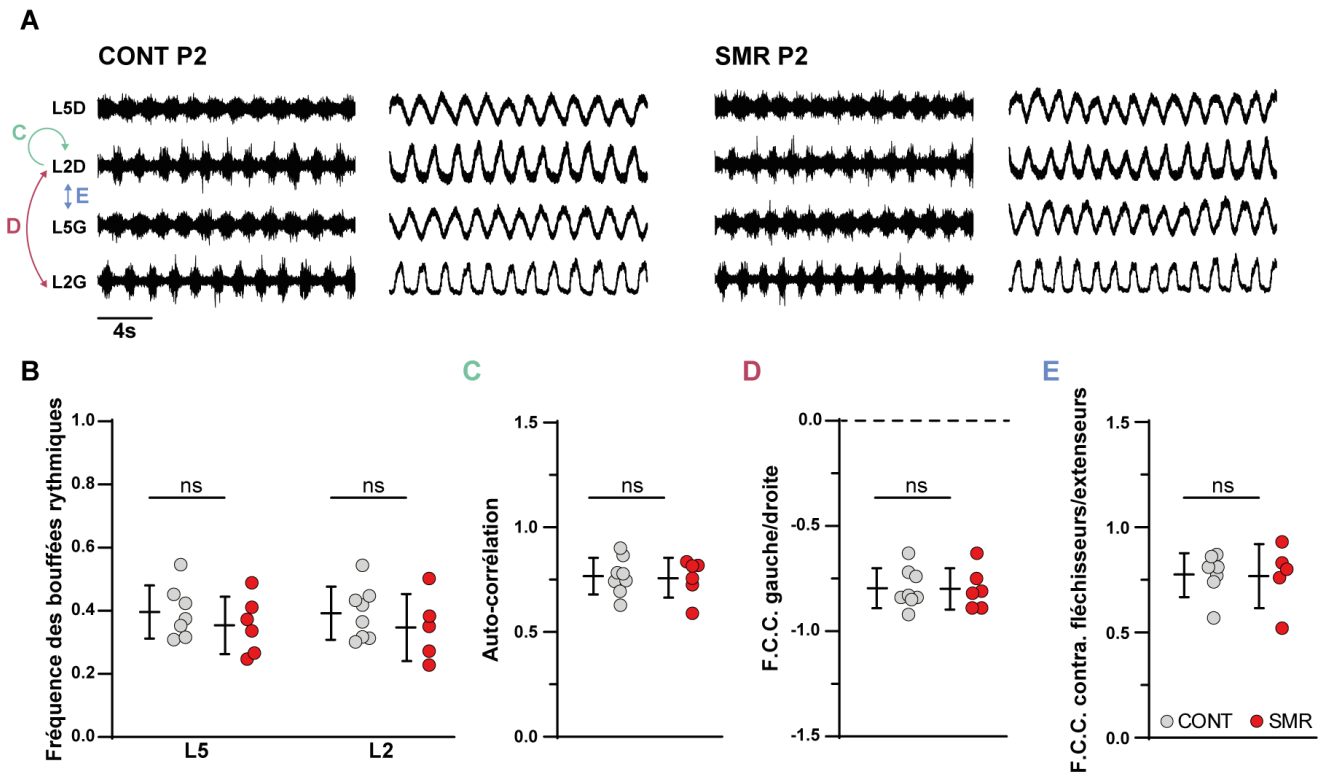


Figure III-17 : L'immobilisation postnatale n'altère pas la locomotion fictive à P2

A : Exemple de tracés bruts et intégrés de locomotion fictive chez les CONT et les SMR à P2. La locomotion fictive a été induite avec un cocktail pharmacologique composé de 4µM de NMDA et 10µM de 5-HT. Nous nous sommes intéressés à la fréquence des bouffées en L2 et en L5 ainsi qu'à l'auto-corrélation de chaque racine (en vert, quantification en C) ainsi qu'à la cross-corrélation droite-gauche (en rouge, quantification en D) et à la cross-corrélation fléchisseur/extenseur controlatéral (en bleu, quantification en E). B : Quantification de la fréquence des bouffées rythmique sur les racines L5 et L2 CONT et SMR. On peut voir que les deux groupes d'animaux présentent une fréquence de bouffées similaire. C : Quantification du facteur d'auto-corrélation des racines lombaires chez les CONT et les SMR. D : Quantification du facteur de cross-corrélation des racines gauches *vs* droites chez les CONT et les SMR. E : Quantification du facteur de cross-corrélation fléchisseurs *vs* extenseurs controlatéral chez les CONT et les SMR.

II. Approfondissement de la caractérisation du modèle adulte après une immobilisation postnatale longue

En parallèle de la caractérisation des modèles de restriction sensorimotrice précoces, le second objectif de ma thèse a été d'approfondir la caractérisation du modèle adulte ayant subi une immobilisation postnatale longue. En effet, nous avons vu que ce modèle présente une hyperréflexie spinale à P60 ainsi que des altérations de la marche à P30 et à P65. Nous avons donc étudié l'hyperréflexie spinale afin de savoir si elle est déjà présente à P30. Nous avons également étudié le patron de la marche à P30.

II.1. Dépression du réflexe de Hoffman in vivo à P30

Dans un premier temps, nous avons étudié l'hyperréflexie spinale *in vivo* chez le modèle tardif à P30. La quantification du réflexe de Hoffman démontre que les animaux SMR présentent un niveau de dépression post-activation de ce réflexe comparable à celui des animaux CONT à 1 Hz *(77,789 ± 13,073 % (16) vs 87,356 ± 12,408 % (11) ; p=0,3460 ; two-way ANOVA)*, 2 Hz *(73,344 ± 13,277 % (16) vs 72,688 ± 21,637 % (11) ; p>0,9999 ; two-way ANOVA)* et 5 Hz *(72,479 ± 15,849 % (16) vs 62,953 ± 25,573 % (11) ; p=3501 ; two-way ANOVA)* (Figure III-18 A). Nous avons vérifié que le ratio Hmax/Mmax à la fréquence initiale de stimulation de 0,2Hz était bien le même entre les deux groupes d'animaux afin de nous assurer qu'il n'y avait pas de biais *(0,1263 ± 0,07166 (16) vs 0,1359 ± 0,07397 (10) ; p=0,7366 ; test de Mann-Whitney)* (Figure III-18 B). De plus, le seuil de la réponse M et de la réponse H est similaire entre les deux groupes d'animaux *(0,1063 ± 0,04938 mA (16) vs 0,094 ± 0,04222 mA (10) ; p=0,5368 ; test de Mann-Whitney)* (Figure III-18 C) et *(0,2838 ± 0,1315 mA (16) vs 0,2120 ± 0,09247 mA (10) ; p=0,2038 ; test de Mann-Whitney)* (Figure III-18 D) respectivement. En revanche, la latence de la réponse M est significativement plus faible chez les animaux SMR *(1,573 ± 0,1260 ms (16) vs 1,706 ± 0,1992 ms (10) ; p=0,0393 ; test de Mann-Whitney)* (Figure III-18 E), malgré une latence H et un délai M-H similaire *(10,30 ± 1,383 ms (16) vs 10,48 ± 1,206 ms (10) ; p=0,6599 ; test de Mann-Whitney)* (Figure

III-18 F) et *(8,633 ± 1,288 ms (16) vs 8,928 ± 1,213 ms (10) ; p=0,5865 ; test de Mann-Whitney)* (Figure III-18 G) respectivement.

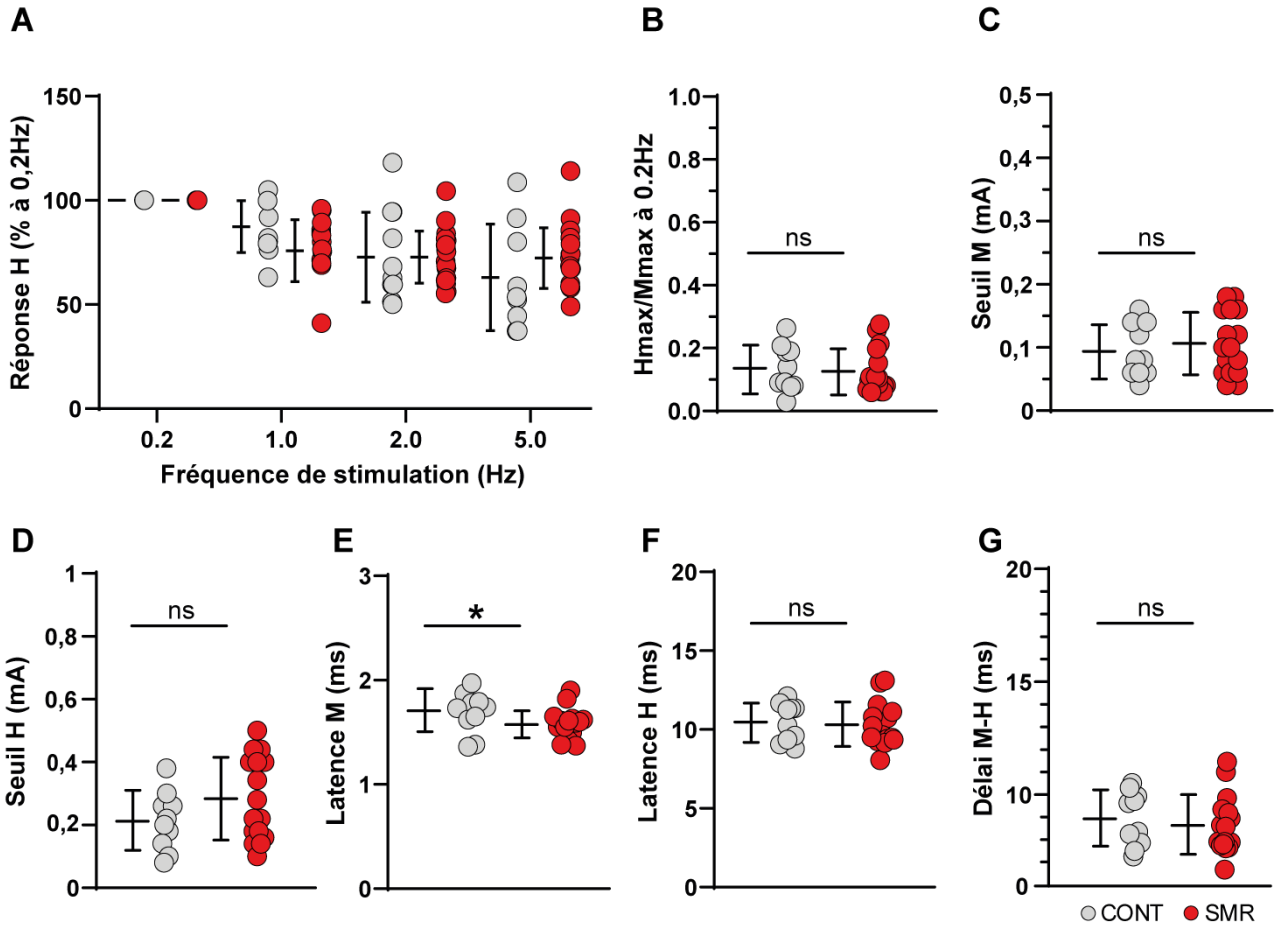


Figure III-18 : L'immobilisation postnatale longue n'entraine pas d'hyperréflexie spinale à P30

A : Dépression post-activation de la réponse H chez les animaux CONT et SMR aux fréquences de 1, 2 et 5 Hz comparativement à la fréquence de 0,2 Hz. B : Ratio Hmax/Mmax à la fréquence de 0,2 Hz dans les deux groupes d'animaux. C : Quantification du seuil de la réponse M. D : Quantification du seuil de la réponse H. E : Quantification de la latence de la réponse M. F : Quantification de la latence H. G : Quantification du délai M-H.

II.2. Etude de la marche à P30

Nous nous sommes également intéressés aux conséquences de la restriction chronique sur la marche chez le modèle tardif à P30. Concernant les paramètres généraux de la marche, on peut voir que les

animaux ayant subi une restriction sensorimotrice de P0 à P28 ne présentent pas de différence de la vitesse de marche à P30 *(34,89 ± 11,62 cm.s^{-1} (11) vs 28,85 ± 12,12 cm.s^{-1} (13) ; p=0,3311 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-19 A)**. Le patron de la marche est également similaire, en effet, les deux groupes d'animaux présentent une proportion de patron alterné *(77,02 ± 25,00 % des CONT (11) vs 65,51 ± 11,76 % des CONT (13) ; p=0,1798 ; test de Mann-Whitney)* de patron croisé *(22,98 ± 25,00 % des CONT (11) vs 33,63 ± 13,25 % des CONT (13) ; p=0,2094 ; test de Mann-Whitney)* et de patron circulaire similaire **(Figure III-19 B)**.

Comme pour P14, nous nous sommes intéressés aux paramètres de marche des pattes avant des animaux CONT et SMR. On peut voir que l'aire de l'empreinte des pattes avant, enregistrée lors de la marche, est significativement plus faible chez les animaux SMR *(0,5127 ± 0,3691 cm² (11) vs 0,6715 ± 0,2086 (13) cm² ; p=0,0289 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-20 A)**. En revanche, la longueur du pas avant est similaire entre les deux groupes d'animaux *(9,582 ± 1,848 cm (11) vs 10,03 ± 2,880 cm (13) ; p=0,9666 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-20 B)**. La base de support avant est plus faible chez les animaux SMR comparativement aux animaux CONT *(1,475 ± 0,2387 cm (11) vs 1,221 ± 0,2080 cm (13) ; p=0,0160 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-20 C)**. Le cycle du pas avant n'est pas altéré chez les animaux SMR qui présentent une phase de transfert *(38,31 ± 8,546 % des CONT (11) vs 40,72 ± 3,892 % des CONT (13) ; p=0,1236 ; test de Mann-Whitney effectué sur les données brutes)* et une phase d'appui *(54,09 ± 22,47 % des CONT (11) vs 59,28 ± 3,892 % des CONT (13) ; p=0,1299 ; test de Mann-Whitney effectué sur les données brutes)* similaire à celles des animaux CONT **(Figure III-20 D)**.

Concernant les paramètres de marche des pattes arrière, l'aire de l'empreinte de ces dernières est similaire chez les deux groupes *(0,5382 ± 0,3923 cm² (11) vs 0,6723 ± 0,2282 cm² (13) ; p=0,0560 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-21 A)**. La longueur du pas arrière et la base de support arrière sont également similaires dans les deux groupes d'animaux *(9,334 ± 1,596 cm (11) vs 9,912 ± 2,965 cm (13) ; p=0,9547 ; test de Mann-Whitney)* et *(2,398 ± 0,4436 cm (11) vs 2,135 ± 0,2399 cm (13) ; p=0,0607 ; test de Mann-Whitney)* respectivement **(Figure III-21 B et C)**. Le cycle du pas arrière n'est pas non plus altéré

chez les animaux SMR qui présentent une phase de transfert *(38,26 ± 5,670 % des CONT (11) vs 35,59 ± 4,474 % des CONT (13) ; p=0,1948 ; test de Mann-Whitney effectué sur les données brutes)* et une phase d'appui *(51,29 ± 22,34 % des CONT (11) vs 64,41 ± 4,474 % des CONT (13) ; p=0,0557 ; test de Mann-Whitney effectué sur les données brutes)* similaire à celles des animaux CONT **(Figure III-21 D)**.

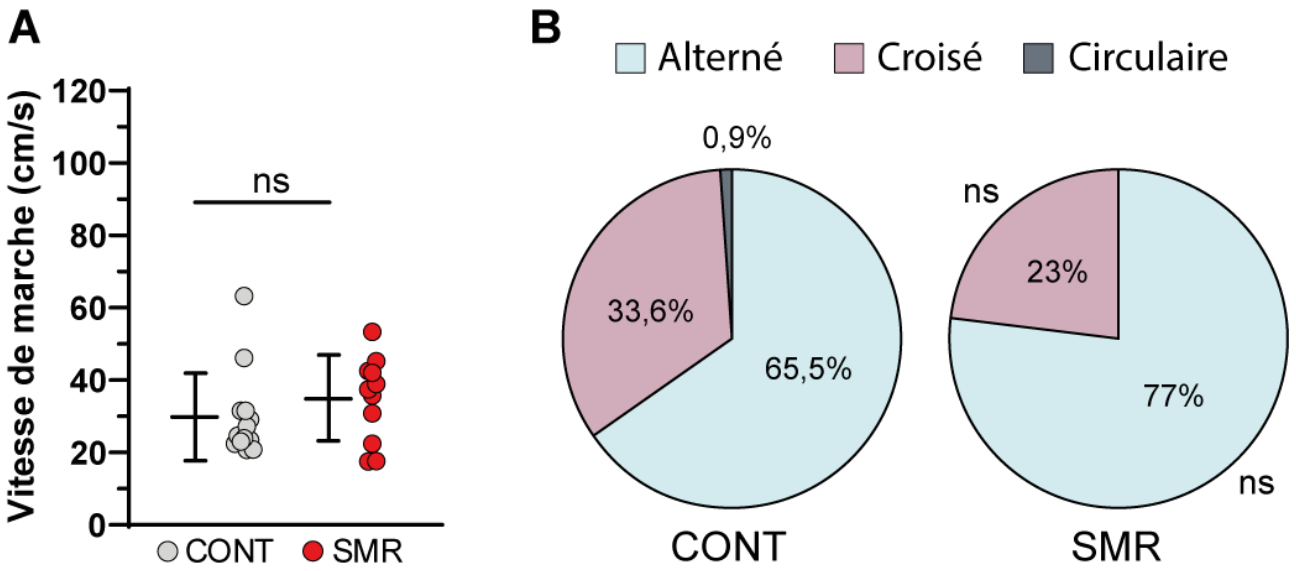


Figure III-19 : L'immobilisation postnatale n'entraine pas d'altération des propriétés de la marche à P30

A : Vitesse de marche des animaux CONT et SMR. Les animaux ayant subi une restriction présentent une vitesse de marche similaire à celle des animaux CONT. **B :** Patron de marche des animaux CONT et SMR. La proportion de patron de marche alternée, circulaire et croisée et similaire dans les deux groupes d'animaux.

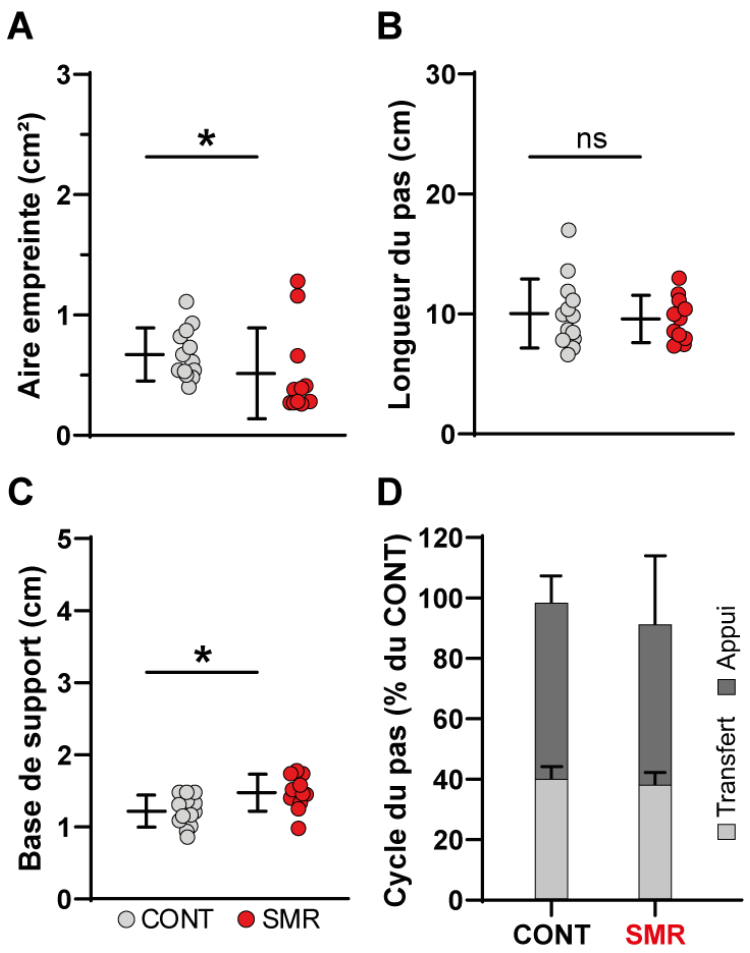


Figure III-20 : L'immobilisation postnatale altère les paramètres de marche des pattes avant à P30

A : Quantification de l'aire des empreintes des pattes gauche et droite avant qui est similaire chez les CONT et les SMR. B : Quantification de la longueur du pas gauche et droit avant chez les CONT et les SMR. On peut voir que les animaux SMR présentent une longueur de pas avant similaire à celle des animaux CONT. C : Quantification de la base de support avant des CONT et des SMR. Ces derniers présentent une augmentation significative de la base de support avant. D : Cycle du pas avant, normalisé par rapport aux animaux CONT. Les phases d'appui et de transfert sont similaires dans les deux groupes d'animaux.

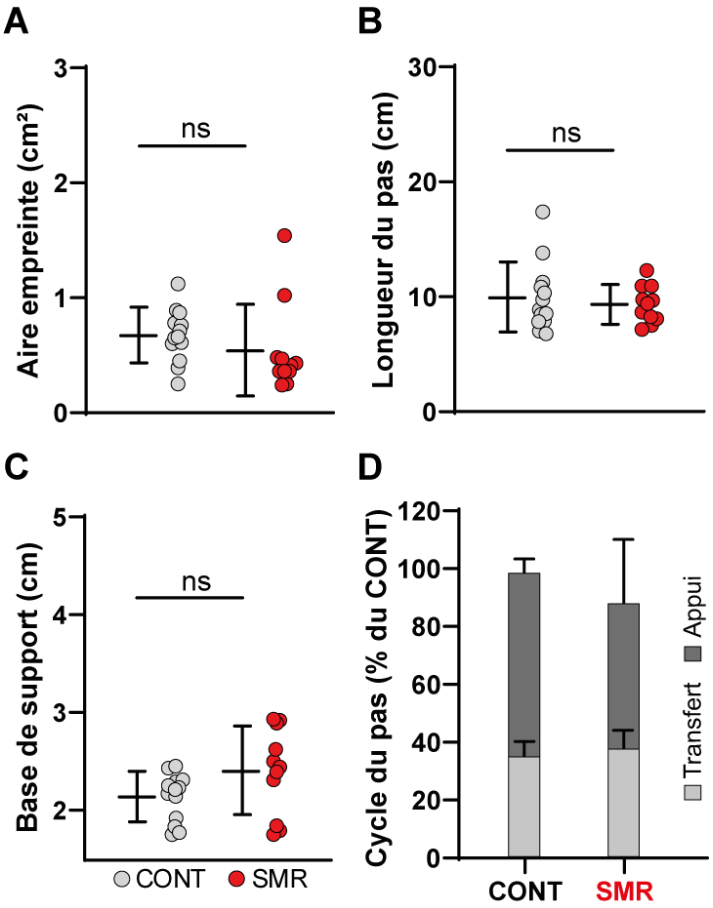


Figure III-21 : L'immobilisation postnatale n'altère pas les paramètres de marche des pattes avant à P30

A : Quantification de l'aire des empreintes des pattes gauche et droite arrière qui est similaire chez les CONT et les SMR. B : Quantification de la longueur du pas gauche et droit arrière chez les CONT et les SMR. C : Quantification de la base de support arrière des CONT et des SMR. D : Cycle du pas arrière, normalisé par rapport aux animaux CONT. Les phases d'appui et de transfert sont similaires dans les deux groupes d'animaux.

II.3. Dépression du réflexe de Hoffman in vivo à P60

Nous avons également poussé l'étudie de l'hyperréflexie spinale *in vivo* chez le modèle tardif jusqu'à P60. La quantification du réflexe de Hoffman démontre que les animaux SMR présentent un niveau de dépression post-activation de ce réflexe comparable à celui des animaux CONT à 1 Hz *(70,878 ± 22,554 % (11) vs 62,863 ± 18,872 % (7) ; p=0,8386 ; two-way ANOVA)*, 2 Hz *(60,885 ± 17,614 % (11) vs 48,695 ± 21,196 % (7) ; p=0,4747 ; two-way ANOVA)*, 5 Hz *(55,375 ± 16,528 % (11) vs 39,925 ± 13,533 % (7) ; p=0,2275 ; two-way ANOVA)*, et 10 Hz *(53,505 ± 16,112 % (11) vs 40,351 ± 14,344 % (7) ; p=0,3913 ;*

two-way ANOVA) **(Figure III-22 A)**. Nous avons vérifié que le ratio Hmax/Mmax à la fréquence initiale de stimulation de 0,2Hz était bien le même entre les deux groupes d'animaux afin de nous assurer qu'il n'y avait pas de biais *(0,1359 ± 0,05445 (11) vs 0,2172 ± 0,1014 (7) ; p=0,0693 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-22 B)**. De plus, le seuil de la réponse M et de la réponse H est similaire entre les deux groupes d'animaux *(0,1418 ± 0,08023 mA (11) vs 0,1686 ± 0,1587 mA (7) ; p=0,8431 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-22 C)** et *(0,3345 ± 0,2204 mA (11) vs 0,2371 ± 0,2210 mA (7) ; p=0,1435 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-22 D)** respectivement. Enfin, la latence de la réponse M *(1,680 ± 0,2288 ms (11) vs 1,667 ± 0,2329 ms (7) ; p=0,7743 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-22 E)**, de la réponse H *(8,561 ± 0,5052 ms (11) vs 8,934 ± 0,6295 ms (7) ; p=0,1791 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-22 F)** et le délai M-H *(6,881 ± 0,4975 ms (11) vs 7,267 ± 0,5768 ms (7) ; p=0,1259 ; test de Mann-Whitney)* **(Figure III-22 G)** sont similaires entre les deux groupes d'animaux.

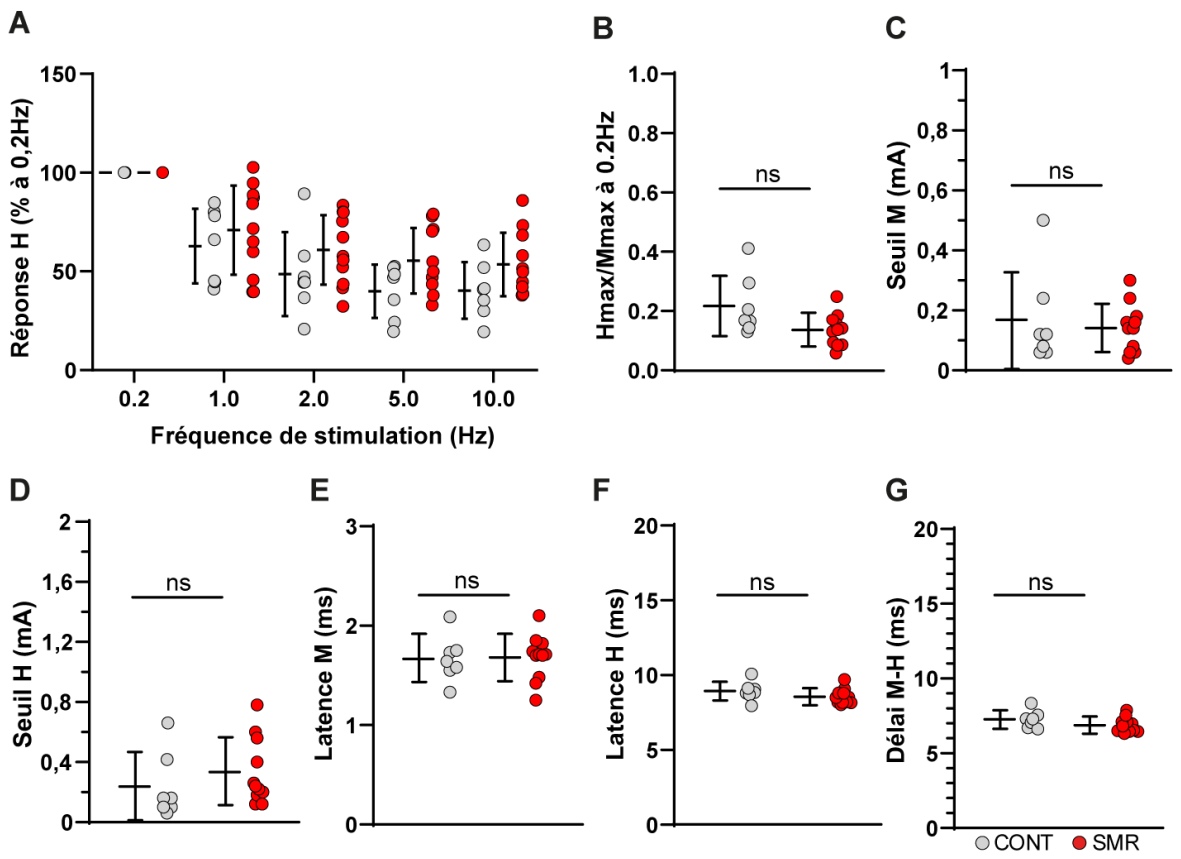


Figure III-22 : L'immobilisation postnatale n'entraine pas d'hyperréflexie spinale à P60

A : Dépression post-activation de la réponse H chez les animaux CONT et SMR aux fréquences de 1, 2, 5 et 10 Hz comparativement à la fréquence de 0,2 Hz. B : Ratio Hmax/Mmax à la fréquence de 0,2 Hz dans les deux groupes d'animaux. C : Quantification du seuil de la réponse M. D : Quantification du seuil de la réponse H. E : Quantification de la latence de la réponse M. F : Quantification de la latence H. G : Quantification du délai M-H.

Les résultats vont être résumés ici mais seront discutés en détail dans la partie IV « discussion et perspectives ».

Résultats obtenus chez le modèle précoce

L'ensemble de nos résultats a permis de mettre en évidence des altérations précoces chez les animaux ayant subi une immobilisation postnatale.

Au niveau du phénotype :

Le phénotype des animaux SMR est différent de celui des animaux CONT, avec un retard de croissance dès P7 et persistant jusqu'à P14. Les animaux SMR présentent également une hyperextension marquée de l'articulation de la cheville dès P1 et persistant jusqu'à P14 ainsi qu'une altération du positionnement de la queue au repos entre P3 et P7.

Au niveau des sorties motrices :

Les animaux immobilisés présentent une altération de la maturation du réflexe de retournement, avec une latence de retournement plus longue à P5 et à P6. Une augmentation importante du nombre de mouvement spontanés de type *twitch* sans modification du nombre de mouvements spontanés complexe a également été mise en évidence. Des déficits locomoteurs sont également observés. La vitesse ainsi que la distance parcourue lors de la nage est plus lente chez les animaux SMR bien que la proportion de temps immobile ne présente pas de différence par rapport aux animaux CONT à P12. La marche présente également des déficits à P14 : la vitesse de marche est plus faible ; la proportion de marche alternée est diminuée au profit des patrons circulaire et croisé. La longueur du pas avant, la base de support avant ainsi que la durée de la phase de transfert avant sont réduits tandis que l'aire de l'empreinte avant ne semble pas affectée. Concernant les pattes postérieures, l'aire de l'empreinte est plus faible chez les animaux SMR et la base de support arrière ne présente pas de différence. Les animaux immobilisés ont également tendance à traîner les pattes arrière durant la marche.

Au niveau spinal :

Au niveau spinal, les animaux SMR ne présentent pas de différence concernant les propriétés des motoneurones lombaires entre P4 et P7. En ce qui concerne les propriétés des motoneurones sacrés, seule la résistance présente une différence qui est plus importante par rapport aux animaux CONT entre P4 et P7. Concernant les préparations de moelle épinière entière, les animaux SMR ne présentent pas de différence : de l'activité spontanée à P2, des propriétés de la locomotion fictive à P2 et de la dépression post-activation du réflexe monosynaptique entre P5 et P6.

Résultats obtenus chez le modèle adulte

Au niveau des sorties motrices :

A P30, les paramètres généraux de la marche sont similaires entre les animaux SMR et CONT. En revanche, l'aire de l'empreinte avant est plus faible et la base de support avant est plus importante chez les animaux SMR tandis que la longueur du pas avant, la durée du pas et des différentes phases du pas avant ne sont pas différentes. L'aire de l'empreinte arrière, la base de support et la longueur du pas arrière ainsi que la durée du pas et des différentes phases du pas arrière ne sont pas modifiées chez les animaux SMR.

Au niveau spinal :

L'ensemble des paramètres du réflexe H sont similaires entre les animaux CONT et SMR à P30 et à P60 à l'exception de la latence de la réponse M qui est plus courte chez ces derniers à P30. La dépression post-activation de ce réflexe est également similaire entre les deux groupes d'animaux à P30 et à P60.

PARTIE IV : DISCUSSION & PERSPECTIVES

« Dans la recherche commune des arguments, celui qui est vaincu a gagné davantage, à proportion de ce qu'il vient d'apprendre. »

-

Epicure – Sentences vaticanes

I. Différences phénotypiques précoces et mécanismes sous-jacents :

Cette thèse a permis dans un premier temps de mieux caractériser le modèle précoce d'immobilisation postnatale et de commencer à investiguer l'apparition des altérations observées chez le modèle adulte et les potentiels mécanismes impliqués.

Dans un premier temps, nous avons observé des différences phénotypiques marquées et précoces chez les animaux immobilisés après la naissance. Un retard de croissance important a été mis en évidence chez les animaux SMR dès P7 et persistant jusqu'à P14. Ce résultat va dans le sens de nombreuses autres études qui observent également cette différence, ne persistant d'ailleurs pas jusqu'à l'âge adulte *(Mosekilde et al., 2000; Strata et al., 2004; Marcuzzo et al., 2008, 2010; Kunz et al., 2014; Delcour, Massicotte, et al., 2018)*. Ce retard de croissance important et précoce serait dû à une diminution de la consommation de nourriture liée à une mobilité générale fortement réduite *(Kunz et al., 2014)*. Avant le début de la prise d'aliments solides (P18), les ratons passent la majorité de leur temps à téter *(Thiels, Alberts and Cramer, 1990)*. Afin de se fixer aux mamelles de la mère, ils doivent exécuter des séquences motrices particulières, leur permettant de passer de la position de supination (couché sur le dos) à la position de pronation (couché sur le ventre) *(Eilam, Goffman and Smotherman, 1999)*. Il est possible que l'immobilisation ainsi que l'encombrement généré par le moule complexifie cette séquence motrice chez les animaux SMR et les empêche ainsi de téter correctement, résultant alors en une forte compétition alimentaire entre les animaux CONT et SMR. Afin de limiter au mieux cette compétition alimentaire, nous avons systématiquement limité les portées à 10 animaux (6 SMR et 4 CONT) et l'ensemble de la portée était séparée de la mère lors de la procédure d'immobilisation des animaux SMR.

Les animaux immobilisés présentent également une hyperextension des pattes postérieures, notamment au niveau de l'articulation de la cheville dès P1. Ce phénotype persiste au moins jusqu'à P14. Cette hyperextension au niveau de l'articulation de la cheville a également été mise en évidence à l'âge adulte dans le modèle de suspension postnatale *(Walton et al., 1992)* ainsi que dans le modèle

d'immobilisation postnatale *(Marcuzzo et al., 2008; Delcour, Massicotte, et al., 2018)*. Selon notre hypothèse, ce phénotype pourrait s'expliquer par différents mécanismes : **i)** une hyperexcitabilité des motoneurones innervant les muscles extenseurs de la cheville tels que le gastrocnemius, le plantaris ou le soleus **(Figure IV-1)** ; **ii)** des altérations du réflexe d'étirement au niveau des muscles de la cheville ; **iii)** des modifications périphériques telles que des déficits au niveau articulaire entrainant une position anormale de la cheville au repos.

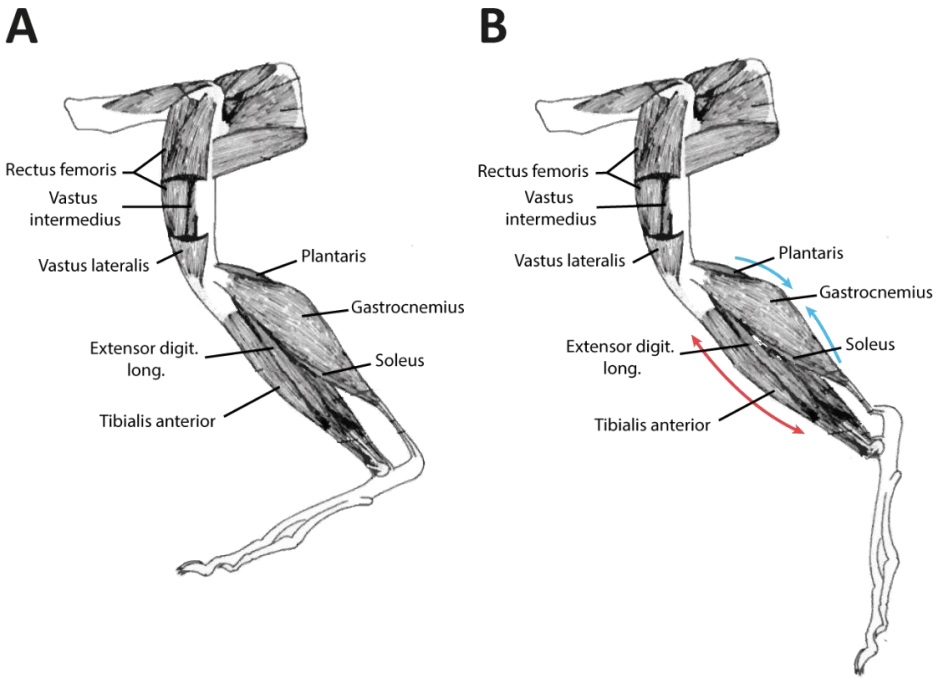


Figure IV-1 : Musculature de la patte postérieure du rat

A : Représentation schématique des muscles de la patte arrière du rat. **B :** Lorsque la patte est immobilisée en position d'hyperextension, les muscles plantaris, gastrocnemius et soleus vont se raccourcir (flèches bleues) tandis que les muscles tibialis anterior et extensor digitorum longus vont être étirés (flèches rouges).
Modifié d'après *Chiasson, 1988*.

Dans le modèle de suspension par la queue, les motoneurones extenseurs présentent une excitabilité plus importante chez les animaux suspendus comparativement aux animaux CONT durant la locomotion fictive *(Canu, Falempin and Orsal, 2001)*. Cette hyperactivité du réseau des extenseurs a également été

observée dans d'autres modèles de diminution de l'activité motrice ou des entrées sensorielles *(Kozlovskaya, 1982; Clement et al., 1984; Webb and Cope, 1992; Duchateau, 1995)*. Une étude a émis l'hypothèse que l'hyperextension des membres postérieurs, observée lors de la marche, pouvait être due à une hyperactivité des motoneurones extenseurs *(Canu et al., 2005)*. Nous avons donc étudié les propriétés électrophysiologiques des motoneurones extenseurs, dont l'hyperexcitabilité pourrait expliquer le phénotype observé chez nos animaux SMR.

L'étude des propriétés électrophysiologiques des motoneurones du segment lombaire L5 n'a pas mis en évidence de différence significative entre les animaux CONT et SMR. En effet, ni l'excitabilité, ni les propriétés de potentiel d'action ne sont altérées chez les animaux immobilisés après la naissance, suggérant que l'hyperextension des pattes postérieures n'est pas due à une hyperexcitabilité neuronale. Cependant, il est important de noter que nos enregistrements ont été faits spécifiquement sur la population de gros motoneurones (diamètre du soma > 20 µm) et qu'aucun marquage musculaire rétrograde n'a été utilisé. Il pourrait être intéressant d'affiner cette étude de l'excitabilité en ciblant spécifiquement les petits motoneurones du segment lombaire L5. Ces dernier présentent une excitabilité plus importante que les gros, et sont essentiellement impliqués dans l'innervation des fibres lentes *(Gardiner, 1993; Burke, 2011; Manuel and Zytnicki, 2011)*, elles-mêmes essentielles au maintien postural et majoritairement présentes dans les muscles extenseurs des membres postérieurs *(Schiaffino and Reggiani, 2011)*. De façon encore plus ciblée, l'enregistrement des motoneurones innervant spécifiquement les muscles soleus, gastrocnemius ou encore plantaris grâce à l'utilisation de marquage rétrograde injecté dans les muscles *(Yu et al., 2015)*, pourrait affiner cette étude et peut être dévoiler des modifications d'excitabilité spécifiques à ces motoneurones.

Nous avons également fait l'hypothèse que des altérations du réflexe d'étirement pouvaient être liées à l'hyperextension des pattes postérieures chez nos animaux SMR précoces. Une hyperextension de la cheville, ou equinus, peut être la conséquence d'une spasticité et est observée dans certaines pathologies telles que de la paralysie cérébrale *(Miller, 2019)*. La spasticité est elle-même caractérisée

par une hyperexcitabilité du réflexe d'étirement *(Lance, 1980)*, et semblerait être retrouvée chez le modèle SMR adulte qui présente une hyperexcitabilité lombaire du réflexe de Hoffmann à P60 *(Delcour, Massicotte, et al., 2018)*. Nous avons donc étudié la possibilité d'une apparition précoce de cette hyperréflexie spinale en étudiant le seuil et la dépression post-activation du réflexe monosynaptique in vitro entre P5 et P6. Cependant, nos résultats n'ont pas mis en évidence d'altération du seuil du réflexe monosynaptique et de sa dépression post-activation chez les animaux SMR.

Il semblerait donc que l'hyperextension des pattes postérieures ne soit pas liée à des modifications centrales et pourrait s'expliquer par des déficits périphériques. Un déficit au niveau de l'articulation pourrait être en grande partie la cause de ce phénotype. Plusieurs études vont dans ce sens en ayant mis en évidence des altérations osseuses et articulaires à la suite d'une immobilisation transitoire chez l'animal adulte *(Mosekilde et al., 2000; Kunz et al., 2014; Friedman et al., 2019; Ledri et al., 2020)*. Une immobilisation durant le développement postnatal, alors que les os et les articulations sont encore immatures *(Zoetis et al., 2003; Decker, 2017)*, a également un impact délétère important sur les systèmes ostéoarticulaires à l'âge adulte chez qui une hyperextension de l'articulation de la cheville est mise en évidence *(Coq et al., 2008; Delcour, Massicotte, et al., 2018)*. Il serait donc intéressant d'étudier les tissus articulaires à des stades précoces chez nos animaux SMR, dont les altérations pourraient être responsables de ce positionnement anormal de l'articulation de la cheville. De façon plus générale, l'étude des tissus musculaires chez le modèle précoce pourrait également être intéressante puisqu'un raccourcissement de la longueur des muscles, une réduction de leur élasticité pourraient également être impliqués dans ce phénotype.

En plus de cette hyperextension des pattes postérieures, les animaux SMR présentent également un phénotype de queue anormal en « tire-bouchon » de P3 à P7, ne persistant pas jusqu'à P14. Il est important de noter que chez les rongeurs, la queue joue un rôle important dans l'équilibre, la posture et le comportement locomoteur *(Siegel, 1970; Hickman, 1979)*. Il semble donc essentiel de mieux

caractériser ce phénotype atypique ainsi que les mécanismes sous-jacents à ce dernier. De façon intéressante, un phénotype très similaire a été observé dans un modèle de souris médullo-lésée au niveau du 2ème segment sacré et est considéré dans cette étude comme un signe de spasticité *(Marcantoni et al., 2020)* **(Figure IV-2 A)**. En effet, ce trouble correspond à un état d'hyperexcitabilité des circuits spinaux entraînant l'apparition de contractions musculaires toniques et de spasmes musculaires épisodiques *(Dietz and Sinkjaer, 2007; McKay et al., 2011; Andresen et al., 2016)*. Chez les souris médullo-lésés, ce phénotype de la queue apparait progressivement, atteignant un pic 6 semaines après la lésion et persiste dans le temps *(Marcantoni et al., 2020)*. Des enregistrements EMG des muscles de la queue ont révélé une augmentation de l'activité tonique des muscles **(Figure IV-2 B)**. En plus de cette contraction musculaire tonique, des spasmes musculaires épisodiques spontanés et récurrents ont été observés et étaient concomitants à l'augmentation de la courbure de la queue **(Figure IV-2 C)**.

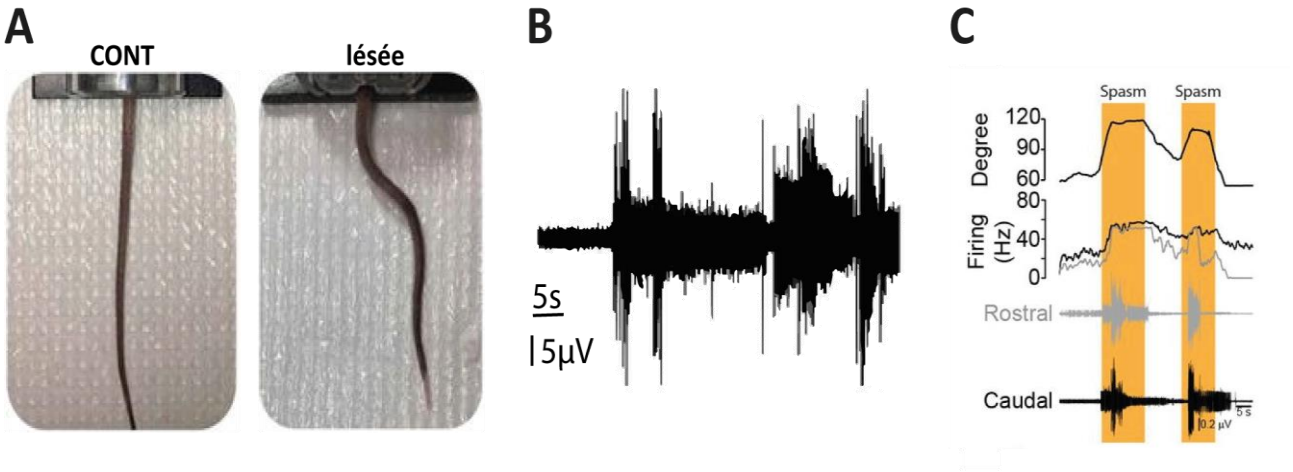


Figure IV-2 : Un phénotype de queue similaire a été observé chez des souris médullo-lésées

A : Photographie de la position de la queue chez une souris CONT à gauche et une souris médullo-lésée au niveau S2 à droite, 6 semaines après la lésion. On peut voir que le phénotype est très similaire à celui observé chez les animaux SMR entre P3 et P7. **B :** Enregistrement EMG d'un muscle ventral proximal de la queue d'une souris lésée 6 semaines après la lésion et après injection d'un véhicule. On peut voir que le muscle présente une activité tonique importante superposée de spasmes spontanés. **C :** Enregistrement EMG et fréquence d'excitation des muscles rostraux (9ème coccygienne) et distal (17ème coccygienne) chez une souris lésée, 6 semaines après la lésion. On peut voir que la courbure (angle) de la queue dans le segment rostral (trace supérieur) augmente de façon concomitante aux spasmes spontanés.
D'après *Marcantoni et al., 2020*.

Nous suggérons que le phénotype observé dans notre modèle SMR précoce pourrait lui aussi être dû à une hyperexcitabilité des réseaux spinaux sacrés. Nous avons donc étudié la possibilité d'une altération de l'excitabilité motoneuronale. De manière générale, l'innervation de la queue chez le rat est médiée par les segments sacrés (S1 à S4) et coccygiens (Co1) de la moelle épinière *(Danneman et al., 1994; Harris et al., 2007; MacKenzie et al., 2015)*. Nous avons donc enregistré les propriétés des motoneurones des segments S1 et S2. Une augmentation de la résistance membranaire de ces motoneurones sacrés a été mise en évidence chez les animaux SMR, sans différence de la taille des motoneurones enregistrés, et pourrait être due à des modifications morphologiques telles qu'une diminution de l'arborisation dendritique. Cependant, aucune différence flagrante d'excitabilité pouvant expliquer ce phénotype n'a pu être mise en évidence entre le groupe CONT et SMR. Etant donné que les segments sacrés innervent aussi en partie les muscles des pattes postérieures *(Romanes, 1951)*, il serait intéressant d'effectuer une étude plus fine en ciblant spécifiquement les motoneurones innervant les muscles de la queue via un marquage rétrograde.

Il serait également intéressant d'enregistrer l'activité EMG des muscles de la queue chez les animaux SMR entre P3 et P7 afin de déterminer si le phénotype observé est, comme dans l'étude de Marcantoni, l'expression de spasticité. De plus, une corrélation directe existe entre l'expression accrue des potentiels de plateau et l'apparition de la spasticité chez les animaux médullo-lésés *(Li and Bennett, 2003; Bellardita et al., 2017)*, notamment au niveau des motoneurones innervant la queue *(Bennett et al., 2001; Bennett, Li and Siu, 2001)*. Ainsi l'étude des propriétés de plateau des motoneurones sacré innervant les muscles de la queue chez les animaux SMR entre P3 et P7 pourrait être intéressante.

II. Altérations des sorties motrices précoces et mécanismes sous-jacents :

Les résultats obtenus chez le modèle précoce mettent en évidence une latence plus importante du réflexe de retournement à P5 et P6 chez les animaux SMR. Cependant, elle redevient similaire au

animaux CONT à P7. Ce réflexe exige un contrôle postural du tronc et permet de rendre compte de la maturation de ce dernier au cours du développement, ainsi que de déséquilibres posturaux potentiels *(Feather-Schussler and Ferguson, 2016)*. Notre résultat suggère que la maturation du maintien postural nécessaire à ce réflexe présente un retard chez les animaux SMR, et serait tout à fait logique au vu du retard de croissance observé chez ces animaux *(Zhang et al., 2010)*.

Concernant les mouvements spontanés, nous avons pu voir que les animaux SMR présentent un nombre de mouvements de type *twitch* plus important que les animaux CONT et que le nombre de mouvement complexes est similaire entre les deux groupes. Ce résultat suggère que les mécanismes à l'origine de ces deux types de mouvements spontanés ne sont pas les mêmes. Il est fort probable que les mouvements de types *twitch* reposent sur de l'activité spontanée très localisée tandis que les mouvements complexes, mettant en jeux de nombreux muscles, repose sur de l'activité spontanée plus globale et répartie sur de nombreux segments spinaux.

Une étude faite chez des souris juvéniles suggère que les twitches déclenchent le réflexe d'étirement monosynaptique et que ce faisant, pourraient contribuer à son développement postnatal activité-dépendant *(Blumberg et al., 2015)*. En effet, dans cette étude, des enregistrements vidéo ont montré que des souris CONT présentaient des twitches de type reflexe, composés d'un mouvement musculaire bref, directement suivi par le mouvement bref d'un muscle antagoniste. En revanche, ces *twitches* de type reflexe n'étaient pas présents chez des souris *transgéniques* dépourvues de fuseaux neuromusculaires. De plus, de nombreux contacts synaptiques inappropriés entre les afférences Ia et les motoneurones sont présentes aux alentours de P0-P2. Durant la première semaine postnatale, ces synapses redondantes deviennent silencieuses ou sont éliminées tandis que les synapses restantes sont consolidées et affinées *(Seebach and Ziskind-Conhaim, 1994; Mears and Frank, 1997)*. Selon la théorie Hebbienne, ce processus est dépendant de l'activité. Il se pourrait donc que l'augmentation des

mouvements spontanés de type *twitch* chez nos animaux SMR soient le reflet d'une immaturité du réflexe d'étirement.

Nos résultats ont *également* permis de mettre en évidence des altérations des comportements locomoteurs de nage à P12 et de marche à P14 chez nos animaux SMR. Nous avons en effet montré que la vitesse de nage et la distance parcourue pendant la nage sont significativement réduites chez les SMR alors que la proportion de temps immobile et mobile ne diffère pas entre les deux groupes. Concernant la marche, la vitesse est également réduite chez les animaux SMR avec une diminution de la proportion du patron alterné typique de marche au profit d'un patron circulaire ou croisé. L'analyse des paramètres de marche des pattes avant et arrière a également révélé des altérations chez le modèle SMR précoce. Ces derniers présentent une diminution de la longueur du pas avant avec une augmentation de la base de support ainsi qu'une diminution de la durée de la phase de transfert avant. Au niveau des pattes arrière, les animaux SMR présentent une diminution de l'aire de l'empreinte et ont tendance à traîner les pattes arrière lors de la marche. Etant donné que l'hyperextension des pattes arrière a été mise en évidence jusqu'à P14, ce déficit pourrait expliquer les altérations de nage et de marche observées. En effet, l'augmentation de la base de support avant ainsi que la diminution de la longueur du pas avant et de la durée de transfert, suggérant des pas plus rapides, pourrait permettre à l'animal de compenser les déficits des pattes arrière. Il a notamment été montré dans le modèle de suspension par la queue que l'hyperextension des membres postérieurs provoque une augmentation de l'activité musculaire des membres antérieurs afin de compenser le déséquilibre postural *(Canu et al., 2007)*.

De plus, l'analyse de la locomotion fictive *in vitro* à P2 n'a pas révélé d'anomalies du patron locomoteur au niveau des sorties motrices suggérant que la restriction n'a pas entraîné d'altération du CPG locomoteur lombaire. Ce résultat n'est pas étonnant étant donné que le CPG est mature avant la naissance, soit avant que l'immobilisation soit imposée aux animaux SMR *(Bekoff and Lau, 1980; Nishimaru and Kudo, 2000; Robinson, Kleven and Brumley, 2008)*. Il est également important de noter

que l'étude du comportement locomoteur chez ces animaux a été faite à P13 et à P14, soit sur des animaux ayant subi l'immobilisation pendant deux semaines postnatales tandis que l'étude de la locomotion fictive a été faite à P2. Il se pourrait qu'une période d'immobilisation de deux jours ne soit pas suffisante pour induire des altérations du CPG locomoteur lombaire.

Enfin, il est important de noter que bien que l'induction pharmacologique de la locomotion fictive soit très efficace pour l'étude des schémas moteurs spinaux, cette induction est très éloignée de la condition physiologique. En effet l'ensemble du tissu spinal est en contact prolongé avec des substances qui sont généralement finement libérées et régulés *in vivo*. Le patron moteur généré pharmacologiquement est de ce fait très robuste et il est ainsi difficile de mettre en évidence des altérations fines via cette méthode d'induction. Dans le cadre de notre étude, il pourrait être intéressant d'induire la locomotion fictive via la stimulation répétitive des afférences primaires lombaires *(Marchetti, Beato and Nistri, 2001)* ou sacro-coccygiennes *(Lev-Tov, Delvolve and Kremer, 2000; Gabbay, Delvolvé and Lev-Tov, 2002; Taccola, 2011)*. Cette méthode d'induction représente un moyen plus physiologique pour recruter les CPG locomoteurs spinaux. Cependant, le patron locomoteur ainsi généré est épisodique et de courte durée, contrairement au rythme continu suscité par l'induction pharmacologique. Cette méthode pourrait néanmoins nous permettre de mettre en évidence des anomalies masquées par l'induction pharmacologique.

III. Altérations observées chez le modèle immobilisé tardif

Dans notre étude, le modèle SMR tardif ne présente pas d'altérations flagrantes du comportement locomoteur et du réflexe de Hoffmann ainsi que de sa dépression post-activation, comparativement aux animaux CONT. En effet, les paramètres de marche obtenus au Catwalk à P30 ne mettent en évidence qu'une diminution de l'aire de l'empreinte des pattes avant ainsi qu'une augmentation de la base de support avant. Les paramètres généraux de la marche ainsi que les paramètres des pattes arrière sont

similaires entre les deux groupes. Une étude kinétique de la marche sur tapis roulant aurait peut-être permis de mettre en évidence les altérations au niveau des différents angles articulaires lors des phases de marche, déjà observé à P30 et P60 *(Delcour, Massicotte, et al., 2018)*.

Concernant le réflexe de Hoffmann et sa dépression post-activation, aucune différence n'a été mise en évidence entre les animaux SMR et CONT à P30 et P60, à l'exception de la latence de la réponse M à P30 qui est plus longue chez les animaux SMR. Cette différence pourrait s'expliquer par le retard de croissance des animaux, toujours présent à P28 *(Delcour, Massicotte, et al., 2018)*. En effet, la vitesse de propagation du PA se trouvant aux alentours de 120m/s au niveau des fibres motrices rapides, une différence de croissance pourrait expliquer une différence de latence d'un dixième de milliseconde. Cependant, la latence M-H n'est pas modifiée entre les deux groupes. Ces résultats vont à l'encontre de ce qui a été publié chez le modèle tardif, présentant une hyperréflexie spinale à P60 *(Delcour, Massicotte, et al., 2018)*. Il semble donc essentiel de continuer à caractériser le modèle tardif afin de comprendre les raisons pouvant expliquer cette non-reproductibilité.

PARTIE V : PUBLICATION

« Le monde récompense plus souvent les apparences du mérite que le mérite même. »

-

François de La Rochefoucauld - Maximes

Résumé de l’article publié dans Annals of Physical and Rehabilitation Medicine (2019)

La paralysie cérébrale (PC) est un syndrome complexe caractérisé par divers déficits sensoriels, moteurs et cognitifs. Sa prévalence a récemment diminué dans certains pays développés et ses symptômes ont également évolué depuis les années 1960. Depuis les années 1990, la PC a été associée à la prématurité, mais des études épidémiologiques récentes montrent une réduction ou une absence de lésions cérébrales, ce qui se rapproche du trouble développemental de la coordination (DCD). Dans des études précédentes, nous avons développé un modèle de rat basé sur une hypoperfusion intra-utérine (MIUH) qui récapitule la diversité des symptômes observés chez les prématurés. L'hypoperfusion intra-utérine a entraîné des processus inflammatoires précoces, des lésions cérébrales diffuses, des déficits locomoteurs mineurs, des pathologies musculosquelettiques, une désorganisation neuroanatomique et fonctionnelle du cortex somatosensoriel primaire (S1) mais pas du cortex moteur (M1), des réflexes sensorimoteurs retardés, une hyperactivité spontanée, des déficits du traitement des informations sensorielles et des troubles de la mémoire et de l'apprentissage chez les rats adultes. Les rats MIUH adultes présentent également des modifications des propriétés et du phénotype contractiles des muscles, une hyperréflexie et une spasticité durable, ainsi qu'une hyperexcitabilité dans le cortex sensorimoteur. Nous avons récemment développé un modèle de DCD chez le rat basé sur une restriction sensorimotrice postnatale (SMR) sans lésion cérébrale. Cette restriction sensorimotrice postnatale a entraîné une locomotion digitigrade liée à une hyperextension de l’articulation de la cheville et du genou, une dégradation des tissus musculosquelettiques et une hyperréflexie lombaire chez l’adulte. Il y avait également une dégradation des cartes des membres postérieurs dans les régions corticales S1 et M1, une altération des propriétés de réponse corticale et une hyperexcitabilité corticale, mais aucune lésion cérébrale. Ainsi, nos deux modèles de rats semblent récapituler la diversité des symptômes allant de la PC au DCD et contribuent à la compréhension de l'émergence et des mécanismes sous-jacents aux troubles neurodéveloppementaux correspondants. Ces modèles précliniques semblent prometteurs pour tester des stratégies de réhabilitation basées à la fois sur l'entraînement physique et cognitif afin de promouvoir une plasticité cérébrale adaptative et d'améliorer les conditions physiques du corps.

Annals of Physical and Rehabilitation Medicine 63 (2020) 422–430

Available online at
ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com

Cerebral Palsy

From cerebral palsy to developmental coordination disorder: Development of preclinical rat models corresponding to recent epidemiological changes

Jacques-Olivier Coq [a,*], Marine Kochmann [a], Diego C. Lacerda [a,b], Hanane Khalki [a,c], Maxime Delcour [d], Ana E. Toscano [b], Florence Cayetanot [a,e], Marie-Hélène Canu [f], Mary F. Barbe [g], Masahiro Tsuji [h]

[a] UMR 7289, CNRS, Aix-Marseille Université, institut de neurosciences de la Timone, 13385 Marseille, France
[b] CAV, Department of Nursing, Federal University of Pernambuco, Vitória de Santo Antão, Brazil
[c] Faculté polydisciplinaire de Beni Mellal, Mghila, Université Sultan Moulay Slimane, Beni Mellal, Morocco
[d] Département de neurosciences, université de Montréal, Montréal, Canada
[e] UMR_S1158 neurophysiologie respiratoire expérimentale et clinique, Sorbonne Université, Institut national de la santé et de la recherche médicale, Paris, France
[f] EA 7369 - URePSSS - unité de recherche pluridisciplinaire sport santé société, université de Lille, University Artois, University Littoral Côte d'Opale, 59000 Lille, France
[g] Lewis Katz School of Medicine, Temple University, 3500 North Broad Street, 19140 Philadelphia, PA, USA
[h] Department of Food and Nutrition, Kyoto Women's University, 605-8501 Higashiyama-ku, Kyoto, Japan

ARTICLE INFO

Article history:
Received 29 January 2019
Accepted 15 October 2019

Keywords:
Cerebral palsy
Prematurity
Developmental Coordination Disorder
Intrauterine growth retardation
Hypoperfusion
Sensorimotor restriction
White matter injury

ABSTRACT

Cerebral palsy (CP) is a complex syndrome of various sensory, motor and cognitive deficits. Its prevalence has recently decreased in some developed countries and its symptoms have also shifted since the 1960s. From the 1990s, CP has been associated with prematurity, but recent epidemiologic studies show reduced or absent brain damage, which recapitulates developmental coordination disorder (DCD). In previous studies, we developed a rat model based on mild intrauterine hypoperfusion (MIUH) that recapitulated the diversity of symptoms observed in preterm survivors. Briefly, MIUH led to early inflammatory processes, diffuse brain damage, minor locomotor deficits, musculoskeletal pathologies, neuroanatomical and functional disorganization of the primary somatosensory (S1) cortex but not in the motor cortex (M1), delayed sensorimotor reflexes, spontaneous hyperactivity, deficits in sensory information processing, and memory and learning impairments in adult rats. Adult MIUH rats also exhibited changes in muscle contractile properties and phenotype, enduring hyperreflexia and spasticity, as well as hyperexcitability in the sensorimotor cortex. We recently developed a rat model of DCD based on postnatal sensorimotor restriction (SMR) without brain damage. Briefly, SMR led to digitigrade locomotion (i.e., "toe walking") related to ankle-knee overextension, degraded musculoskeletal tissues (e.g., gastrocnemius atrophy), and lumbar hyperreflexia. The postnatal SMR then led to secondary degradation of the hind-limb maps in S1 and M1 cortices, altered cortical response properties and cortical hyperexcitability, but no brain damage. Thus, our 2 rat models appear to recapitulate the diversity of symptoms ranging from CP to DCD and contribute to understanding the emergence and mechanisms underlying the corresponding neurodevelopmental disorders. These preclinical models seem promising for testing strategies of rehabilitation based on both physical and cognitive training to promote adaptive brain plasticity and to improve physical body conditions.

© 2019 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

1. Introduction

The most common physical disability in children, cerebral palsy (CP), involves a group of disorder of movement and posture and of motor function, including spasticity (85–91% of cases) and is caused by a lesion, interference or abnormality that originates in

* Corresponding author.
E-mail address: jacques-olivier.coq@univ-amu.fr (J.-O. Coq).

https://doi.org/10.1016/j.rehab.2019.10.002
1877-0657/© 2019 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

the immature brain [1–4]. Refer to [1,5] for a comprehensive definition of CP. Nonetheless the complete path to CP is unclear in about 80% of cases. However, risk factors occur before, at and after birth and include preterm birth, multiple births, hypoxia-ischemia, infection, intrauterine growth retardation, indicators of intrapartum compromise, neonatal encephalopathy and congenital anomalies that usually converge toward perinatal chronic inflammation [2,3,6,7]. Comorbidities and functional limitations are common and invalidating, including chronic pain (75%), cognitive impairments along with sensory and perceptive deficits (50%), epilepsy (35%), musculoskeletal pathology (28%), and behavioral disorders (26%) [3,4].

From the 1960s to 2010s, the prevalence of CP has been fluctuating around 2.1‰, although declining trends have been reported in recent years from Europe, Japan and Australia [2,8]. The symptoms of CP have also shifted over the last decades. Briefly, before the 1990s, CP symptoms broadly included cystic brain damage associated with severe sensorimotor disorders and behavioral/cognitive impairments in at least 50% of cases. From the early 1990s, the symptoms of CP gradually evolved toward diffuse gray and white matter injury (WMI), mainly associated with moderate to severe sensorimotor disorders and behavioral/cognitive deficits (i.e., learning impairments, attention disorder and hyperactivity deficit [ADHD] and executive functions) in most cases. These changes appeared in relation to an increasing population of survivors of very low birth and very/extremely prematurity and correspond to encephalopathy of prematurity (EP), usually associated with placental inflammation as a major cause of spontaneous preterm delivery [2,4,9,10]. In the first part of this opinion paper, we summarize a series of prior studies devoted to intrauterine hypoperfusion that reproduces growth retardation at birth and the variety of EP and CP symptoms to better understand the underlying mechanisms.

Recent epidemiologic studies of CP show a tiny, gradual decrease in its prevalence and from reduction to the absence of brain damage in term babies and very and extremely preterm babies. This reduction seems associated with minor sensorimotor deficits associated with ADHD and mild to severe deficits in executive functions and learning abilities [2,5,8,11], corresponding to developmental coordination disorder (DCD), present in about 5% to 6% of school-age children [12,13]. In the *International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems*, *10th Revision*, DCD is referred to as a specific developmental disorder of motor function [14]. Without apparent brain damage but reduced white-matter organization in the sensorimotor networks [15], patients with DCD show reduced ability to produce consistent movements, poor motor coordination and kinaesthetic acuity, and broad impairments in sensorimotor representations and perception, each reflected by disrupted central networks [12,16–18]. DCD usually co-occurs with one or more other neurodevelopmental disorders, such as ADHD, specific language impairment, learning disorders, autism spectrum disorder (ASD), and developmental dyslexia or reading disorder [12,17–19]. For instance, children with ASD also exhibit gross or fine motor abnormalities, motor learning deficiencies and difficulties executing sequences of actions [20]. According to some authors, CP could be a continuum of DCD [17,21]. In fact, most children with EP, CP, DCD or ASD show sensorimotor impairments, reduced physical activity and interactions with their environment, and atypical motor development [5,17,18,20,22]. The latter is usually detected as atypical spontaneous or general movements (GMs) in those with CP or DCD [17,22–24]. As compared with typical GMs, atypical GMs correspond to rigid and cramped-synchronized and stereotyped movements that exhibit limited fluency, variation and complexity with increasing age [25]. Atypical, disturbed GMs appear to reflect impaired connectivity and functional organization of the brain [22,26]. Built on postnatal movement restriction, we developed a second animal model that provides limited and abnormal patterns of somatosensory inputs during development, which led to abnormal organization of the adult sensorimotor circuitry and enduring movement disorders, thus recapitulating most of the symptoms observed in DCD in children.

The present paper summarizes previous studies in which we developed animal models of EP based on mild intrauterine hypoperfusion (MIUH) or DCD originating from postnatal movement restriction during development. In this position paper, we emphasize the notion that neuromuscular interactions act as self-perpetuating cycles, in which the body and central nervous system (CNS) continuously interplay throughout reafference and motor commands. The presence of atypical sensorimotor experience related to perinatal brain damage and/or abnormal sensory inputs to the immature brain leads to developmental maladaptive plasticity, which in turn may lead to long-lasting disturbed motor commands and outputs. These abnormal motor outputs in turn produce atypical reafference and atypical sensorimotor experience that induce, maintain or even aggravate the neuroanatomical and/or functional disorganization of both the sensorimotor circuitry and CNS. Recently, Canu et al. (2019) emphasized that accurate rehabilitation should try to leave or exit from such self-perpetuating cycles [27] and promote social, parental and cognitive interactions and with the environment in general.

2. Animal model of cerebral palsy

To produce intrauterine growth retardation in rats, we performed astenosis of uterine arteries by first using ligation at embryonic day 17 (E17) and then metal-coated coils wrapped around intrauterine arteries at E17. In both procedures the blood flow perfusion in the placenta and fetus was reduced about 15% to 20% a few hours after stenosis and then returned to pre-stenosis levels at E20 [28–30]. Pups were delivered by spontaneous labor at E22 and those with weight < 5.5 g were considered growth retarded and part of the MIUH group [28,31–33]. Lower body weight persisted at postnatal day 56 (P56) after MIUH in both males and females but did not extend into adulthood (P90-100) [32].

2.1. Brain damage

MIUH at E17 led to myelination deficits in the corpus callosum and cingulum of rats from birth to P21 [31,34]. Hypomyelination and axonal degeneration persisted in the internal and external capsules, corpus callosum genu, and pontocerebellar tract and in white matter zones below the cingular and primary somatosensory (S1) cortices of adult MIUH rats (Fig. 1). No hypomyelination nor axonal degeneration was detected in white matter zones below the primary motor cortex (M1) or in the corticospinal tract. Degenerating axons were detected in the hippocampal CA3 region, lateral and medial entorhinal cortices and fornix but not in the prefrontal cortex. Massive astrogliosis was also observed in white matter associated with the cingular and S1 cortices, the hippocampal CA1, dentate gyrus, fornix, lateral and medial entorhinal cortices as well as enlargement of the lateral ventricles of adult MIUH rats [28,32,33,35]. Of interest, the severity of hypomyelination in these adult rats was correlated with the gradient of growth restriction at birth [31,33,34].

The thickness of the cerebral cortex and corpus callosum was reduced in MIUH rats [28,33]. MIUH decreased neuronal densities in S1, particularly inhibitory interneurons, and decreased the height of cortical grey matter in adult rats. In contrast, M1 showed no structural changes [33]. MIUH at E17 decreased neuronal

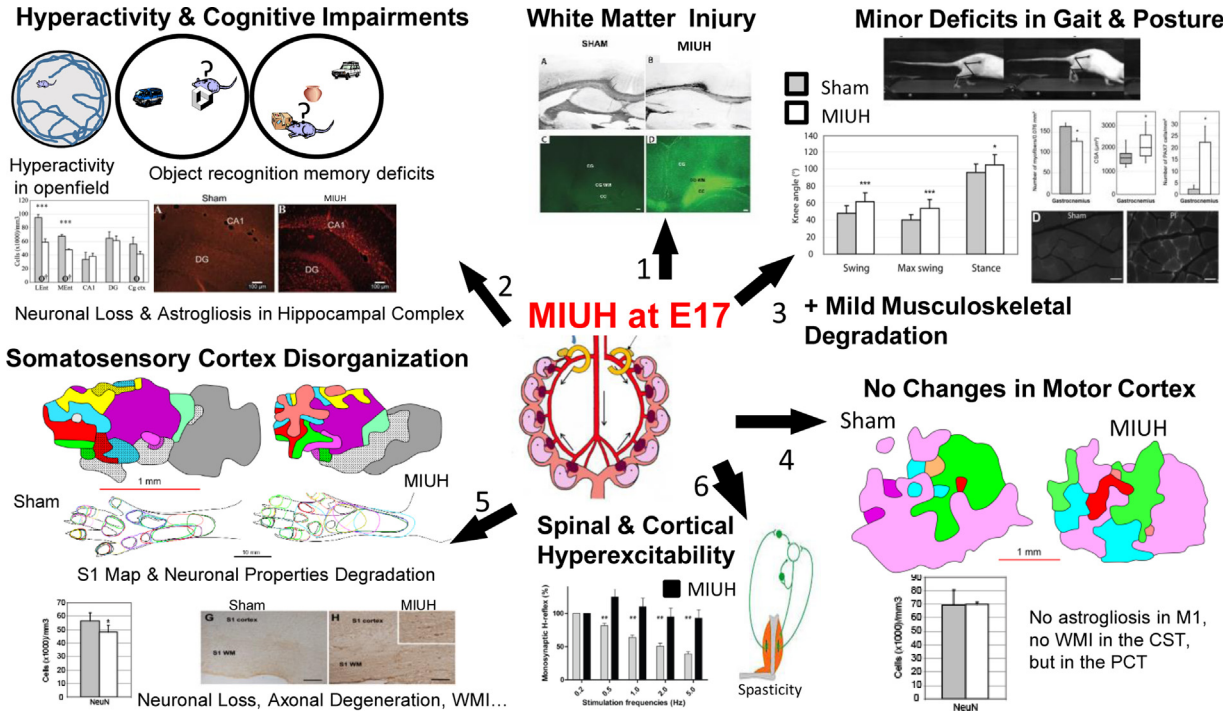


Fig. 1. Schematic summary of the diversity of symptoms that successfully reproduces our rat model of encephalopathy of prematurity, based on mild intrauterine hypoperfusion (MIUH) at embryonic day 17 (E17). See "Animal model of cerebral palsy" for details. WMI: white matter injury; S1: primary somatosensory cortex; CST: corticospinal tractus; PCT: pontocerebellar tractus.

density in the lateral and medial entorhinal cortices but not in the CA1, dentate gyrus of the hippocampus or cingulate cortex, in which the density of inhibitory interneurons was surprisingly increased [33,35].

Adult MIUH rats showed no obvious tissue damage, such as cystic and necrotic lesions or inflammatory cell infiltration [28]. In contrast, we found increased levels of inflammation-related chemokines and cytokines and ischemia-related proteins in placentas but only tendencies in MIUH fetuses at E20. We also found mRNA changes, indicative of incomplete axonal outgrowth and astrocyte dysfunction but little to no impairment of immature neurons and pre-oligodendrocytes in MIUH fetuses at E20 [28]. Common features observed with MRI in preterms with intrauterine growth restriction were diffused gray and white matter injuries and astrogliosis in various brain areas and ventricular enlargement and were usually associated with detrimental neurological outcomes [10,36]. Prematurity and the various brain injuries appeared related to imbalanced inflammation during pregnancy [6,7].

2.2. Behavioral and cognitive impairments

MIUH at E17 induced spontaneous locomotor hyperactivity mainly in the early phase of open-field tests, deficits in short-term and long-term memory in object recognition tasks, and disturbances in encoding spatial configurations and object features in adult rats (Fig. 1). However, we found no deficits in spatial learning or spatial working memory in Morris water maze tests. Of interest, the more the MIUH rats were growth-retarded at birth, the more they exhibited hyperactivity, degraded performances in memory tasks, astrogliosis in the fornix and decreased neuronal density in entorhinal cortices [35]. Associated with hippocampal and prefrontal cortex damage, these neurodevelopmental disorders are usually often encountered in preterm children in whom WMI, ADHD and/or CP develop [36,37].

2.3. Sensorimotor disturbances

For sham and MIUH rats, analyses of the 3D kinematics of locomotion on a treadmill for a speed of 0.23 $m.s^{-1}$ at P30 (juveniles) and P65 (young adults) showed comparable cadence and durations of the stance and swing during the stride. Despite apparent normal posture and gait, MIUH rats exhibited reduced length, amplitude and velocities of the foot during the stride phase when they were juvenile and young adults. Only adult MIUH rats showed a significant overextension of the knee and ankle that was compensated by an overflexion of the hip (Fig. 1). In addition, juvenile MIUH rats exhibited lower variations in many kinematic measures than age-matched controls, whereas with maturation, young-adult MIUH rats showed higher variations, suggestive of maturation deficits after MIUH [32]. Early WMI was strongly correlated with reduced motion range, movement complexity and variations and atypical GMs during development in preterm infants and children with CP [23,25].

Adult MIUH rats exhibited fewer myofibres overall, hypertrophy of the myofibres in the gastrocnemius and a greater variation in size of myofibers in the gastrocnemius (Fig. 1), rectus femoris and tibialis anterior [32]. They also exhibited changes in soleus muscle contractile properties toward a lower twitch tension and the persistence of neonatal myosin heavy chain isoform, showing abnormal maturation of muscle properties and phenotype [29]. More satellite cells in the gastrocnemius after MIUH suggested a prior injury to that muscle and now a repair or regeneration process because the myofiber number was reduced [32]. We detected mild knee and ankle joint chondromalacia after MIUH that could result from an imbalance in muscle forces across joints [32], as observed in people with CP [38]. Such mild changes in joints and muscles and minor gait abnormalities have been reported in people with CP [39] and suggest the possible presence of spasticity.

To evaluate signs of spasticity and spasms in adulthood after MIUH, corresponding to hyperexcitability in the spinal circuitry, we assessed changes in Hoffmann reflex (H-reflex) [40–42]. In post-activation depression (PAD), the monosynaptic H-reflex decreased with increasing stimulation frequency in sham rats, whereas PAD after MIUH tended to increase (Fig. 1), which suggests the presence of hyperreflexia and likely signs of spasticity in adult MIUH rats [29,41–43]. However, MIUH produced no significant alterations of both functional organization of the motor hind limb maps and M1 neuronal properties. No neuroanatomical changes were detected in M1 and no sign of axonal degeneration in the corticospinal tract, a main efferent tract of M1 [33].

Of interest, MIUH degraded the S1 neuronal properties and somatotopic maps, devoted to represent the hind-limb skin surfaces. This degradation was mainly characterized by a reduction in map size, enlarged and multiple receptive fields that encompassed several toes or pads simultaneously, leading to a topographic disorganization and a patchy representation in S1 (Fig. 1; see [33] for details). This disorganization appeared related to neuroanatomical changes in adult MIUH rats, such as lower densities of neurons, especially inhibitory interneurons, WMI below S1, astrogliosis and increased caspase reactivity (i.e., sign of inflammation), with no cystic lesions [33]. Abnormal lamination of the parietal cortex, presumably due to premature disruption of the cortical subplate, was associated with gait disturbances in adult rats exposed to comparable MIUH at E17-18 [9]. In addition to adult lumbar hyperexcitability, MIUH led to increased extracellular concentration of glutamate in the sensorimotor cortex as compared with sham treatment, but the extracellular concentration of gamma-aminobutyric acid (GABA) did not differ between the 2 groups by using *in vivo* microdialysis. Relative to sham treatment, in MIUH rats, the level of vesicular glutamate transporter (vGLUT1) in the sensorimotor cortex was increased about 40% and that of vesicular GABA transporter (vGAT) was reduced about 15% [29], which suggests adult cortical hyperexcitability after MIUH.

2.4. Early putative mechanisms

Like in adulthood, MIUH at E17 led to early hyperreflexia reflected by increased stretch H-reflex a few days after birth (P4-P6), suggestive of signs of spasticity [29]. At least two mechanisms are widely considered responsible for such hyperreflexia: increased excitability in motoneurons and reduced inhibition, the so-called disinhibition, within the lumbar spinal network [44]. Disinhibition of the myotatic reflex seems to be caused by reduced expression of the active form of K + -Cl- cotransporter 2 (KCC2), which abnormally increases the intracellular concentration of chloride ions and reverses the effect of GABA from hyperpolarization to depolarization [43,44]. We found that MIUH decreased the expression of both inactive and active forms of KCC2, which induced early hyperreflexia and may reflect spasticity, like after spinal cord injury in neonate rats [44]. Early and enduring increased stretch reflex and the possible presence of spasticity may be at the origin and persistence of the minor locomotor impairments found in adult MIUH [32].

Preterm infants and children with CP exhibit neuroinflammation processes from *in utero* to postnatal life [6,7]. We also found that MIUH had a deleterious impact mainly for placenta on the levels of proteins related to inflammation and ischemic/vascular injury [28]. Calpains, which are intracellular proteases activated by calcium influx during excitotoxicity, regulate cellular homeostasis, neuronal activity or apoptosis during development and in the mature CNS and appear crucial for typical neurodevelopment, including learning and memory [45]. Excessive calpain activity appears to degrade key proteins for neural function [32], such as KCC2 in the hippocampus and cortical layer IV after comparable MIUH at E18 [46]. Indeed, recent studies have shown the deleterious contribution of excess calpain activity to cleave KCC2, which becomes inactive and thus contributes to hyperexcitability [47], and to upregulate the persistent sodium current in motoneurons [48]. The latter can lead to the development of hyperreflexia, and likely spasms and spasticity, as shown after spinal cord injury [48]. Of note, postmortem cerebral samples from human preterm infants with WMI showed loss of KCC2 expression [49].

Thus, we suppose that MIUH-related intrauterine inflammation induces overactivity of calpains, which reduces the expression/function of KCC2 from postnatal to adult stages and leads to early and enduring hyperreflexia and likely to signs of spasticity and spasms, probably at the origin of the minor locomotor disorders and contractile dysfunctions observed in juvenile and adult MIUH rats (Fig. 2B). Then, hyperreflexia, musculoskeletal pathologies and gait deficits interplay to maintain each disorder and produce abnormal proprioceptive feedback/reafference to the immature spinal network, and finally to the S1 cortex, thus leading to disorganized sensorimotor circuitry from development to adulthood (Fig. 2B; [29]). In addition, MIUH reduced KCC2 expression/function [47] and altered the proliferation of oligodendrocyte precursors [6], which both may contribute to WMI, as found below the S1 cortex. In addition to atypical reafference, postnatal WMI below S1 may also contribute to the disorganization of the S1 maps and sensorimotor circuitry (Fig. 2B) through inappropriate information synchrony and maladaptive plasticity, which we previously postulated [50]. In addition to early lumbar hyperreflexia, such disorganization of the sensorimotor circuitry may in turn produce abnormal motor commands, which in turn may contribute to induce, maintain, or even aggravate altered muscle synergies, maturation and functional properties, as well as locomotor disturbances and musculoskeletal histopathology, into self-perpetuating cycles (Fig. 2B). Therefore, MIUH-related neuroinflammation may contribute to the structural and functional disorganization of the sensorimotor circuitry, including WMI, and to the brain disorganization including the hippocampal complex and prefrontal cortex, thereby leading to behavioral and cognitive impairments observed after MIUH (Fig. 2). Thus, MIUH appears to recapitulate the variety of symptoms observed in premature children in whom WMI, ADHD, EP and in some cases CP develop.

3. Animal model of developmental coordination disorder

Rat pups were submitted to postnatal movement deprivation leading to sensorimotor restriction (SMR) during development. To restrict movements, the feet of the pup were first tied together with medical tape and then attached to a cast made of epoxy stick 16 hr/day from P0/P1 to P28 (Fig. 3). The casts were well tolerated by the pups and mothers and allowed the pups to move at the hip, urinate, defecate and receive maternal care. The size of the casts was adapted to the growth of the rats [51–54]. Daily, while uncasted, the hind limb joints were passively moved by the investigators through their full range of motion. SMR induced a growth restriction during development up to P28 but not in adulthood [53,54].

3.1. Movement disorders

We analysed the 3D kinematics of locomotion on a treadmill for a speed of 0.23 $m.s^{-1}$ at P30 and P65. Although cadence and stride duration did not differ, the length, amplitude and velocities of the foot were lower overall in SMR rats than controls, reductions that persisted over time. SMR induced significant knee and ankle

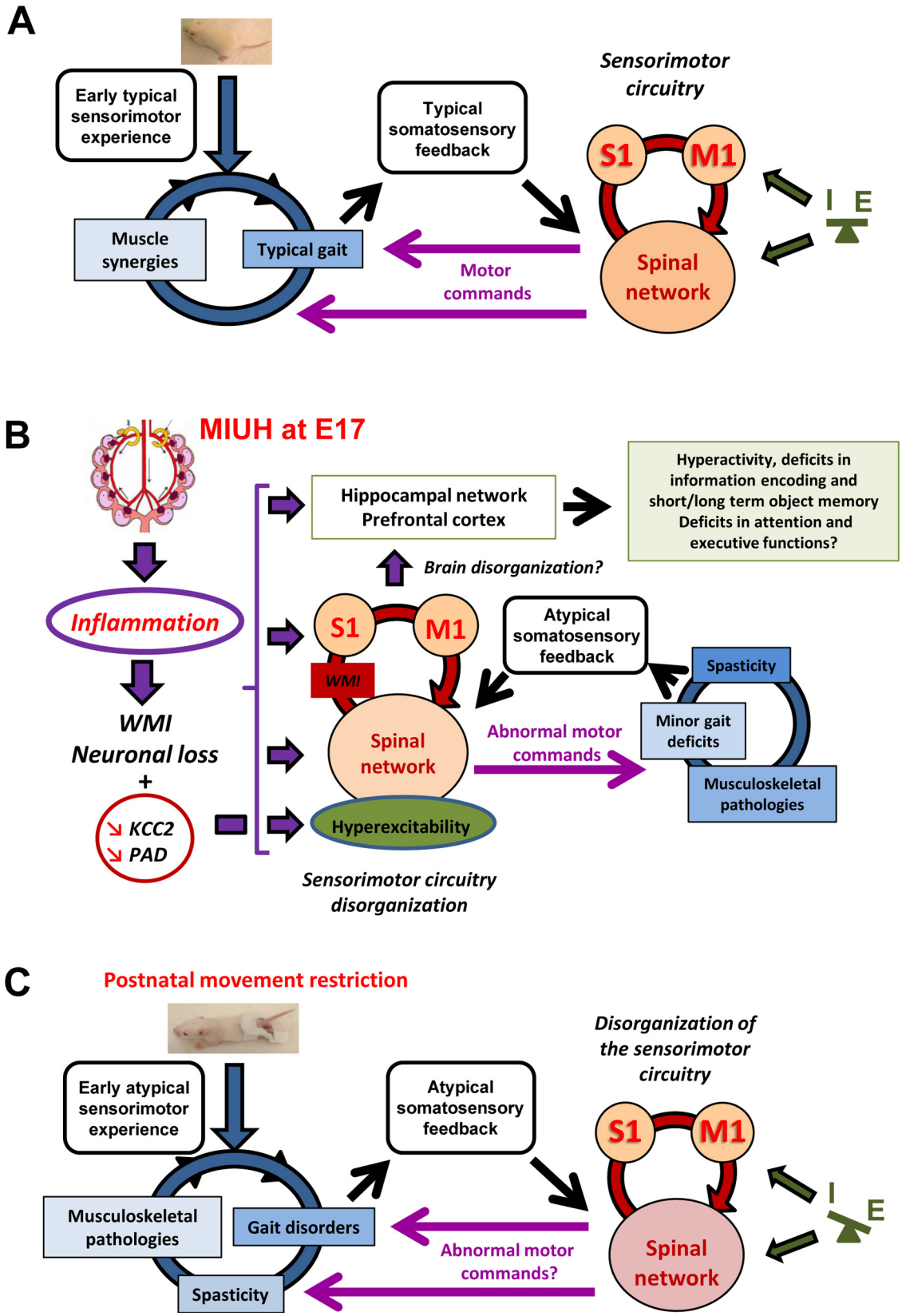


Fig. 2. Illustration of the putative interactions and processes underlying the emergence of movement disorders and brain plasticity. A. Schematic representation of the putative interactions between the different variables assessed (locomotion, musculoskeletal tissues, Hoffman-reflex, somatosensory and motor representations of the hind limb and excitation-inhibition neurotransmission in the sensorimotor cortex) that may occur during typical sensorimotor development in control rats. Daily activities provide early typical sensorimotor experience that allows muscle synergies and typical gait to interplay harmoniously. Normal movements during typical gait produce typical sensorimotor feedback to the immature brain, contributing to the development and refinement of connections, maps and functions (e.g., normal motor command to muscles that in turn contribute to muscle synergies and typical movements in a virtuous self-perpetuating cycle). Excitation–inhibition balance also participates in the refinement of neural maps and connections. S1: primary somatosensory cortex; M1: motor cortex. B. Schematic illustration of the detrimental impact of mild intrauterine hypoperfusion (MIUH) on neuromuscular interplay and brain disorganization. MIUH induces early inflammation and likely enhances immunoreactions that lead to diffuse WMI (loss of

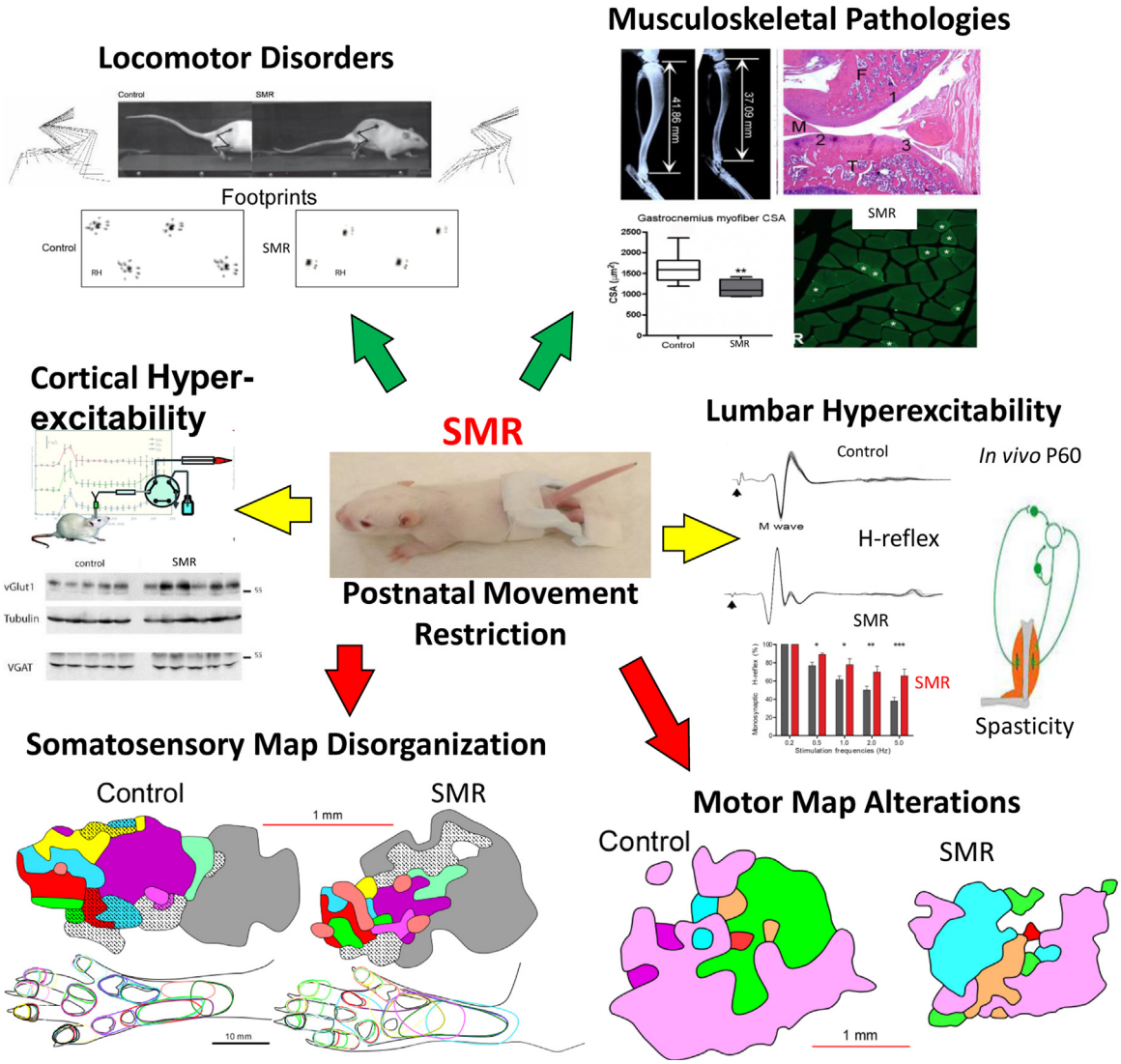


Fig. 3. Schematic summary of the variety of symptoms reproduced in our rat model of developmental coordination disorder based on early movement restriction. Such a hind-limb immobilization from birth to 1 month provides atypical sensorimotor experience during development. See text in "Animal model of developmental coordination disorder" for details. SMR: sensorimotor restriction.

overextension during automatic locomotion (Fig. 3), especially in the ankle in all gait phases examined, whereas the hip angle was unchanged. The maximal area of footprints of SMR rats was much smaller than that of control rats at P30 (Fig. 3). Control rats displayed a plantigrade locomotion [55], but SMR rats appeared to develop locomotor and postural features that recapitulate "toe walking" or true pes equinus, which is among the most common symptoms seen in children with spastic CP [56] or ASD [57]. SMR rats exhibited reduced gait velocity and shorter stride lengths, also observed in people with spastic CP [58]. Footprint analysis showed a switch from plantigrade locomotion in controls to digitigrade locomotion during SMR, which suggested differences in tactile and proprioceptive inputs to the CNS during and beyond movement restriction. Taken together, these results emphasize the deleterious impact of disturbed proprioceptive feedback on the development and control of gait and posture.

oligodendrocyte precursors) and neuronal loss in the developing central nervous system (CNS). Such a diffuse CNS damage leads to decreased levels/expression of ubiquitous KCC2, a K-Cl cotransporter that regulates chloride homeostasis and cell excitability from spine to brain. Such a decrease leads to lumbar spine hyperexcitability and the emergence of spasticity and muscular spasms in MIUH rats, as shown by reduced post-activation depression (PAD). In addition to reduced density of neurons, WMI below the S1 cortex interferes with typical integration of somatosensory inputs/reafference, leading to the functional disorganization of S1. Although the M1 cortex is not altered after MIUH, mild musculoskeletal degradation, locomotor impairments and signs of spasticity are observed in MIUH and appear to interplay in a detrimental self-perpetuating cycle. Does the sensorimotor circuitry disorganization also have an impact on brain neuroanatomy and functions, as observed after MIUH? How inflammation, WMI, KCC2 reduction and other factors after MIUH contribute to the brain disorganization is still an open question. C. Schematic illustration of the deleterious impact of postnatal sensorimotor restriction (SMR) on neuromuscular interplay. Movement restriction during postnatal hind limb immobilization provides early atypical sensorimotor experience that leads to gait disorders, musculoskeletal pathologies and hyperreflexia, as signs of spasticity. In turn, gait disorders and spastic muscles provide atypical somatosensory feedback/reafference to the immature sensorimotor circuitry, mainly the spinal network and the primary S1 and M1 cortices that intercommunicate. Such atypical somatosensory feedback likely degrades the functional organization of the somatosensory and motor maps and spinal network, thus producing abnormal motor commands that finally aggravate gait disorders, spasticity and musculoskeletal abnormalities into interrelated self-perpetuating cycles. Excitation–inhibition imbalances that tip the balance to hyperexcitability in sensorimotor hind limb cortices have more impact on the reorganization of somatosensory maps than on motor maps. Hyperexcitability in the lumbar spinal cord was previously shown as an enduring hyperreflexia in adult SMR rats. KCC2, K ± Cl- cotransporter 2; PAD, post-activation depression or rate-dependent depression.

In addition, the variations in most of the kinematics and joint angles decreased in control rats from P30 to P65, corresponding to typical gait plasticity in rats [23,32] or in humans [25]. In contrast, SMR led to increased variations in gait kinematic parameters but reduced joint angle variations; both persisting over time as compared with control rats. These results suggest differences both in the development and plasticity of locomotion over time and in the processing of somatosensory inputs [25,59] after SMR. Children with CP exhibited reduced repertoires of movements and behavioral strategies that match an overall reduction in gait variation [25,59]. However, high variation in cadence has been reported in children with CP, which leads invariably to delayed maturation of locomotion in older children with CP [58,59]. To a lesser extent than in CP, children with ASD also exhibited reduced postural stability and atypical gait, characterized by increased variations in stride length, posture and foot placement, reflecting impairments in the integration of somatosensory feedback [60].

Postnatal movement restriction and enduring locomotion disorders significantly altered joint, bone and muscle structure, but the passive range of motion of the hind limb joints was not affected during SMR. Tibial length and bone density appeared reduced, and the knee joint cartilage showed moderate degenerative changes in adult SMR rats (Fig. 3). Of note, SMR increased the weight load of the foot during weight support, but footprint area was reduced, which suggests unbalanced muscle forces. SMR induced marked reductions in the width, circumference, length and cross-sectional area of the gastrocnemius, suggestive of muscle atrophy (Fig. 3). Comparable changes were observed in the rectus femoris and tibialis anterior muscles, indicating atrophy in several hind limb muscles after SMR. These results demonstrate that early atypical motor experience degraded muscle structure and motor outputs, with enduring effects into adulthood. More satellite cells in SMR than control muscles were indicative of increased regeneration or repair processes in the muscle [32] and a response to the myofiber atrophy or constraint-induced injury [32]. Hallmarks of fibrotic tissue after muscle injury, including increased production of collagen type I and connective tissue growth factor were found after a similar SMR procedure [52]. Although the gastrocnemius tendon length was not altered by SMR, the muscle atrophy and shortened tibial bone was correlated with the gait disturbances and corroborate the observations in children with spastic CP [61]. Thus, we consider that the joint abnormalities were secondary changes related to an imbalance in muscle forces across the joints due to both atrophied myofibers in the various muscles acting on the knee and ankle [32,39] and digitigrade locomotion after SMR. Such an enduring musculoskeletal histopathology likely contributed to the emergence, persistence or aggravation of the gait and posture disorders in a self-perpetuating cycle (Fig. 2 C). In addition, we postulated that the enduring digitigrade locomotion, corresponding to equinus, was related to SMR because the experimenters were able to passively move the hind limb joints through their full range of motion, despite some resistance, during the daily uncasting period from P1 to P28 and after casting cessation during treadmill testing [53].

3.2. Maladaptive plasticity

To evaluate the possible presence of spasticity after SMR, reflected by hyperexcitability in the spinal circuitry, we assessed changes in the H-reflex [41]. In adult control rats, the H-reflex was depressed by repeated nerve stimulation with increasing frequencies, corresponding to post-activation depression (PAD). In contrast, PAD was reduced in adult SMR rats, which suggested signs of spasticity at 1 month after cessation of SMR. In the adult rat, 3 weeks of hind limb unloading increased the H-reflex gain [62]. Recently, botulinum toxin-related abolishment of sensory feedback and motor commands led to muscle atrophy and passive stiffness, maximal force reduction and increased stretch reflex in adult rats [63]. These studies combined emphasize the deleterious impact of abnormal somatosensory feedback on the emergence of signs of spasticity and spasms, muscle overactivity and related movement impairments.

Compared to control rats, adult SMR rats at 3 months after the end of SMR showed overall somatotopy and disrupted representation of contiguous skin surfaces of the foot S1 map. The total and glabrous somatosensory representation of the foot was reduced after SMR. Receptive fields (RFs) located on glabrous foot skin surfaces were about twice as large in SMR rats as in controls (Fig. 3), whereas the size of hairy-foot RFs did not differ significantly between the 2 groups, thereby confirming a specific impact of SMR on glabrous foot surfaces. This enlargement and more numerous multiple RFs led to overlapping glabrous RFs and less specific foot representations in SMR rats than controls, as denoted by orange cortical sectors (Fig. 3) pooling RFs encompassing 3 or more foot territories (i.e., toe or palmar pad). SMR increased the neural responsiveness to tactile stimulation, which indicates changes in neuronal properties and increased excitability in the somatosensory hind limb representation. Although the relative representation of each joint within the cortical motor map did not change in SMR rats, the total area for hind-limb motor maps was greatly reduced. In addition, the reduction of the minimal stimulation thresholds after SMR revealed an increase in motor excitability.

Furthermore, the extracellular concentration of glutamate was greater in SMR rats than in controls, but the extracellular concentration of GABA did not differ after SMR by using *in vivo* microdialysis. The amount of vesicular glutamate transporter (vGLUT1) increased about 90% in SMR rats and that of vGAT did not differ, which suggests a cortical hyperexcitability in the sensorimotor cortex after SMR (Fig. 3). No evidence of histopathology was observed in the somatosensory, motor and cingular cortices or underlying white matter, including in the corpus callosum of any SMR rat as compared with control rats. In addition, there were no signs of axonal degeneration, astrogliosis or neuroinflammation in the brains or spinal cords of control and SMR animals. The numerical density of neurons and GABAergic interneurons did not differ between SMR and control rats in either the S1 or M1 cortex. Thus, SMR appeared to have no significant impact on brain neuroanatomy, as compared with controls but only on functional organization.

Preliminary data showed that SMR delays the emergence of sensorimotor reflexes, such as negative geotaxis, cliff avoidance, and surface righting reflex; induces hyperactivity and over-exploration of objects; and impairs integration of sensory information and working memory in object recognition memory tasks. It also seems to impair some executive functions in the elevated plus maze and social interactions tasks (unpublished data). Thus, in the absence of brain damage, the long-lasting locomotor disorders, hind-limb musculoskeletal histopathology, hyperreflexia and functional disorganization of the adult sensorimotor cortex, as well as signs of hyperactivity, executive dysfunctions and impairments in short-term memory, recapitulate several symptoms and neurological features observed in people with ASD and DCD in general [12,13,17,18,26,54,64].

3.3. Putative interactions and processes underlying maladaptive plasticity related to SMR

We postulate that early limited and abnormal patterns of movements during SMR provide atypical sensorimotor experience at the origin of adult locomotor disorders (e.g., digitigrade gait), increased stretch reflex (i.e., lumbar spinal cord hyperexcitability,

spasticity, spasms, contractures etc.) and musculoskeletal tissue degeneration (Fig. 2C) as compared with typical sensorimotor development in controls (Fig. 2A). Our results suggest the existence of a self-perpetuating cycle, in which musculoskeletal pathologies likely contribute to muscle overactivity and locomotor disorders. Spasticity and related muscle disorders may in turn contribute to enhanced musculoskeletal and locomotion disturbances (Fig. 2C). As a consequence, degraded movements due to spastic muscles and digitigrade locomotion likely produce atypical somatosensory feedback to the immature sensorimotor circuitry, including the lumbar spinal circuitry involved in automatic gait, and primary somatosensory and motor cortices associated with other subcortical structures in the sensorimotor loop [65]. In the absence of brain damage, this atypical somatosensory reafference probably triggers and maintains the functional disorganization of both the somatosensory and motor cortical maps and lumbar spinal cord, involved in both motor commands during automatic locomotion and the emergence of muscle overactivity and paresis (Fig. 2 C; [59,66]). The functional disorganization of the sensorimotor circuitry may in turn produce atypical or aberrant motor commands, such as abnormal muscle synergies involved in gait disorders observed in immobilized patients with stroke [67,68]. Thus, we propose the existence of 3 interplaying, self-perpetuating cycles: the first is related to peripheral changes, including gait disorders, increased stretch reflex and musculoskeletal pathologies (Fig. 2 C); the second involves the sensorimotor circuitry; and the third corresponds to interactions between the peripheral and central circuitry that are interconnected by the somatosensory reafference (altered by abnormal movements) and atypical motor commands that drive abnormal movements (Fig. 2 C). The movement disorders and maladaptive reorganization in the lumbar spine, somatosensory and motor cortices observed after early SMR appear to recapitulate several symptoms and neurological features found in people with CP, ASD, and DCD in general [12,17,26,58,69].

4. Conclusion

Children with CP or DCD share early aberrant sensorimotor experiences resulting from atypical spontaneous or general movements [23,24,69] and exhibit neuroanatomical and/or functional disorganization, especially inabilities in processing and integrating sensory information [20,69,70]. In addition, general movements are predictive of neural, motor and cognitive outcomes in children with CP and DCD [12,22,24,26,69]. Thus, our animal studies MIUH and postnatal SMR support the idea that developmental maladaptive plasticity may lead to long-lasting disturbances of motor outputs, as observed in CP and DCD, and point out the pertinence of early rehabilitative programs, such as the Care Toy System [71] or HABIT-ILE [72]. According to the self-perpetuating cycles and putative mechanisms described above, we strongly believe that rehabilitation needs to focus on physical and cognitive training leading to adaptive brain plasticity and improve the physical body situation, because both appear to continuously interplay. In case of perinatal brain damage, we consider that early therapy based on mesenchymal stem cells may reduce early neuroinflammation and thus diffuse brain lesions and subsequently alleviate or prevent the emergence of neurodevelopmental disorders [73]. Strong efforts are still required to assess short- and long-term effects and consequences of stem-cell therapy on body and brain reorganization.

Disclosure of interest

The authors declare that they have no competing interest.

Acknowledgements

This work was supported by La Fondation Paralysie Cérébrale (previously Fondation Motrice), the Cerebral Palsy Alliance, Fondation NRJ – Institut de France, Région Provence-Alpes-Côte-d'Azur, the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Aix-Marseille Université, the National Cerebral and Vascular Center in Osaka, the Ministère des Affaires Etrangères et du Développement International, the National Institute of Mental Health of the National Institute of Health (Award #P30 MH092177) and Temple University.

References

[1] Rosenbaum P, Paneth N, Leviton A, Goldstein M, Bax M, Damiano D, et al. A report: the definition and classification of cerebral palsy April 2006. Dev Med Child Neurol Suppl 2007;109:8–14.
[2] Galea C, Mcintyre S, Smithers-Sheedy H, Reid SM, Gibson C, Delacy M, et al. Cerebral palsy trends in Australia (1995-2009): A Population-Based Observational Study. Dev Med Child Neurol 2019;61:186–93. http://dx.doi.org/10.1111/dmcn.14011.
[3] Novak I, Morgan C, Adde L, Blackman J, Boyd RN, Brunstrom-Hernandez J, et al. Early, accurate diagnosis and early intervention in cerebral palsy: advances in diagnosis and treatment. JAMA Pediatr 2017;171:897–907. http://dx.doi.org/10.1001/jamapediatrics.2017.1689.
[4] Graham HK, Rosenbaum P, Paneth N, Dan B, Lin J-P, Damiano DL, et al. Cerebral palsy. Nat Rev Dis Primer 2016;2:15082. http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2015.82.
[5] Chabrier S, Pouyfaucon M, Chatelin A, Bleyenheuft Y, Fluss J, Gautheron V, et al. From congenial paralysis to post-early brain injury developmental condition: Where does cerebral palsy actually stand? Ann Phys Rehabil Med 2019. http://dx.doi.org/10.1016/j.rehab.2019.07.003 [In press].
[6] Hagberg H, Mallard C, Ferriero DM, Vannucci SJ, Levison SW, Vexler ZS, et al. The role of inflammation in perinatal brain injury. Nat Rev Neurol 2015. http://dx.doi.org/10.1038/nrneurol.2015.13 [In press].
[7] Kalagiri RR, Carder T, Choudhury S, Vora N, Ballard AR, Govande V, et al. Inflammation in complicated pregnancy and its outcome. Am J Perinatol 2016;33:1337–56. http://dx.doi.org/10.1055/s-0036-1582397.
[8] Sellier E, Platt MJ, Andersen GL, Krägeloh-Mann I, De La Cruz J, Cans C, et al. Decreasing prevalence in cerebral palsy: A Multi-Site European Population-Based Study, 1980 to 2003. Dev Med Child Neurol 2016;58:85–92. http://dx.doi.org/10.1111/dmcn.12865.
[9] Jantzie LL, Robinson S. Preclinical models of encephalopathy of prematurity. Dev Neurosci 2015;37:277–88. http://dx.doi.org/10.1159/000371721.
[10] Volpe JJ. Brain injury in premature infants: a complex amalgam of destructive and developmental disturbances. Lancet Neurol 2009;8:110–24. http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(08).
[11] Rogers CE, Lean RE, Wheelock MD, Smyser CD. Aberrant structural and functional connectivity and neurodevelopmental impairment in preterm children. J Neurodev Disord 2018;10:38. http://dx.doi.org/10.1186/s11689-018-9253-x.
[12] Zwicker JG, Missiuna C, Harris SR, Boyd LA. Developmental coordination disorder: a review and update. Eur J Paediatr Neurol 2012;16:573–81. http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpn.2012.05.005.
[13] Blank R, Barnett AL, Cairney J, Green D, Kirby A, Polatajko H, et al. International clinical practice recommendations on the definition, diagnosis, assessment, intervention, and psychosocial aspects of developmental coordination disorder. Dev Med Child Neurol 2019. http://dx.doi.org/10.1111/dmcn.14132 [In press].
[14] World Health Organization. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems, 10th Revision. Geneva: World Health Organization; 2016, https://icd.who.int/browse10/2016/en#/F82. [Httpappswhointclassif Icationsicd10browse2016enF82 2016].
[15] Wilson PH, Smits-Engelsman B, Caeyenberghs K, Steenbergen B, Sugden D, Clark J, et al. Cognitive and neuroimaging findings in developmental coordination disorder: new insights from a systematic review of recent research. Dev Med Child Neurol 2017;59:1117–29. http://dx.doi.org/10.1111/dmcn.13530.
[16] Kashuk SR, Williams J, Thorpe G, Wilson PH, Egan GF. Diminished motor imagery capability in adults with motor impairment: An fMRI Mental Rotation Study. Behav Brain Res 2017;334:86–96. http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2017.06.042.
[17] Vaivre-Douret L, Lalanne C, Golse B. Developmental coordination disorder, an umbrella term for motor impairments in children: nature and co-morbid disorders. Front Psychol 2016;7:e502.
[18] Paquet A, Olliac B, Golse B, Vaivre-Douret L. Nature of motor impairments in autism spectrum disorder: A comparison with developmental coordination disorder. J Clin Exp Neuropsychol 2019;41:1–14. http://dx.doi.org/10.1080/13803395.2018.1483486.
[19] Gomez A, Sirigu A. Developmental coordination disorder: core sensori-motor deficits, neurobiology and etiology. Neuropsychologia 2015;79:272–87. http://dx.doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2015.09.032.
[20] Chinello A, Di Gangi V, Valenza E. Persistent primary reflexes affect motor acts: potential implications for autism spectrum disorder. Res Dev Disabil 2016;16:30154–8. http://dx.doi.org/10.1016/j.ridd.2016.07.010.

[21] Pearsall-Jones JG, Piek JP, Levy F. Developmental coordination disorder and cerebral palsy: categories or a continuum? Hum Mov Sci 2010;29:787–98. http://dx.doi.org/10.1016/j.humov.2010.04.006.
[22] Zuk L. Fetal and infant spontaneous general movements as predictors of developmental disabilities. Dev Disabil Res Rev 2011;17:93–101. http://dx.doi.org/10.1002/ddrr.1104.
[23] Einspieler C, Peharz R, Marschik PB. Fidgety movements–tiny in appearance, but huge in impact. J Pediatr (Rio J) 2016;92:S64–70. http://dx.doi.org/10.1016/j.jped.2015.12.003.
[24] Phagava H, Muratori F, Einspieler C, Maestro S, Apicella F, Guzzetta A, et al. General movements in infants with autism spectrum disorders. Georgian Med News 2008;100:100–5.
[25] Hadders-Algra M. Variation and variability: key words in human motor development. Phys Ther 2010;90:1823–37.
[26] Einspieler C, Sigafoos J, Bölte S, Bratl-Pokorny KD, Landa R, Marschik PB. Highlighting the first 5 months of life: general movements in infants later diagnosed with autism spectrum disorder or Rett Syndrome. Res Autism Spectr Disord 2014;8:286–91. http://dx.doi.org/10.1016/j.rasd.2013.12.013.
[27] Canu M-H, Fourneau J, Coq JO, Dannhoffer L, Cieniewski-Bernard C, Stevens L, et al. Interplay between hypoactivity, muscle properties and motor command: how to escape the vicious deconditioning circle? Ann Phys Rehabil Med 2019;62:122–7. http://dx.doi.org/10.1016/j.rehab.2018.09.009.
[28] Ohshima M, Coq JO, Otani K, Hattori Y, Ogawa Y, Sato Y, et al. Mild intrauterine hypoperfusion reproduces neurodevelopmental disorders observed in prematurity. Sci Rep 2016;6:39377. http://dx.doi.org/10.1038/srep39377.
[29] Coq JO, Delcour M, Ogawa Y, Peyronnet J, Castets F, Turle-Lorenzo N, et al. Mild intrauterine hypoperfusion leads to lumbar and cortical hyperexcitability, spasticity, and muscle dysfunctions in rats: implications for prematurity. Front Neurol 2018;9:423. http://dx.doi.org/10.3389/fneur.2018.00423.
[30] Tsuji M, Coq JO, Ogawa Y, Yamamoto Y, Ohshima M. A Rat Model of Mild Intrauterine Hypoperfusion with Microcoil Stenosis. J Vis Exp 2018. http://dx.doi.org/10.3791/56723.
[31] Olivier P, Baud O, Evrard P, Gressens P, Verney C. Prenatal ischemia and white matter damage in rats. J Neuropathol Exp Neurol 2005;64:998–1006.
[32] Delcour M, Russier M, Xin D, Massicotte VS, Barbe MF, Coq JO. Mild musculoskeletal and locomotor alterations in adult rats with white matter injury following prenatal ischemia. Int J Dev Neurosci 2011;29:593–607.
[33] Delcour M, Olivier P, Chambon C, Pansiot J, Russier M, Liberge M, et al. Neuroanatomical, sensorimotor and cognitive deficits in adult rats with white matter injury following prenatal ischemia. Brain Pathol 2012;22:1–16.
[34] Olivier P, Baud O, Bouslama M, Evrard P, Gressens P, Verney C. Moderate growth restriction: deleterious and protective effects on white matter damage. Neurobiol Dis 2007;26:253–63. http://dx.doi.org/10.1016/j.nbd.2007.01.001.
[35] Delcour M, Russier M, Amin M, Baud O, Paban V, Barbe MF, et al. Impact of prenatal ischemia on behavior, cognitive abilities and neuroanatomy in adult rats with white matter damage. Behav Brain Res 2012;232:233–44.
[36] Pascal A, Govaert P, Oostra A, Naulaers G, Ortibus E, Van den Broeck C. Neurodevelopmental outcome in very preterm and very-low-birthweight infants born over the past decade: a meta-analytic review. Dev Med Child Neurol 2018;60:342–55. http://dx.doi.org/10.1111/dmcn.13675.
[37] Delobel-Ayoub M, Arnaud C, White-Koning M, Casper C, Pierrat V, Garel M, et al. Behavioral problems and cognitive performance at 5 years of age after very preterm birth: the EPIPAGE Study. Pediatrics 2009;123:1485–92. http://dx.doi.org/10.1542/peds.2008-1216.
[38] Bernard J-C. La marche de l'infirme moteur cérébral enfant et adulte. Paris: Springer-Verlag France, Paris; 2005.
[39] Pierce SR, Barbe MF, Barr AE, Shewokis PA, Lauer RT. Co-contraction during passive movements of the knee joint in children with cerebral palsy. Clin Biomech Bristol Avon 2007;22:1045–8. http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiomech.2007.08.003.
[40] Sheean G. The pathophysiology of spasticity. Eur J Neurol 2002;9:3–9 [dicussion 53-61].
[41] Dietz V, Sinkjaer T. Spastic movement disorder: impaired reflex function and altered muscle mechanics. Lancet Neurol 2007;6:725–33. http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(07)70193-X.
[42] Baude M, Nielsen JB, Gracies J-M. The neurophysiology of deforming spastic paresis: a revised taxonomy. Ann Phys Rehabil Med 2018. http://dx.doi.org/10.1016/j.rehab.2018.10.004.
[43] Boulenguez P, Liabeuf S, Bos R, Bras H, Jean-Xavier C, Brocard C, et al. Down-regulation of the potassium-chloride cotransporter KCC2 contributes to spasticity after spinal cord injury. Nat Med 2010;16:302–7. http://dx.doi.org/10.1038/nm.2107 [In press].
[44] Gackière F, Vinay L. Contribution of the potassium-chloride cotransporter KCC2 to the strength of inhibition in the neonatal rodent spinal cord in vitro. J Neurosci 2015;35:5307–16. http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI. 1674-14.2015.
[45] Baudry M, Bi X. Calpain-1 and Calpain-2: The Yin and Yang of Synaptic Plasticity and Neurodegeneration. Trends Neurosci 2016;39:235–45. http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2016.01.007.
[46] Jantzie LL, Getsy PM, Firl DJ, Wilson CG, Miller RH, Robinson S. Erythropoietin attenuates loss of potassium chloride co-transporters following prenatal brain injury. Mol Cell Neurosci 2014;61:152–62. http://dx.doi.org/10.1016/j.mcn.2014.06.009.
[47] Jantzie LL, Winer JL, Corbett CJ, Robinson S. Erythropoietin modulates cerebral and serum degradation products from excess calpain activation following prenatal hypoxia-ischemia. Dev Neurosci 2016;38:15–26. http://dx.doi.org/10.1159/000441024.
[48] Brocard C, Plantier V, Boulenguez P, Liabeuf S, Bouhadfane M, Viallat-Lieutaud A, et al. Cleavage of Na+ channels by calpain increases persistent Na+ current and promotes spasticity after spinal cord injury. Nat Med 2016;22:404–11. http://dx.doi.org/10.1038/nm.4061.
[49] Robinson S, Mikolaenko I, Thompson I, Cohen ML, Goyal M. Loss of cation-chloride cotransporter expression in preterm infants with white matter lesions: implications for the pathogenesis of epilepsy. J Neuropathol Exp Neurol 2010;69:565–72. http://dx.doi.org/10.1097/NEN.0b013e3181dd25bc.
[50] Coq JO, Delcour M, Massicotte VS, Baud O, Barbe MF. Prenatal ischemia deteriorates white matter, brain organization, and function: implications for prematurity and cerebral palsy. Dev Med Child Neurol 2016;58:7–511.
[51] Strata F, Coq JO, Byl N, Merzenich MM. Effects of sensorimotor restriction and anoxia on gait and motor cortex organization: implications for a rodent model of cerebral palsy. Neuroscience 2004;129:141–56.
[52] Coq JO, Strata F, Russier M, Safadi FF, Merzenich MM, Byl NN, et al. Impact of neonatal asphyxia and hind limb immobilization on musculoskeletal tissues and S1 map organization: implications for cerebral palsy. Exp Neurol 2008;210:95–108.
[53] Delcour M, Massicotte V, Russier M, Bras H, Peyronnet J, Canu M-H, et al. Early movement restriction leads to enduring disorders in muscle and locomotion. Brain Pathol 2018;28:889–901. http://dx.doi.org/10.1111/bpa.12594.
[54] Delcour M, Russier M, Castets F, Turle-Lorenzo N, Canu M-H, Cayetanot F, et al. Early movement restriction leads to maladaptive plasticity in the sensorimotor cortex and to movement disorders. Sci Rep 2018;8:16328. http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-34312-y.
[55] Riesenfeld A. Metatarsal robusticity in bipedal rats. Am J Phys Anthropol 1972;36:229–33. http://dx.doi.org/10.1002/ajpa.1330360211.
[56] Rodda JM, Graham HK, Carson L, Galea MP, Wolfe R. Sagittal gait patterns in spastic diplegia. J Bone Joint Surg Br 2004;86:251–8.
[57] Vilensky JA, Damasio AR, Maurer RG. Gait disturbances in patients with autistic behavior: a preliminary study. Arch Neurol 1981;38:646–9.
[58] Cappellini G, Ivanenko YP, Martino G, MacLellan MJ, Sacco A, Morelli D, et al. Immature spinal locomotor output in children with cerebral palsy. Front Physiol 2016;7:478.
[59] Leonard C, Hirschfeld H, Forssberg H. Gait acquisition and reflex abnormalities in normal children and children with cerebral palsy. Posture Gait Dev. Adapt. Modul. Proc. 9th Int. Symp. Postural Gait Res. Marseille Fr. 1988. B. Amblard, A Berthoz, F Clarac, Excerpta Medica; 1988;33–45.
[60] Parma V, de Marchena AB. Motor signatures in autism spectrum disorder: the importance of variability. J Neurophysiol 2016;115:1081–4. http://dx.doi.org/10.1152/jn.00647.2015.
[61] Wren TAL, Cheatwood AP, Rethlefsen SA, Hara R, Perez FJ, Kay RM. Achilles tendon length and medial gastrocnemius architecture in children with cerebral palsy and equinus gait. J Pediatr Orthop 2010;30:479–84.
[62] Anderson J, Almeida-Silveira MI, Perot C. Reflex and muscular adaptations in rat soleus muscle after hindlimb suspension. J Exp Biol 1999;202:2701–7.
[63] Pingel J, Hultborn H, Naslund-Koch L, Jensen DB, Wienecke J, Nielsen JB. Muscle disuse caused by botulinum toxin injection leads to increased central gain of the stretch reflex in the rat. J Neurophysiol 2017;118:1962–9. http://dx.doi.org/10.1152/jn.00276.2017.
[64] Setoh P, Marschik PB, Einspieler C, Esposito G. Autism spectrum disorder and early motor abnormalities: Connected or coincidental companions? Res Dev Disabil 2017;60:13–5. http://dx.doi.org/10.1016/j.ridd.2016.11.001.
[65] Blumberg MS, Dooley JC. Phantom limbs, neuroprosthetics, and the developmental origins of embodiment. Trends Neurosci 2017;40:603–12. http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2017.07.003.
[66] Clarac F, Brocard F, Vinay L. The maturation of locomotor networks. Prog Brain Res 2004;143:57–66.
[67] Gracies J-M. Pathophysiology of spastic paresis. I: Paresis and soft tissue changes. Muscle Nerve 2005;31:535–51. http://dx.doi.org/10.1002/mus.20284.
[68] Gracies J-M. Pathophysiology of spastic paresis. II: Emergence of muscle overactivity. Muscle Nerve 2005;31:552–71. http://dx.doi.org/10.1002/mus.20285.
[69] Hadders-Algra M. Neural substrate and clinical significance of general movements: an update. Dev Med Child Neurol 2018;60:39–46. http://dx.doi.org/10.1111/dmcn.13540.
[70] Johnston JS, Begum Ali J, Hill EL, Bremner AJ. Tactile localization performance in children with developmental coordination disorder (DCD) corresponds to their motor skill and not their cognitive ability. Hum Mov Sci 2017;53:72–83. http://dx.doi.org/10.1016/j.humov.2016.12.008.
[71] Sgandurra G, Lorentzen J, Inguaggiato E, Bartalena L, Beani E, Cecchi F, et al. A randomized clinical trial in preterm infants on the effects of a home-based early intervention with the "CareToy System". PLOS One 2017;12:e0173521. http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0173521.
[72] Paradis J, Arnould C, Thonnard J-L, Houx L, Pons-Becmeur C, Renders A, et al. Responsiveness of the ACTIVLIM-CP questionnaire: measuring global activity performance in children with cerebral palsy. Dev Med Child Neurol 2018;60:1178–85. http://dx.doi.org/10.1111/dmcn.13927.
[73] Tanaka E, Ogawa Y, Mukai T, Sato Y, Hamazaki T, Nagamura-Inoue T, et al. Dose-dependent effect of intravenous administration of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells in neonatal stroke mice. Front Neurol 2018;9. http://dx.doi.org/10.3389/fneur.2018.00133.

PARTIE VI : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

« J'ai été élevé par une bibliothèque. »

-

Jules Renard

Adrian, E.D. and Umrath, K. (1929) 'The impulse discharge from the pacinian corpuscle', *The Journal of Physiology*, 68(2), pp. 139–154. doi:10.1113/jphysiol.1929.sp002601.

Akay, T. *et al.* (2014) 'Degradation of mouse locomotor pattern in the absence of proprioceptive sensory feedback', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(47), pp. 16877–16882. doi:10.1073/pnas.1419045111.

Altman, J. and Bayer, S.A. (1984) 'The development of the rat spinal cord', *Advances in Anatomy, Embryology, and Cell Biology*, 85, pp. 1–164. doi:10.1007/978-3-642-69537-7.

Altman, J. and Sudarshan, K. (1975) 'Postnatal development of locomotion in the laboratory rat', *Animal behaviour*, 23, pp. 896–920.

Alvarez, F.J. and Fyffe, R.E. (2007) 'The continuing case for the Renshaw cell', *The Journal of physiology*, 584(1), pp. 31–45.

An, S., Kilb, W. and Luhmann, H.J. (2014) 'Sensory-evoked and spontaneous gamma and spindle bursts in neonatal rat motor cortex', *Journal of Neuroscience*, 34(33), pp. 10870–10883.

Anderson, J., Almeida-Silveira, M.I. and Pérot, C. (1999) 'Reflex and muscular adaptations in rat soleus muscle after hindlimb suspension', *The Journal of Experimental Biology*, 202(Pt 19), pp. 2701–2707.

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 Physiologica Scandinavica*, 113(1), pp. 89–101. doi:10.1111/j.1748-1716.1981.tb06867.x.

Andersson, O. and Grillner, S. (1983) 'Peripheral control of the cat's step cycle. II. Entrainment of the central pattern generators for locomotion by sinusoidal hip movements during "fictive locomotion."', *Acta Physiologica Scandinavica*, 118(3), pp. 229–239. doi:10.1111/j.1748-1716.1983.tb07267.x.

Andresen, S.R. *et al.* (2016) 'Pain, spasticity and quality of life in individuals with traumatic spinal cord injury in Denmark', *Spinal cord*, 54(11), pp. 973–979.

Auclair, F., Bélanger, M.C. and Marchand, R. (1993) 'Ontogenetic study of early brain stem projections to the spinal cord in the rat', *Brain Research Bulletin*, 30(3–4), pp. 281–289. doi:10.1016/0361-9230(93)90256-b.

Bácskai, T. *et al.* (2014) 'Musculotopic organization of the motor neurons supplying the mouse hindlimb muscles: a quantitative study using Fluoro-Gold retrograde tracing', *Brain Structure & Function*, 219(1), pp. 303–321. doi:10.1007/s00429-012-0501-7.

Baldissera, F., Broggi, G. and Mancia, M. (1966) 'Monosynaptic and polysynaptic spinal reflexes during physiological sleep and wakefulness', *Archives Italiennes De Biologie*, 104(1), pp. 112–133.

Banks, R.W. (1994) 'The motor innervation of mammalian muscle spindles', *Progress in Neurobiology*, 43(4–5), pp. 323–362. doi:10.1016/0301-0082(94)90059-0.

Banks, R.W. *et al.* (2009) 'A comparative analysis of the encapsulated end-organs of mammalian skeletal muscles and of their sensory nerve endings', *Journal of Anatomy*, 214(6), pp. 859–887. doi:10.1111/j.1469-7580.2009.01072.x.

Banks, R.W. (2015) 'The innervation of the muscle spindle: a personal history', *Journal of Anatomy*, 227(2), pp. 115–135. doi:10.1111/joa.12297.

Barbeau, H. and Rossignol, S. (1987) 'Recovery of locomotion after chronic spinalization in the adult cat', *Brain Research*, 412(1), pp. 84–95. doi:10.1016/0006-8993(87)91442-9.

Basso, N. and Heersche, J.N.M. (2006) 'Effects of hind limb unloading and reloading on nitric oxide synthase expression and apoptosis of osteocytes and chondrocytes', *Bone*, 39(4), pp. 807–814. doi:10.1016/j.bone.2006.04.014.

Behrends, T., Schomburg, E.D. and Steffens, H. (1983a) 'Facilitatory interaction between cutaneous afferents from low threshold mechanoreceptors and nociceptors in segmental reflex pathways to α-motoneurons', *Brain research*, 260(1), pp. 131–134.

Behrends, T., Schomburg, E.D. and Steffens, H. (1983b) 'Group II muscle afferents and low threshold mechanoreceptive skin afferents converging onto interneurons in a common reflex pathway to α-motoneurons', *Brain research*, 265(1), pp. 125–128.

Behunova, J. *et al.* (2019) 'Distal Arthrogryposis with Impaired Proprioception and Touch: Description of an Early Phenotype in a Boy with Compound Heterozygosity of PIEZO2 Mutations and Review of the Literature', *Molecular Syndromology*, 9(6), pp. 287–294. doi:10.1159/000494451.

Bekoff, A. and Lau, B. (1980) 'Interlimb coordination in 20-day-old rat fetuses', *Journal of Experimental Zoology*, 214(2), pp. 173–175.

Bellardita, C. *et al.* (2017) 'Spatiotemporal correlation of spinal network dynamics underlying spasms in chronic spinalized mice', *Elife*, 6, p. e23011.

Bennett, D.J. *et al.* (2001) 'Evidence for plateau potentials in tail motoneurons of awake chronic spinal rats with spasticity', *Journal of neurophysiology*, 86(4), pp. 1972–1982.

Bennett, D.J., Li, Y. and Siu, M. (2001) 'Plateau potentials in sacrocaudal motoneurons of chronic spinal rats, recorded in vitro', *Journal of Neurophysiology*, 86(4), pp. 1955–1971. doi:10.1152/jn.2001.86.4.1955.

Bewick, G.S. and Banks, R.W. (2015) 'Mechanotransduction in the muscle spindle', *Pflugers Archiv: European Journal of Physiology*, 467(1), pp. 175–190. doi:10.1007/s00424-014-1536-9.

Blumberg, M., Freeman, J. and Robinson, S. (2009) *Oxford handbook of developmental behavioral neuroscience*. Oxford University Press.

Blumberg, M.S. *et al.* (2015) 'Development of twitching in sleeping infant mice depends on sensory experience', *Current biology : CB*, 25(5), pp. 656–662. doi:10.1016/j.cub.2015.01.022.

Blumberg, M.S. and Lucas, D.E. (1994) 'Dual mechanisms of twitching during sleep in neonatal rats', *Behavioral Neuroscience*, 108(6), pp. 1196–1202. doi:10.1037//0735-7044.108.6.1196.

Blumberg, M.S., Marques, H.G. and Iida, F. (2013) 'Twitching in sensorimotor development from sleeping rats to robots', *Current biology: CB*, 23(12), pp. R532-537. doi:10.1016/j.cub.2013.04.075.

Booth, F.W. (1987) 'Physiologic and biochemical effects of immobilization on muscle', *Clinical Orthopaedics and Related Research*, (219), pp. 15–20.

Bornstein, M.H. (1989) 'Sensitive periods in development: structural characteristics and causal interpretations', *Psychological Bulletin*, 105(2), pp. 179–197. doi:10.1037/0033-2909.105.2.179.

Bos, R. *et al.* (2018) 'Kv1.2 Channels Promote Nonlinear Spiking Motoneurons for Powering Up Locomotion', *Cell Reports*, 22(12), pp. 3315–3327. doi:10.1016/j.celrep.2018.02.093.

Bouhadfane, M. *et al.* (2013) 'Sodium-mediated plateau potentials in lumbar motoneurons of neonatal rats', *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 33(39), pp. 15626–15641. doi:10.1523/JNEUROSCI.1483-13.2013.

Boyd, I.A. (1962) 'The structure and innervation of the nuclear bag muscle fibre system and the nuclear chain muscle fibre system in mammalian muscle spindles', *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 245(720), pp. 81–136.

Bras, H. *et al.* (1989) 'Morphology of midlumbar interneurones relaying information from group II muscle afferents in the cat spinal cord', *Journal of Comparative Neurology*, 290(1), pp. 1–15.

Brocard, F., Vinay, L. and Clarac, F. (1999a) 'Development of hindlimb postural control during the first postnatal week in the rat', *Brain Research. Developmental Brain Research*, 117(1), pp. 81–89. doi:10.1016/s0165-3806(99)00101-7.

Brocard, F., Vinay, L. and Clarac, F. (1999b) 'Gradual development of the ventral funiculus input to lumbar motoneurons in the neonatal rat', *Neuroscience*, 90(4), pp. 1543–1554. doi:10.1016/s0306-4522(98)00550-8.

Brown, T.G. (1911) 'The intrinsic factors in the act of progression in the mammal', *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, containing papers of a biological character*, 84(572), pp. 308–319.

Buford, J.A. and Smith, J.L. (1993) 'Adaptive control for backward quadrupedal walking. III. Stumbling corrective reactions and cutaneous reflex sensitivity', *Journal of Neurophysiology*, 70(3), pp. 1102–1114. doi:10.1152/jn.1993.70.3.1102.

Buonomano, D.V. and Merzenich, M.M. (1998) 'Cortical plasticity: from synapses to maps', *Annual review of neuroscience*, 21(1), pp. 149–186.

Burke, R.E. (2011) 'Motor units: anatomy, physiology, and functional organization', *Comprehensive Physiology*, pp. 345–422.

Burrington, J.D. (1977) 'The Mammalian Fetus: Comparative Biology and Methodology ed. by ESE Hafez', *Perspectives in Biology and Medicine*, 21(1), pp. 160–162.

Büschges, A. and Manira, A.E. (1998) 'Sensory pathways and their modulation in the control of locomotion', *Current Opinion in Neurobiology*, 8(6), pp. 733–739. doi:10.1016/s0959-4388(98)80115-3.

Caggiano, V. *et al.* (2018) 'Midbrain circuits that set locomotor speed and gait selection', *Nature*, 553(7689), pp. 455–460. doi:10.1038/nature25448.

Cai, J. *et al.* (2013) 'Correlation between electrophysiological properties, morphological maturation, and olig gene changes during postnatal motor tract development', *Developmental Neurobiology*, 73(9), pp. 713–722. doi:10.1002/dneu.22094.

Caiozzo, V.J., Haddad, F., Baker, M.J. and Baldwin, K.M. (1996) 'Influence of mechanical loading on myosin heavy-chain protein and mRNA isoform expression', *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 80(5), pp. 1503–1512. doi:10.1152/jappl.1996.80.5.1503.

Caiozzo, V.J., Haddad, F., Baker, M.J., Herrick, R.E., *et al.* (1996) 'Microgravity-induced transformations of myosin isoforms and contractile properties of skeletal muscle', *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 81(1), pp. 123–132. doi:10.1152/jappl.1996.81.1.123.

Cameron, W.E. *et al.* (1989) 'The postnatal growth of motoneurons at three levels of the cat neuraxis', *Neuroscience letters*, 104(3), pp. 274–280.

Campbell, M. *et al.* (2019) 'Effect of Immobilisation on Neuromuscular Function In Vivo in Humans: A Systematic Review', *Sports Medicine (Auckland, N.z.)*, 49(6), pp. 931–950. doi:10.1007/s40279-019-01088-8.

Canu, M.-H. *et al.* (2005) 'A 3D analysis of hindlimb motion during treadmill locomotion in rats after a 14-day episode of simulated microgravity', *Behavioural Brain Research*, 157(2), pp. 309–321. doi:10.1016/j.bbr.2004.07.009.

Canu, M.H. *et al.* (2007) 'Effect of hindlimb unloading on motor activity in adult rats: Impact of prenatal stress.', *Behavioral neuroscience*, 121(1), p. 177.

Canu, M.H. and Falempin, M. (1996) 'Effect of hindlimb unloading on locomotor strategy during treadmill locomotion in the rat', *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 74(4), pp. 297–304. doi:10.1007/BF02226924.

Canu, M.H. and Falempin, M. (1998) 'Effect of hindlimb unloading on interlimb coordination during treadmill locomotion in the rat', *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 78(6), pp. 509–515. doi:10.1007/s004210050453.

Canu, M.H., Falempin, M. and Orsal, D. (2001) 'Fictive motor activity in rat after 14 days of hindlimb unloading', *Experimental Brain Research*, 139(1), pp. 30–38. doi:10.1007/s002210100734.

Canu, M.-H. and Garnier, C. (2009) 'A 3D analysis of fore- and hindlimb motion during overground and ladder walking: comparison of control and unloaded rats', *Experimental Neurology*, 218(1), pp. 98–108. doi:10.1016/j.expneurol.2009.04.009.

Capaday, C. and Stein, R.B. (1986) 'Amplitude modulation of the soleus H-reflex in the human during walking and standing', *Journal of Neuroscience*, 6(5), pp. 1308–1313.

Capaday, C. and Stein, R.B. (1987) 'Difference in the amplitude of the human soleus H reflex during walking and running.', *The Journal of physiology*, 392(1), pp. 513–522.

Carrier, L., Brustein, E. and Rossignol, S. (1997) 'Locomotion of the hindlimbs after neurectomy of ankle flexors in intact and spinal cats: model for the study of locomotor plasticity', *Journal of Neurophysiology*, 77(4), pp. 1979–1993. doi:10.1152/jn.1997.77.4.1979.

Cavallari, P., Edgley, S.A. and Jankowska, E. (1987) 'Post-synaptic actions of midlumbar interneurones on motoneurones of hind-limb muscles in the cat.', *The Journal of physiology*, 389(1), pp. 675–689.

Cazalets, J.R. *et al.* (1990) 'Variability as a characteristic of immature motor systems: an electromyographic study of swimming in the newborn rat', *Behavioural Brain Research*, 40(3), pp. 215–225. doi:10.1016/0166-4328(90)90078-s.

Cazalets, J.R., Borde, M. and Clarac, F. (1995) 'Localization and organization of the central pattern generator for hindlimb locomotion in newborn rat', *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 15(7 Pt 1), pp. 4943–4951.

Cazalets, J.R., Sqalli-Houssaini, Y. and Clarac, F. (1992) 'Activation of the central pattern generators for locomotion by serotonin and excitatory amino acids in neonatal rat', *The Journal of Physiology*, 455, pp. 187–204. doi:10.1113/jphysiol.1992.sp019296.

Chacon-Cabrera, A., Gea, J. and Barreiro, E. (2017) 'Short- and Long-Term Hindlimb Immobilization and Reloading: Profile of Epigenetic Events in Gastrocnemius', *Journal of Cellular Physiology*, 232(6), pp. 1415–1427. doi:10.1002/jcp.25635.

Chakrabarty, S. and Martin, J. (2011) 'Postnatal refinement of proprioceptive afferents in the cat cervical spinal cord', *The European Journal of Neuroscience*, 33(9), pp. 1656–1666. doi:10.1111/j.1460-9568.2011.07662.x.

Chang, Q. *et al.* (1999) 'Gap junctional coupling and patterns of connexin expression among neonatal rat lumbar spinal motor neurons', *Journal of Neuroscience*, 19(24), pp. 10813–10828.

Chang, Q. and Balice-Gordon, R.J. (2000) 'Gap junctional communication among developing and injured motor neurons', *Brain research reviews*, 32(1), pp. 242–249.

Chase, M.H. and Morales, F.R. (1990) 'The atonia and myoclonia of active (REM) sleep', *Annual review of psychology*, 41(1), pp. 557–584.

Chen, H.-H. *et al.* (2003) 'Development of the monosynaptic stretch reflex circuit', *Current Opinion in Neurobiology*, 13(1), pp. 96–102. doi:10.1016/s0959-4388(03)00006-0.

Chesler, A.T. *et al.* (2016) 'The Role of PIEZO2 in Human Mechanosensation', *The New England Journal of Medicine*, 375(14), pp. 1355–1364. doi:10.1056/NEJMoa1602812.

Chiasson, R.B. (1988) *Laboratory anatomy of the white rat*.

Cina, C. and Hochman, S. (2000) 'Diffuse distribution of sulforhodamine-labeled neurons during serotonin-evoked locomotion in the neonatal rat thoracolumbar spinal cord', *The Journal of Comparative Neurology*, 423(4), pp. 590–602. doi:10.1002/1096-9861(20000807)423:4<590::aid-cne5>3.0.co;2-l.

Clarac, F. *et al.* (1998) 'Role of gravity in the development of posture and locomotion in the neonatal rat', *Brain Research. Brain Research Reviews*, 28(1–2), pp. 35–43. doi:10.1016/s0165-0173(98)00024-1.

Clarac, F., Brocard, F. and Vinay, L. (2004) 'The maturation of locomotor networks', *Progress in Brain Research*, 143, pp. 57–66. doi:10.1016/S0079-6123(03)43006-9.

Clark, F.J., Grigg, P. and Chapin, J.W. (1989) 'The contribution of articular receptors to proprioception with the fingers in humans', *Journal of Neurophysiology*, 61(1), pp. 186–193. doi:10.1152/jn.1989.61.1.186.

Clement, G. *et al.* (1984) 'Adaptation of postural control to weightlessness', *Experimental Brain Research*, 57(1), pp. 61–72.

Cohen, L.G. *et al.* (1991) 'Motor reorganization after upper limb amputation in man: a study with focal magnetic stimulation', *Brain*, 114(1), pp. 615–627.

Cole, J.D. and Sedgwick, E.M. (1992) 'The perceptions of force and of movement in a man without large myelinated sensory afferents below the neck', *The Journal of Physiology*, 449, pp. 503–515. doi:10.1113/jphysiol.1992.sp019099.

Colombo, J. (1982) 'The critical period concept: research, methodology, and theoretical issues', *Psychological Bulletin*, 91(2), pp. 260–275.

Constantine-Paton, M. and Law, M.I. (1978) 'Eye-specific termination bands in tecta of three-eyed frogs', *Science*, 202(4368), pp. 639–641. doi:10.1126/science.309179.

Conway, B.A., Hultborn, H. and Kiehn, O. (1987) 'Proprioceptive input resets central locomotor rhythm in the spinal cat', *Experimental Brain Research*, 68(3), pp. 643–656. doi:10.1007/BF00249807.

Coonan, J.R., Bartlett, P.F. and Galea, M.P. (2003) 'Role of EphA4 in defining the position of a motoneuron pool within the spinal cord', *The Journal of Comparative Neurology*, 458(1), pp. 98–111. doi:10.1002/cne.10571.

Coq, J.-O. *et al.* (2008) 'Impact of neonatal asphyxia and hind limb immobilization on musculoskeletal tissues and S1 map organization: implications for cerebral palsy', *Experimental Neurology*, 210(1), pp. 95–108. doi:10.1016/j.expneurol.2007.10.006.

Coq, J.-O. *et al.* (2009) 'Peripheral and central changes combine to induce motor behavioral deficits in a moderate repetition task', *Experimental neurology*, 220(2), pp. 234–245.

Coq, J.-O. *et al.* (2020) 'From cerebral palsy to developmental coordination disorder: Development of preclinical rat models corresponding to recent epidemiological changes', *Annals of physical and rehabilitation medicine*, 63(5), pp. 422–430.

Côté, M.-P., Murray, L.M. and Knikou, M. (2018) 'Spinal Control of Locomotion: Individual Neurons, Their Circuits and Functions', *Frontiers in Physiology*, 9, p. 784. doi:10.3389/fphys.2018.00784.

Cruikshank, S.J. and Weinberger, N.M. (1996) 'Evidence for the Hebbian hypothesis in experience-dependent physiological plasticity of neocortex: a critical review', *Brain Research Reviews*, 22(3), pp. 191–228. doi:10.1016/S0165-0173(96)00015-X.

Curtiss, S. *et al.* (1974) 'The Linguistic Development of Genie', *Language*, 50(3), pp. 528–554. doi:10.2307/412222.

Danneman, P.J. *et al.* (1994) 'Central delay of the laser-activated rat tail-flick reflex', *Pain*, 58(1), pp. 39–44.

David, V. *et al.* (2006) 'Two-week longitudinal survey of bone architecture alteration in the hindlimb-unloaded rat model of bone loss: sex differences', *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 290(3), pp. E440-447. doi:10.1152/ajpendo.00293.2004.

De Vries, J.I., Visser, G.H. and Prechtl, H.F. (1982) 'The emergence of fetal behaviour. I. Qualitative aspects', *Early human development*, 7(4), pp. 301–322.

Decker, R.S. (2017) 'Articular cartilage and joint development from embryogenesis to adulthood', *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 62, pp. 50–56. doi:10.1016/j.semcdb.2016.10.005.

De-Doncker, L. *et al.* (2003) 'Characterization of spindle afferents in rat soleus muscle using ramp-and-hold and sinusoidal stretches', *Journal of Neurophysiology*, 89(1), pp. 442–449. doi:10.1152/jn.00153.2002.

Dekkers, J. *et al.* (1994) 'Early postnatal changes in the somatodendritic morphology of ankle flexor motoneurons in the rat', *The European Journal of Neuroscience*, 6(1), pp. 87–97. doi:10.1111/j.1460-9568.1994.tb00250.x.

Delcour, M., Massicotte, V.S., *et al.* (2018) 'Early movement restriction leads to enduring disorders in muscle and locomotion', *Brain Pathology (Zurich, Switzerland)*, 28(6), pp. 889–901. doi:10.1111/bpa.12594.

Delcour, M., Russier, M., *et al.* (2018) 'Early movement restriction leads to maladaptive plasticity in the sensorimotor cortex and to movement disorders', *Scientific Reports*, 8(1), p. 16328. doi:10.1038/s41598-018-34312-y.

Deschenes, M.R. *et al.* (2003) 'Unlike myofibers, neuromuscular junctions remain stable during prolonged muscle unloading', *Journal of the Neurological Sciences*, 210(1–2), pp. 5–10. doi:10.1016/s0022-510x(02)00455-0.

Deska-Gauthier, D. and Zhang, Y. (2019) 'The functional diversity of spinal interneurons and locomotor control', *Current Opinion in Physiology*, 8, pp. 99–108.

Desplanches, D. *et al.* (1987) 'Structural and functional responses to prolonged hindlimb suspension in rat muscle', *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 63(2), pp. 558–563. doi:10.1152/jappl.1987.63.2.558.

Dietz, V. and Sinkjaer, T. (2007) 'Spastic movement disorder: impaired reflex function and altered muscle mechanics', *The Lancet Neurology*, 6(8), pp. 725–733.

Dolbow, J. and Throckmorton, Z. (2021) 'Neuroanatomy, Spinal Cord Myotatic Reflex', in *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551629/ (Accessed: 30 August 2021).

Doupe, A.J. and Kuhl, P.K. (1999) 'Birdsong and human speech: common themes and mechanisms', *Annual Review of Neuroscience*, 22, pp. 567–631. doi:10.1146/annurev.neuro.22.1.567.

Drew, T. and Marigold, D.S. (2015) 'Taking the next step: cortical contributions to the control of locomotion', *Current Opinion in Neurobiology*, 33, pp. 25–33. doi:10.1016/j.conb.2015.01.011.

Dubuc, R. *et al.* (2008a) 'Initiation of locomotion in lampreys', *Brain Research Reviews*, 57(1), pp. 172–182. doi:10.1016/j.brainresrev.2007.07.016.

Dubuc, R. *et al.* (2008b) 'Initiation of locomotion in lampreys', *Brain Research Reviews*, 57(1), pp. 172–182. doi:10.1016/j.brainresrev.2007.07.016.

Duchateau, J. (1995) 'Bed rest induces neural and contractile adaptations in triceps surae.', *Medicine and science in sports and exercise*, 27(12), pp. 1581–1589.

Duchateau, J. and Hainaut, K. (1987) 'Electrical and mechanical changes in immobilized human muscle', *Journal of Applied Physiology*, 62(6), pp. 2168–2173.

Duchateau, J. and Hainaut, K. (1990) 'Effects of immobilization on contractile properties, recruitment and firing rates of human motor units.', *The Journal of Physiology*, 422(1), pp. 55–65. doi:10.1113/jphysiol.1990.sp017972.

Durand, J. *et al.* (2015) 'Developing electrical properties of postnatal mouse lumbar motoneurons', *Frontiers in cellular neuroscience*, 9, p. 349.

Duysens, J. and Loeb, G.E. (1980) 'Modulation of ipsi- and contralateral reflex responses in unrestrained walking cats', *Journal of Neurophysiology*, 44(5), pp. 1024–1037. doi:10.1152/jn.1980.44.5.1024.

Earles, D.R. *et al.* (2002) 'Pre- and post-synaptic control of motoneuron excitability in athletes', *Medicine and science in sports and exercise*, 34(11), pp. 1766–1772. doi:10.1097/00005768-200211000-00012.

Eccles, J.C., Eccles, R.M. and Magni, F. (1961) 'Central inhibitory action attributable to presynaptic depolarization produced by muscle afferent volleys', *The Journal of physiology*, 159(1), pp. 147–166.

Eccles, J.C., Fatt, P. and Koketsu, K. (1954) 'Cholinergic and inhibitory synapses in a pathway from motor-axon collaterals to motoneurones', *The Journal of physiology*, 126(3), pp. 524–562.

Eccles, J.C., Kostyuk, P.G. and Schmidt, R.F. (1962) 'Presynaptic inhibition of the central actions of flexor reflex afferents', *The Journal of physiology*, 161(2), pp. 258–281.

Eccles, J.C., Kozak, W. and Magni, F. (1961) 'Dorsal root reflexes of muscle group I afferent fibres', *The Journal of physiology*, 159(1), pp. 128–146.

Eccles, J.C., Schmidt, R. and Willis, W.D. (1963) 'Pharmacological studies on presynaptic inhibition', *The Journal of physiology*, 168(3), pp. 500–530.

Edgley, S.A. and Jankowska, E. (1987) 'An interneuronal relay for group I and II muscle afferents in the midlumbar segments of the cat spinal cord.', *The Journal of Physiology*, 389(1), pp. 647–674.

Edman, K. a. P., Radzyukevich, T. and Kronborg, B. (2002) 'Contractile properties of isolated muscle spindles of the frog', *The Journal of Physiology*, 541(Pt 3), pp. 905–916. doi:10.1113/jphysiol.2001.016220.

Eidelberg, E., Walden, J.G. and Nguyen, L.H. (1981) 'Locomotor control in macaque monkeys', *Brain: A Journal of Neurology*, 104(Pt 4), pp. 647–663. doi:10.1093/brain/104.4.647-a.

Eilam, D., Goffman, D. and Smotherman, W.P. (1999) 'How the neonatal rat gets to the nipple. II. Changes during development', *Developmental Psychobiology*, 34(3), pp. 217–226. doi:10.1002/(sici)1098-2302(199904)34:3<217::aid-dev6>3.0.co;2-I.

Facchini, S. *et al.* (2002) 'Time-related changes of excitability of the human motor system contingent upon immobilisation of the ring and little fingers', *Clinical Neurophysiology: Official Journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, 113(3), pp. 367–375. doi:10.1016/s1388-2457(02)00009-3.

Fady, J.C., Jamon, M. and Clarac, F. (1998) 'Early olfactory-induced rhythmic limb activity in the newborn rat', *Brain Research. Developmental Brain Research*, 108(1–2), pp. 111–123. doi:10.1016/s0165-3806(98)00040-6.

Faist, M., Dietz, V. and Pierrot-Deseilligny, E. (1996) 'Modulation, probably presynaptic in origin, of monosynaptic Ia excitation during human gait', *Experimental brain research*, 109(3), pp. 441–449.

Feather-Schussler, D. and Ferguson, T. (2016) 'A Battery of Motor Tests in a Neonatal Mouse Model of Cerebral Palsy', *Journal of Visualized Experiments*, 2016. doi:10.3791/53569.

Fellippa-Marques, S., Vinay, L. and Clarac, F. (2000) 'Spontaneous and locomotor-related GABAergic input onto primary afferents in the neonatal rat', *European Journal of Neuroscience*, 12(1), pp. 155–164.

Ferrell, W.R., Gandevia, S.C. and McCloskey, D.I. (1987) 'The role of joint receptors in human kinaesthesia when intramuscular receptors cannot contribute', *The Journal of Physiology*, 386, pp. 63–71. doi:10.1113/jphysiol.1987.sp016522.

Filipchuk, A.A. and Durand, J. (2012) 'Postnatal dendritic development in lumbar motoneurons in mutant superoxide dismutase 1 mouse model of amyotrophic lateral sclerosis', *Neuroscience*, 209, pp. 144–154.

Fisher, M.A. (1992) 'AAEM Minimonograph #13: H reflexes and F waves: physiology and clinical indications', *Muscle & Nerve*, 15(11), pp. 1223–1233. doi:10.1002/mus.880151102.

Fitzgerald, M. (2005) 'The development of nociceptive circuits', *Nature Reviews. Neuroscience*, 6(7), pp. 507–520. doi:10.1038/nrn1701.

Floeter, M.K. and Lev-Tov, A. (1993) 'Excitation of lumbar motoneurons by the medial longitudinal fasciculus in the in vitro brain stem spinal cord preparation of the neonatal rat', *Journal of Neurophysiology*, 70(6), pp. 2241–2250. doi:10.1152/jn.1993.70.6.2241.

Forssberg, H. (1979) 'Stumbling corrective reaction: a phase-dependent compensatory reaction during locomotion', *Journal of Neurophysiology*, 42(4), pp. 936–953. doi:10.1152/jn.1979.42.4.936.

Forssberg, H. *et al.* (1980) 'The locomotion of the low spinal cat. II. Interlimb coordination', *Acta Physiologica Scandinavica*, 108(3), pp. 283–295. doi:10.1111/j.1748-1716.1980.tb06534.x.

Forssberg, H., Grillner, S. and Halbertsma, J. (1980) 'The locomotion of the low spinal cat. I. Coordination within a hindlimb', *Acta Physiologica Scandinavica*, 108(3), pp. 269–281. doi:10.1111/j.1748-1716.1980.tb06533.x.

Forssberg, H., Grillner, S. and Rossignol, S. (1977) 'Phasic gain control of reflexes from the dorsum of the paw during spinal locomotion', *Brain Research*, 132(1), pp. 121–139. doi:10.1016/0006-8993(77)90710-7.

Fouad, K. and Pearson, K.G. (1997) 'Modification of group I field potentials in the intermediate nucleus of the cat spinal cord after chronic axotomy of an extensor nerve', *Neuroscience Letters*, 236(1), pp. 9–12. doi:10.1016/s0304-3940(97)00756-8.

Fox, W.M. (1965) 'Reflex-ontogeny and behavioural development of the mouse', *Animal Behaviour*, 13(2), pp. 234-IN5. doi:10.1016/0003-3472(65)90041-2.

Franchi, G. (2000) 'Reorganization of vibrissal motor representation following severing and repair of the facial nerve in adult rats', *Experimental brain research*, 131(1), pp. 33–43.

Franchi, G. (2002) 'Time course of motor cortex reorganization following botulinum toxin injection into the vibrissal pad of the adult rat', *European Journal of Neuroscience*, 16(7), pp. 1333–1348.

Frank, K. (1957) 'Presynaptic and postsynaptic inhibition of monosynaptic reflexes', in *Fed Proc*, pp. 39–40.

Friedman, M.A. *et al.* (2019) 'Single limb immobilization model for bone loss from unloading', *Journal of Biomechanics*, 83, pp. 181–189. doi:10.1016/j.jbiomech.2018.11.049.

Fromkin, V. *et al.* (1974) 'The development of language in genie: a case of language acquisition beyond the "critical period"', *Brain and Language*, 1(1), pp. 81–107. doi:10.1016/0093-934X(74)90027-3.

Fu, M. and Zuo, Y. (2011) 'Experience-dependent structural plasticity in the cortex', *Trends in Neurosciences*, 34(4), pp. 177–187. doi:10.1016/j.tins.2011.02.001.

Gabbay, H., Delvolvé, I. and Lev-Tov, A. (2002) 'Pattern generation in caudal-lumbar and sacrococcygeal segments of the neonatal rat spinal cord', *Journal of neurophysiology*, 88(2), pp. 732–739.

Gallagher, J.P., Higashi, H. and Nishi, S. (1978) 'Characterization and ionic basis of GABA-induced depolarizations recorded in vitro from cat primary afferent neurones.', *The Journal of physiology*, 275(1), pp. 263–282.

Garcia-Rill, E. *et al.* (1990) 'Posterior midbrain-induced locomotion', *Brain Research Bulletin*, 24(3), pp. 499–508. doi:10.1016/0361-9230(90)90103-7.

Gardiner, P.F. (1993) 'Physiological properties of motoneurons innervating different muscle unit types in rat gastrocnemius', *Journal of neurophysiology*, 69(4), pp. 1160–1170.

Gassel, M.M., Marchiafava, P.L. and Pompeiano, O. (1964) 'TONIC AND PHASIC INHIBITION OF SPINAL REFLEXES DURING DEEP, DESYNCHRONIZED SLEEP IN UNRESTRAINED CATS', *Archives Italiennes De Biologie*, 102, pp. 471–479.

Geisler, H.C., Westerga, J. and Gramsbergen, A. (1993) 'Development of posture in the rat', *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 53(4), pp. 517–523.

Gerwin, L. *et al.* (2019) 'Acetylcholine receptors in the equatorial region of intrafusal muscle fibres modulate mouse muscle spindle sensitivity', *The Journal of Physiology*, 597(7), pp. 1993–2006. doi:10.1113/JP277139.

Giuliani, C.A. and Smith, J.L. (1987) 'Stepping behaviors in chronic spinal cats with one hindlimb deafferented', *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 7(8), pp. 2537–2546.

Goldberger, M.E. (1977) 'Locomotor recovery after unilateral hindlimb deafferentation in cats', *Brain Research*, 123(1), pp. 59–74. doi:10.1016/0006-8993(77)90643-6.

Goldberger, M.E. (1983) 'Recovery of accurate limb movements after deafferentation in cats', *Spinal cord reconstruction*, pp. 455–463.

Goldspink, G. (1981) 'Design of muscle for locomotion and the maintenance of posture', *Trends in Neurosciences*, 4, pp. 218–221.

Goulding, M. *et al.* (2002) 'The formation of sensorimotor circuits', *Current Opinion in Neurobiology*, 12(5), pp. 508–515. doi:10.1016/s0959-4388(02)00371-9.

Grigg, P. (1994) 'Peripheral neural mechanisms in proprioception', *Journal of Sport Rehabilitation*, 3(1), pp. 2–17.

Grillner, S. (2011) 'Control of locomotion in bipeds, tetrapods, and fish', *Comprehensive physiology*, pp. 1179–1236.

Grillner, S. and Rossignol, S. (1978) 'On the initiation of the swing phase of locomotion in chronic spinal cats', *Brain Research*, 146(2), pp. 269–277. doi:10.1016/0006-8993(78)90973-3.

GRILLNER, S. and ZANGGER, P. (1984) 'The effect of dorsal root transection on the efferent motor pattern in the cat's hindlimb during locomotion', *Acta Physiologica Scandinavica*, 120(3), pp. 393–405.

Guertin, P.A. (2012) 'Central pattern generator for locomotion: anatomical, physiological, and pathophysiological considerations', *Frontiers in Neurology*, 3, p. 183. doi:10.3389/fneur.2012.00183.

Guertin, P.A. (2013) 'The Spinal Cord: Functional Organization, Diseases, and Dysfunctions', in Aldskogius, H. (ed.) *Animal Models of Spinal Cord Repair*. Totowa, NJ: Humana Press (Neuromethods), pp. 1–23. doi:10.1007/978-1-62703-197-4_1.

Guthrie, S.C. and Gilula, N.B. (1989) 'Gap junctional communication and development', *Trends in Neurosciences*, 12(1), pp. 12–16. doi:10.1016/0166-2236(89)90150-1.

Haliloglu, G. *et al.* (2017) 'Recessive PIEZO2 stop mutation causes distal arthrogryposis with distal muscle weakness, scoliosis and proprioception defects', *Journal of Human Genetics*, 62(4), pp. 497–501. doi:10.1038/jhg.2016.153.

Hall, R.C. *et al.* (1999) 'Relationship between ankle invertor H-reflexes and acute swelling induced by inversion ankle sprain', *Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy*, 29(6), pp. 339–344.

Hamburger, V. (1973) 'Anatomical and physiological basis of embryonic motility in birds and mammals', in *Neuroembryology*. Springer, pp. 221–246.

Hanson, M.G. and Landmesser, L.T. (2004) 'Normal patterns of spontaneous activity are required for correct motor axon guidance and the expression of specific guidance molecules', *Neuron*, 43(5), pp. 687–701.

Haridas, C. and Zehr, E.P. (2003) 'Coordinated interlimb compensatory responses to electrical stimulation of cutaneous nerves in the hand and foot during walking', *Journal of Neurophysiology*, 90(5), pp. 2850–2861. doi:10.1152/jn.00531.2003.

Harlow, H.F., Dodsworth, R.O. and Harlow, M.K. (1965) 'Total social isolation in monkeys', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 54(1), pp. 90–97. doi:10.1073/pnas.54.1.90.

Harris, R.L.W. *et al.* (2007) 'Spastic tail muscles recover from myofiber atrophy and myosin heavy chain transformations in chronic spinal rats', *Journal of neurophysiology*, 97(2), pp. 1040–1051.

Harrison, P.J. and Jankowska, E. (1989) 'Primary afferent depolarization of central terminals of group II muscle afferents in the cat spinal cord.', *The Journal of physiology*, 411(1), pp. 71–83.

Hebb, D.O. (1949) *The organisation of behaviour: a neuropsychological theory*. Science Editions New York.

Hess, E.H. (1959) 'Imprinting', *Science*, 130(3368), pp. 133–141.

HICKMAN, G.C. (1979) 'The mammalian tail: a review of functions', *Mammal review*, 9(4), pp. 143–157.

Hoffman, M.A. and Koceja, D.M. (1995) 'The effects of vision and task complexity on Hoffmann reflex gain', *Brain research*, 700(1–2), pp. 303–307.

Hoffmann, P. (1910) 'Beitrage zur Kenntnis der menschlichen Reflex emit besonderer Berucksichtigung der elektrichen. Erscheinnungen', *Arch-Physo*/[Preprint].

Holtmaat, A. and Svoboda, K. (2009) 'Experience-dependent structural synaptic plasticity in the mammalian brain', *Nature Reviews Neuroscience*, 10(9), pp. 647–658. doi:10.1038/nrn2699.

Hopkins, J.T. *et al.* (2000) 'Changes in soleus motoneuron pool excitability after artificial knee joint effusion', *Archives of physical medicine and rehabilitation*, 81(9), pp. 1199–1203.

Hortobágyi, T. *et al.* (2000) 'Changes in muscle strength, muscle fibre size and myofibrillar gene expression after immobilization and retraining in humans', *The Journal of Physiology*, 524(Pt 1), pp. 293–304. doi:10.1111/j.1469-7793.2000.00293.x.

Hosp, J.A. and Luft, A.R. (2011) 'Cortical Plasticity during Motor Learning and Recovery after Ischemic Stroke', *Neural Plasticity*, 2011, p. e871296. doi:10.1155/2011/871296.

Hounsgaard, J. *et al.* (1988) 'Bistability of alpha-motoneurones in the decerebrate cat and in the acute spinal cat after intravenous 5-hydroxytryptophan.', *The Journal of physiology*, 405(1), pp. 345–367.

Howell, J.N. *et al.* (2006) 'Stretch reflex and Hoffmann reflex responses to osteopathic manipulative treatment in subjects with Achilles tendinitis', *Journal of Osteopathic Medicine*, 106(9), pp. 537–545.

Hubel, D.H. and Wiesel, T.N. (1977) 'Ferrier lecture. Functional architecture of macaque monkey visual cortex', *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 198(1130), pp. 1–59. doi:10.1098/rspb.1977.0085.

Huber, R. *et al.* (2006) 'Arm immobilization causes cortical plastic changes and locally decreases sleep slow wave activity', *Nature Neuroscience*, 9(9), pp. 1169–1176. doi:10.1038/nn1758.

Hultborn, H., Meunier, S., Morin, C., *et al.* (1987) 'Assessing changes in presynaptic inhibition of I a fibres: a study in man and the cat.', *The Journal of Physiology*, 389(1), pp. 729–756.

Hultborn, H., Meunier, S., Pierrot-Deseilligny, E., *et al.* (1987) 'Changes in presynaptic inhibition of Ia fibres at the onset of voluntary contraction in man.', *The Journal of physiology*, 389(1), pp. 757–772.

Hultborn, H. *et al.* (1998) 'How do we approach the locomotor network in the mammalian spinal cord?', *Annals of the New York Academy of Sciences*, 860, pp. 70–82. doi:10.1111/j.1749-6632.1998.tb09039.x.

Hultborn, H. (2006) 'Spinal reflexes, mechanisms and concepts: from Eccles to Lundberg and beyond', *Progress in Neurobiology*, 78(3–5), pp. 215–232. doi:10.1016/j.pneurobio.2006.04.001.

Hultborn, H. and Pierrot-Deseilligny, E. (1979) 'Changes in recurrent inhibition during voluntary soleus contractions in man studied by an H-reflex technique.', *The Journal of physiology*, 297(1), pp. 229–251.

Hunt, C.C. and Kuffler, S.W. (1951) 'Further study of efferent small-nerve fibers to mammalian muscle spindles; multiple spindle innervation and activity during contraction', *The Journal of Physiology*, 113(2–3), pp. 283–297. doi:10.1113/jphysiol.1951.sp004572.

Inácio, A.R. *et al.* (2016) 'Sensory feedback synchronizes motor and sensory neuronal networks in the neonatal rat spinal cord', *Nature Communications*, 7, p. 13060. doi:10.1038/ncomms13060.

Inglis, F.M., Zuckerman, K.E. and Kalb, R.G. (2000) 'Experience-dependent development of spinal motor neurons', *Neuron*, 26(2), pp. 299–305. doi:10.1016/s0896-6273(00)81164-2.

Jalal, N., Gracies, J.-M. and Zidi, M. (2020) 'Mechanical and microstructural changes of skeletal muscle following immobilization and/or stroke', *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 19(1), pp. 61–80. doi:10.1007/s10237-019-01196-4.

Jami, L. (1992) 'Golgi tendon organs in mammalian skeletal muscle: functional properties and central actions', *Physiological Reviews*, 72(3), pp. 623–666. doi:10.1152/physrev.1992.72.3.623.

Jami, L. and Petit, J. (1976) 'Frequency of tendon organ discharges elicited by the contraction of motor units in cat leg muscles.', *The Journal of physiology*, 261(3), pp. 633–645.

Jankowska, E. (2008) 'Spinal interneuronal networks in the cat: elementary components', *Brain Research Reviews*, 57(1), pp. 46–55. doi:10.1016/j.brainresrev.2007.06.022.

Jankowska, E. and Hammar, I. (2002) 'Spinal interneurones; how can studies in animals contribute to the understanding of spinal interneuronal systems in man?', *Brain Research Reviews*, 40(1–3), pp. 19–28.

Jia, H. *et al.* (2019) 'The effect of tail suspension and treadmill exercise on LRP6 expression, bone mass and biomechanical properties of hindlimb bones in SD rats', *American Journal of Translational Research*, 11(9), pp. 5847–5857.

Jokl, P. and Konstadt, S. (1983) 'The effect of limb immobilization on muscle function and protein composition', *Clinical Orthopaedics and Related Research*, (174), pp. 222–229.

Kandel, E.R. *et al.* (2000) *Principles of neural science*. McGraw-hill New York.

Kandler, K. and Katz, L.C. (1995) 'Neuronal coupling and uncoupling in the developing nervous system', *Current Opinion in Neurobiology*, 5(1), pp. 98–105. doi:10.1016/0959-4388(95)80093-x.

Kerai, B. *et al.* (1995) 'Effect of transient neonatal muscle paralysis on the growth of soleus motoneurones in the rat', *Brain Research. Developmental Brain Research*, 85(1), pp. 89–95. doi:10.1016/0165-3806(94)00198-9.

Khazipov, R. *et al.* (2004) 'Early motor activity drives spindle bursts in the developing somatosensory cortex', *Nature*, 432(7018), pp. 758–761.

Kiehn, O. (2016) 'Decoding the organization of spinal circuits that control locomotion', *Nature reviews. Neuroscience*, 17(4), pp. 224–238. doi:10.1038/nrn.2016.9.

Kiehn, O. and Tresch, M.C. (2002) 'Gap junctions and motor behavior', *Trends in Neurosciences*, 25(2), pp. 108–115. doi:10.1016/s0166-2236(02)02038-6.

Kjaerulff, O., Barajon, I. and Kiehn, O. (1994) 'Sulphorhodamine-labelled cells in the neonatal rat spinal cord following chemically induced locomotor activity in vitro', *The Journal of Physiology*, 478 (Pt 2), pp. 265–273. doi:10.1113/jphysiol.1994.sp020248.

Kjaerulff, O. and Kiehn, O. (1996) 'Distribution of networks generating and coordinating locomotor activity in the neonatal rat spinal cord in vitro: a lesion study', *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 16(18), pp. 5777–5794.

Kleim, J.A., Barbay, S. and Nudo, R.J. (1998) 'Functional reorganization of the rat motor cortex following motor skill learning', *Journal of neurophysiology*, 80(6), pp. 3321–3325.

Knikou, M. (2008) 'The H-reflex as a probe: pathways and pitfalls', *Journal of Neuroscience Methods*, 171(1), pp. 1–12. doi:10.1016/j.jneumeth.2008.02.012.

Kozlovskaya, I.B. (1982) 'Experimental analysis of motor effects of weightlessness.', *The Physiologist*, 25, pp. S49–S52.

Krashen, S.D. (1975) 'The Critical Period for Language Acquisition and Its Possible Bases', *Annals of the New York Academy of Sciences*, 263(1), pp. 211–224. doi:10.1111/j.1749-6632.1975.tb41585.x.

Kraus, W.E., Torgan, C.E. and Taylor, D.A. (1994) 'Skeletal muscle adaptation to chronic low-frequency motor nerve stimulation', *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 22, pp. 313–360.

Kriellaars, D.J. *et al.* (1994) 'Mechanical entrainment of fictive locomotion in the decerebrate cat', *Journal of Neurophysiology*, 71(6), pp. 2074–2086. doi:10.1152/jn.1994.71.6.2074.

Kubota, K. and Tanaka, R. (1968) 'Fusimotor unit activities and natural sleep in the cat', *The Japanese Journal of Physiology*, 18(1), pp. 43–58. doi:10.2170/jjphysiol.18.43.

Kudo, N., Furukawa, F. and Okado, N. (1993) 'Development of descending fibers to the rat embryonic spinal cord', *Neuroscience Research*, 16(2), pp. 131–141. doi:10.1016/0168-0102(93)90080-a.

Kudo, N. and Yamada, T. (1985) 'Development of the monosynaptic stretch reflex in the rat: an in vitro study', *The Journal of Physiology*, 369, pp. 127–144. doi:10.1113/jphysiol.1985.sp015892.

Kudo, N. and Yamada, T. (1987a) 'Morphological and physiological studies of development of the monosynaptic reflex pathway in the rat lumbar spinal cord', *The Journal of Physiology*, 389, pp. 441–459. doi:10.1113/jphysiol.1987.sp016665.

Kudo, N. and Yamada, T. (1987b) 'N-methyl-D,L-aspartate-induced locomotor activity in a spinal cord-hindlimb muscles preparation of the newborn rat studied in vitro', *Neuroscience Letters*, 75(1), pp. 43–48. doi:10.1016/0304-3940(87)90072-3.

Kuffler, S.W., Hunt, C.C. and Quilliam, J.P. (1951) 'Function of medullated small-nerve fibers in mammalian ventral roots; efferent muscle spindle innervation', *Journal of Neurophysiology*, 14(1), pp. 29–54. doi:10.1152/jn.1951.14.1.29.

Kunz, R.I. *et al.* (2014) 'Effects of immobilization and remobilization on the ankle joint in Wistar rats', *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 47(10), pp. 842–849. doi:10.1590/1414-431X20143795.

Lakke, E.A. (1997) 'The projections to the spinal cord of the rat during development: a timetable of descent', *Advances in Anatomy, Embryology, and Cell Biology*, 135, p. I–XIV, 1–143. doi:10.1007/978-3-642-60601-4.

Lance, J.W. (1980) 'The control of muscle tone, reflexes, and movement: Robert Wartenbeg Lecture', *Neurology*, 30(12), pp. 1303–1303.

Lance-Jone, C. (1982) 'Motoneuron cell death in the developing lumbar spinal cord of the mouse', *Developmental Brain Research*, 4(4), pp. 473–479.

Lane, H. (1976) *The Wild Boy of Aveyron*. Harvard University Press.

Langlet, C., Bastide, B. and Canu, M.-H. (2012) 'Hindlimb unloading affects cortical motor maps and decreases corticospinal excitability', *Experimental Neurology*, 237(1), pp. 211–217. doi:10.1016/j.expneurol.2012.06.018.

Langlet, C., Leblond, H. and Rossignol, S. (2005) 'Mid-lumbar segments are needed for the expression of locomotion in chronic spinal cats', *Journal of Neurophysiology*, 93(5), pp. 2474–2488. doi:10.1152/jn.00909.2004.

Laporte, Y., Emonet-Dénand, F. and Jami, L. (1981) 'The skeletofusimotor or β-innervation of mammalian muscle spindles', *Trends in Neurosciences*, 4, pp. 97–99.

Law, M.I. and Constantine-Paton, M. (1981) 'Anatomy and physiology of experimentally produced striped tecta', *Journal of Neuroscience*, 1(7), pp. 741–759. doi:10.1523/JNEUROSCI.01-07-00741.1981.

Ledri, L.N. *et al.* (2020) 'Immobilization leads to reduced stretch reflexes but increased central reflex gain in the rat', *Journal of Neurophysiology*, 124(3), pp. 985–993. doi:10.1152/jn.00748.2019.

Leong, S.K., Shieh, J.Y. and Wong, W.C. (1984) 'Localizing spinal-cord-projecting neurons in neonatal and immature albino rats', *The Journal of Comparative Neurology*, 228(1), pp. 18–23. doi:10.1002/cne.902280104.

Levay, S., Stryker, M.P. and Shatz, C.J. (1978) 'Ocular dominance columns and their development in layer IV of the cat's visual cortex: A quantitative study', *The Journal of Comparative Neurology*, 179(1), pp. 223–244. doi:10.1002/cne.901790113.

LeVay, S., Wiesel, T.N. and Hubel, D.H. (1980) 'The development of ocular dominance columns in normal and visually deprived monkeys', *The Journal of Comparative Neurology*, 191(1), pp. 1–51. doi:10.1002/cne.901910102.

Lev-Tov, A., Delvolve, I. and Kremer, E. (2000) 'Sacrocaudal afferents induce rhythmic efferent bursting in isolated spinal cords of neonatal rats', *Journal of Neurophysiology*, 83(2), pp. 888–894.

Lev-Tov, A. and Pinco, M. (1992) 'In vitro studies of prolonged synaptic depression in the neonatal rat spinal cord', *The Journal of Physiology*, 447, pp. 149–169. doi:10.1113/jphysiol.1992.sp018996.

Li, Y. *et al.* (2005) 'Developmental changes in spinal motoneuron dendrites in neonatal mice', *Journal of Comparative Neurology*, 483(3), pp. 304–317.

Li, Y. and Bennett, D.J. (2003) 'Persistent sodium and calcium currents cause plateau potentials in motoneurons of chronic spinal rats', *Journal of neurophysiology*, 90(2), pp. 857–869.

Liddell, E.G.T. and Sherrington, C.S. (1925) 'Recruitment and some other features of reflex inhibition', *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character*, 97(686), pp. 488–518.

Llewellyn, M., Yang, J.F. and Prochazka, A. (1990) 'Human H-reflexes are smaller in difficult beam walking than in normal treadmill walking', *Experimental brain research*, 83(1), pp. 22–28.

Lloyd, D.P. (1946) 'Integrative pattern of excitation and inhibition in two-neuron reflex arcs', *Journal of Neurophysiology*, 9(6), pp. 439–444.

London, S.E. (2019) 'Developmental song learning as a model to understand neural mechanisms that limit and promote the ability to learn', *Behavioural Processes*, 163, pp. 13–23. doi:10.1016/j.beproc.2017.11.008.

Lundbye-Jensen, J. and Nielsen, J.B. (2008) 'Central nervous adaptations following 1 wk of wrist and hand immobilization', *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 105(1), pp. 139–151. doi:10.1152/japplphysiol.00687.2007.

Lundbye-Jensen, J. and Nielsen, J.B. (2008) 'Immobilization induces changes in presynaptic control of group Ia afferents in healthy humans', *The Journal of physiology*, 586(17), pp. 4121–4135.

MacKenzie, S.J. *et al.* (2015) 'Innervation and function of rat tail muscles for modeling cauda equina injury and repair', *Muscle & nerve*, 52(1), pp. 94–102.

Mahmud, A.A. *et al.* (2017) 'Loss of the proprioception and touch sensation channel PIEZO2 in siblings with a progressive form of contractures', *Clinical Genetics*, 91(3), pp. 470–475. doi:10.1111/cge.12850.

Manuel, M. and Zytnicki, D. (2011) 'Alpha, beta and gamma motoneurons: functional diversity in the motor system's final pathway', *Journal of Integrative Neuroscience*, 10(3), pp. 243–276. doi:10.1142/S0219635211002786.

Marcantoni, M. *et al.* (2020) 'Early delivery and prolonged treatment with nimodipine prevents the development of spasticity after spinal cord injury in mice', *Science Translational Medicine*, 12(539). doi:10.1126/scitranslmed.aay0167.

Marchetti, C., Beato, M. and Nistri, A. (2001) 'Alternating rhythmic activity induced by dorsal root stimulation in the neonatal rat spinal cord in vitro', *The Journal of physiology*, 530(1), pp. 105–112.

Marcoux, J. and Rossignol, S. (2000) 'Initiating or blocking locomotion in spinal cats by applying noradrenergic drugs to restricted lumbar spinal segments', *Journal of Neuroscience*, 20(22), pp. 8577–8585.

Marcuzzo, S. *et al.* (2008) 'Beneficial effects of treadmill training in a cerebral palsy-like rodent model: walking pattern and soleus quantitative histology', *Brain Research*, 1222, pp. 129–140. doi:10.1016/j.brainres.2008.05.042.

Marcuzzo, S. *et al.* (2010) 'Different effects of anoxia and hind-limb immobilization on sensorimotor development and cell numbers in the somatosensory cortex in rats', *Brain & Development*, 32(4), pp. 323–331. doi:10.1016/j.braindev.2009.04.016.

Marzuca-Nassr, G.N. *et al.* (2019) 'Experimental Model of HindLimb Suspension-Induced Skeletal Muscle Atrophy in Rodents', *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1916, pp. 167–176. doi:10.1007/978-1-4939-8994-2_16.

Masingue, M. *et al.* (2019) 'A novel nonsense PIEZO2 mutation in a family with scoliosis and proprioceptive defect', *Neuromuscular disorders: NMD*, 29(1), pp. 75–79. doi:10.1016/j.nmd.2018.10.005.

Matthews, P.B. (1981) 'Evolving views on the internal operation and functional role of the muscle spindle', *The Journal of Physiology*, 320, pp. 1–30. doi:10.1113/jphysiol.1981.sp013931.

McClellan, A.D. and Grillner, S. (1984) 'Activation of "fictive swimming" by electrical microstimulation of brainstem locomotor regions in an in vitro preparation of the lamprey central nervous system', *Brain Research*, 300(2), pp. 357–361. doi:10.1016/0006-8993(84)90846-1.

McCrea, D.A. (2001) 'Spinal circuitry of sensorimotor control of locomotion', *The Journal of Physiology*, 533(Pt 1), pp. 41–50. doi:10.1111/j.1469-7793.2001.0041b.x.

McKay, W.B. *et al.* (2011) 'Neurophysiological characterization of motor recovery in acute spinal cord injury', *Spinal Cord*, 49(3), pp. 421–429.

McVea, D.A., Mohajerani, M.H. and Murphy, T.H. (2012) 'Voltage-sensitive dye imaging reveals dynamic spatiotemporal properties of cortical activity after spontaneous muscle twitches in the newborn rat', *Journal of Neuroscience*, 32(32), pp. 10982–10994.

Mears, S.C. and Frank, E. (1997) 'Formation of specific monosynaptic connections between muscle spindle afferents and motoneurons in the mouse', *Journal of Neuroscience*, 17(9), pp. 3128–3135.

Mendelsohn, A.I. *et al.* (2015) 'Activity regulates the incidence of heteronymous sensory-motor connections', *Neuron*, 87(1), pp. 111–123.

Meunier, S. *et al.* (2007) 'Spinal use-dependent plasticity of synaptic transmission in humans after a single cycling session', *The Journal of physiology*, 579(2), pp. 375–388.

Meunier, S. and Pierrot-Deseilligny, E. (1989) 'Gating of the afferent volley of the monosynaptic stretch reflex during movement in man.', *The Journal of physiology*, 419(1), pp. 753–763.

Miller, F. (2019) 'Ankle Equinus in Cerebral Palsy', in Miller, F. et al. (eds) *Cerebral Palsy*. Cham: Springer International Publishing, pp. 1–24. doi:10.1007/978-3-319-50592-3_199-1.

Moisello, C. *et al.* (2008) 'Short-Term Limb Immobilization Affects Motor Performance', *Journal of motor behavior*, 40(2), pp. 165–176. doi:10.3200/JMBR.40.2.165-176.

Morey-Holton, E.R. and Globus, R.K. (2002) 'Hindlimb unloading rodent model: technical aspects', *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 92(4), pp. 1367–1377. doi:10.1152/japplphysiol.00969.2001.

Mosekilde, L. *et al.* (2000) 'Treatment with risedronate or alendronate prevents hind-limb immobilization-induced loss of bone density and strength in adult female rats', *Bone*, 27(5), pp. 639–645. doi:10.1016/s8756-3282(00)00375-6.

Muir, G.D. and Whishaw, I.Q. (1999) 'Complete locomotor recovery following corticospinal tract lesions: measurement of ground reaction forces during overground locomotion in rats', *Behavioural Brain Research*, 103(1), pp. 45–53. doi:10.1016/s0166-4328(99)00018-2.

Mysoet, J. *et al.* (2017) 'Reorganization of motor cortex and impairment of motor performance induced by hindlimb unloading are partially reversed by cortical IGF-1 administration', *Behavioural Brain Research*, 317, pp. 434–443. doi:10.1016/j.bbr.2016.10.005.

Nakajima, K., Matsuyama, K. and Mori, S. (1998) 'Prenatal administration of para-chlorophenylalanine results in suppression of serotonergic system and disturbance of swimming movements in newborn rats', *Neuroscience Research*, 31(2), pp. 155–169. doi:10.1016/s0168-0102(98)00034-0.

Nakanishi, S.T. and Whelan, P.J. (2010) 'Diversification of intrinsic motoneuron electrical properties during normal development and botulinum toxin-induced muscle paralysis in early postnatal mice', *Journal of Neurophysiology*, 103(5), pp. 2833–2845. doi:10.1152/jn.00022.2010.

Narayanan, C.H., Hamburger, V. and Fox, M.W. (1971) 'Prenatal development of spontaneous and evoked activity in the rat (Rattus norvegicus albinus)', *Behaviour*, 40(1–2), pp. 100–133.

Narici, M.V. and de Boer, M.D. (2011) 'Disuse of the musculo-skeletal system in space and on earth', *European Journal of Applied Physiology*, 111(3), pp. 403–420. doi:10.1007/s00421-010-1556-x.

Ngomo, S., Leonard, G. and Mercier, C. (2012) 'Influence of the amount of use on hand motor cortex representation: effects of immobilization and motor training', *Neuroscience*, 220, pp. 208–214.

Nielsen, J. and Kagamihara, Y. (1993) 'The regulation of presynaptic inhibition during co-contraction of antagonistic muscles in man.', *The Journal of physiology*, 464(1), pp. 575–593.

Nishimaru, H. *et al.* (1996) 'Spontaneous motoneuronal activity mediated by glycine and GABA in the spinal cord of rat fetuses in vitro.', *The Journal of physiology*, 497(1), pp. 131–143.

Nishimaru, H. and Kudo, N. (2000) 'Formation of the central pattern generator for locomotion in the rat and mouse', *Brain research bulletin*, 53(5), pp. 661–669.

Noga, B.R. *et al.* (2017) 'Monoamine Release in the Cat Lumbar Spinal Cord during Fictive Locomotion Evoked by the Mesencephalic Locomotor Region', *Frontiers in Neural Circuits*, 11, p. 59. doi:10.3389/fncir.2017.00059.

Nudo, R.J. *et al.* (1996) 'Use-dependent alterations of movement representations in primary motor cortex of adult squirrel monkeys', *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 16(2), pp. 785–807.

O'Donovan, M.J. (1999) 'The origin of spontaneous activity in developing networks of the vertebrate nervous system', *Current opinion in neurobiology*, 9(1), pp. 94–104.

Ohira, Y. *et al.* (2002) 'Gravitational unloading effects on muscle fiber size, phenotype and myonuclear number', *Advances in space research: the official journal of the Committee on Space Research (COSPAR)*, 30(4), pp. 777–781. doi:10.1016/s0273-1177(02)00395-2.

Oliver, K.M. *et al.* (2021) 'Molecular correlates of muscle spindle and Golgi tendon organ afferents', *Nature Communications*, 12(1), p. 1451. doi:10.1038/s41467-021-21880-3.

Ondracek, J. and Hahnloser, R. (2014) 'Advances in Understanding the Auditory Brain of Songbirds', in. doi:10.1007/2506_2013_31.

Orlovskii, G.N. and Fel'dman, A.G. (1972) 'Role of afferent activity in the generation of stepping movements', *Neurophysiology*, 4(4), pp. 304–310.

Pambo-Pambo, A., Durand, J. and Gueritaud, J.-P. (2009) 'Early excitability changes in lumbar motoneurons of transgenic SOD1G85R and SOD1G93A-Low mice', *Journal of neurophysiology*, 102(6), pp. 3627–3642.

Pearson, K.G. (2004) 'Generating the walking gait: role of sensory feedback', *Progress in Brain Research*, 143, pp. 123–129. doi:10.1016/S0079-6123(03)43012-4.

Pearson, K.G. and Misiaszek, J.E. (2000) 'Use-dependent gain change in the reflex contribution to extensor activity in walking cats', *Brain Research*, 883(1), pp. 131–134. doi:10.1016/s0006-8993(00)02880-8.

Personius, K.E. and Balice-Gordon, R.J. (2000) 'Activity-dependent editing of neuromuscular synaptic connections', *Brain research bulletin*, 53(5), pp. 513–522.

Petersson, P. *et al.* (2003) 'Spontaneous muscle twitches during sleep guide spinal self-organization', *Nature*, 424(6944), pp. 72–75.

Pflieger, J.-F., Clarac, F. and Vinay, L. (2002) 'Postural modifications and neuronal excitability changes induced by a short-term serotonin depletion during neonatal development in the rat', *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 22(12), pp. 5108–5117.

Plautz, E.J., Milliken, G.W. and Nudo, R.J. (2000) 'Effects of Repetitive Motor Training on Movement Representations in Adult Squirrel Monkeys: Role of Use versus Learning', *Neurobiology of Learning and Memory*, 74(1), pp. 27–55. doi:10.1006/nlme.1999.3934.

Prochazka, A., Sontag, K.H. and Wand, P. (1978) 'Motor reactions to perturbations of gait: proprioceptive and somesthetic involvement', *Neuroscience Letters*, 7(1), pp. 35–39. doi:10.1016/0304-3940(78)90109-x.

Proske, U. (1979) 'The golgi tendon organ', *Trends in Neurosciences*, 2, pp. 7–8. doi:https://doi.org/10.1016/0166-2236(79)90004-3.

Proske, U. (1997) 'The mammalian muscle spindle', *Physiology*, 12(1), pp. 37–42.

Proske, U. and Gandevia, S.C. (2012) 'The proprioceptive senses: their roles in signaling body shape, body position and movement, and muscle force', *Physiological Reviews*, 92(4), pp. 1651–1697. doi:10.1152/physrev.00048.2011.

Quevedo, J. *et al.* (2005) 'Stumbling corrective reaction during fictive locomotion in the cat', *Journal of Neurophysiology*, 94(3), pp. 2045–2052. doi:10.1152/jn.00175.2005.

Reinking, R.M., Stephens, J.A. and Stuart, D.G. (1975) 'The tendon organs of cat medial gastrocnemius: significance of motor unit type and size for the activation of Ib afferents.', *The Journal of physiology*, 250(3), pp. 491–512.

Robinson, S.R., Kleven, G.A. and Brumley, M.R. (2008) 'Prenatal development of interlimb motor learning in the rat fetus', *Infancy*, 13(3), pp. 204–228.

Romanes, G.J. (1951) 'The motor cell columns of the lumbo-sacral spinal cord of the cat', *Journal of Comparative Neurology*, 94(2), pp. 313–363.

Rosenzweig, M.R. and Bennett, E.L. (1996) 'Psychobiology of plasticity: effects of training and experience on brain and behavior', *Behavioural Brain Research*, 78(1), pp. 57–65. doi:10.1016/0166-4328(95)00216-2.

van Rosmalen, L., van der Horst, F.C.P. and van der Veer, R. (2012) 'Of monkeys and men: Spitz and Harlow on the consequences of maternal deprivation', *Attachment & Human Development*, 14(4), pp. 425–437. doi:10.1080/14616734.2012.691658.

Rossignol, S., Dubuc, R. and Gossard, J.-P. (2006) 'Dynamic sensorimotor interactions in locomotion', *Physiological Reviews*, 86(1), pp. 89–154. doi:10.1152/physrev.00028.2005.

Rudomin, P. and Schmidt, R.F. (1999) 'Presynaptic inhibition in the vertebrate spinal cord revisited', *Experimental brain research*, 129(1), pp. 1–37.

Rybak, I.A., Dougherty, K.J. and Shevtsova, N.A. (2015) 'Organization of the Mammalian Locomotor CPG: Review of Computational Model and Circuit Architectures Based on Genetically Identified Spinal Interneurons(1,2,3)', *eNeuro*, 2(5), p. ENEURO.0069-15.2015. doi:10.1523/ENEURO.0069-15.2015.

Sanes, J.N., Suner, S. and Donoghue, J.P. (1990) 'Dynamic organization of primary motor cortex output to target muscles in adult rats I. Long-term patterns of reorganization following motor or mixed peripheral nerve lesions', *Experimental Brain Research*, 79(3), pp. 479–491.

Sanes, J.R. and Lichtman, J.W. (1999) 'Development of the vertebrate neuromuscular junction', *Annual review of neuroscience*, 22(1), pp. 389–442.

Schiaffino, S. and Reggiani, C. (2011) 'Fiber types in mammalian skeletal muscles', *Physiological Reviews*, 91(4), pp. 1447–1531. doi:10.1152/physrev.00031.2010.

Schieppati, M. (1987) 'The Hoffmann reflex: a means of assessing spinal reflex excitability and its descending control in man', *Progress in neurobiology*, 28(4), pp. 345–376.

Schillings, A.M. *et al.* (2000) 'Muscular responses and movement strategies during stumbling over obstacles', *Journal of Neurophysiology*, 83(4), pp. 2093–2102. doi:10.1152/jn.2000.83.4.2093.

Schillings, A.M., Van Wezel, B.M. and Duysens, J. (1996) 'Mechanically induced stumbling during human treadmill walking', *Journal of Neuroscience Methods*, 67(1), pp. 11–17. doi:10.1016/0165-0270(95)00149-2.

Schröder, J.M. *et al.* (1989) 'Scanning electron microscopy of teased intrafusal muscle fibers from rat muscle spindles', *Muscle & Nerve*, 12(3), pp. 221–232. doi:10.1002/mus.880120311.

Schuenke, M.D. *et al.* (2009) 'Effects of 14 days of microgravity on fast hindlimb and diaphragm muscles of the rat', *European Journal of Applied Physiology*, 106(6), pp. 885–892. doi:10.1007/s00421-009-1091-9.

Seebach, B.S. and Mendell, L.M. (1996) 'Maturation in properties of motoneurons and their segmental input in the neonatal rat', *Journal of neurophysiology*, 76(6), pp. 3875–3885.

Seebach, B.S. and Ziskind-Conhaim, L. (1994) 'Formation of transient inappropriate sensorimotor synapses in developing rat spinal cords', *Journal of Neuroscience*, 14(7), pp. 4520–4528.

Seki, K., Kizuka, T. and Yamada, H. (2007) 'Reduction in maximal firing rate of motoneurons after 1-week immobilization of finger muscle in human subjects', *Journal of Electromyography and Kinesiology*, 17(2), pp. 113–120.

Seki, K., Taniguchi, Y. and Narusawa, M. (2001) 'Alterations in contractile properties of human skeletal muscle induced by joint immobilization', *The Journal of Physiology*, 530(Pt 3), pp. 521–532. doi:10.1111/j.1469-7793.2001.0521k.x.

Seki, Kazuhiko, Taniguchi, Y. and Narusawa, M. (2001) 'Effects of joint immobilization on firing rate modulation of human motor units', *The Journal of physiology*, 530(3), pp. 507–519.

von Senden, M. (1960) *Space and sight: the perception of space and shape in the congenitally blind before and after operation*. Oxford, England: Free Press of Glencoe (Space and sight: the perception of space and shape in the congenitally blind before and after operation).

Sherrington, C.S. (1907) 'On reciprocal innervation of antagonistic muscles.— Tenth note', *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character*, 79(532), pp. 337–349.

SHERRINGTON, C.S. (1907) 'ON THE PROPRIO-CEPTIVE SYSTEM, ESPECIALLY IN ITS REFLEX ASPECT', *Brain*, 29(4), pp. 467–482. doi:10.1093/brain/29.4.467.

Sherrington, C.S. (1910) 'Remarks on the reflex mechanism of the step', *Brain*, 33(1), pp. 1–25.

Shik, M.L., Severin, F.V. and Orlovskiĭ, G.N. (1966) '[Control of walking and running by means of electric stimulation of the midbrain]', *Biofizika*, 11(4), pp. 659–666.

Shimano, M.M. and Volpon, J.B. (2009) 'Biomechanics and structural adaptations of the rat femur after hindlimb suspension and treadmill running', *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira De Pesquisas Medicas E Biologicas*, 42(4), pp. 330–338. doi:10.1590/s0100-879x2009000400004.

Siegel, M.I. (1970) 'The tail, locomotion and balance in mice', *American Journal of Physical Anthropology*, 33(1), pp. 101–102.

Simske, S.J., Greenberg, A.R. and Luttges, M.W. (1991) 'Effects of suspension-induced osteopenia on the mechanical behaviour of mouse long bones', *Journal of Materials Science. Materials in Medicine*, 2(1), pp. 43–50. doi:10.1007/BF00701686.

Sloper, J. (1993) 'Competition and cooperation in visual development', *undefined* [Preprint]. Available at: https://www.semanticscholar.org/paper/Competition-and-cooperation-in-visual-development-Sloper/8d6673d61060ca4124900248213 9c7c2c87f84c8/figure/0 (Accessed: 30 June 2021).

Smith, C.C. *et al.* (2017) 'Descending Systems Direct Development of Key Spinal Motor Circuits', *The Journal of Neuroscience*, 37(26), pp. 6372–6387. doi:10.1523/JNEUROSCI.0149-17.2017.

Smith, C.C. and Brownstone, R.M. (2020) 'Spinal motoneuron firing properties mature from rostral to caudal during postnatal development of the mouse', *The Journal of Physiology*, 598(23), pp. 5467–5485.

Sokoloff, G. *et al.* (2015) 'Twitch-related and rhythmic activation of the developing cerebellar cortex', *Journal of Neurophysiology*, 114(3), pp. 1746–1756. doi:10.1152/jn.00284.2015.

Sonner, M.J., Walters, M.C. and Ladle, D.R. (2017) 'Analysis of Proprioceptive Sensory Innervation of the Mouse Soleus: A Whole-Mount Muscle Approach', *PloS One*, 12(1), p. e0170751. doi:10.1371/journal.pone.0170751.

Spencer, J.D., Hayes, K.C. and Alexander, I.J. (1984) 'Knee joint effusion and quadriceps reflex inhibition in man.', *Archives of physical medicine and rehabilitation*, 65(4), pp. 171–177.

Spitz, R.A. (1946) 'Hospitalism', *The Psychoanalytic Study of the Child*, 2(1), pp. 113–117. doi:10.1080/00797308.1946.11823540.

Spitz, R.A. (1949) 'The Role of Ecological Factors in Emotional Development in Infancy', *Child Development*, 20(3), pp. 145–155. doi:10.2307/1125870.

Spitz, R.A. and Wolf, K.M. (1946) 'Anaclitic Depression', *The Psychoanalytic Study of the Child*, 2(1), pp. 313–342. doi:10.1080/00797308.1946.11823551.

Stelzner, D.J. (1971) 'The normal postnatal development of synaptic end-feet in the lumbosacral spinal cord and of responses in the hind limbs of the albino rat', *Experimental Neurology*, 31(3), pp. 337–357. doi:10.1016/0014-4886(71)90237-8.

Stepien, A.E. and Arber, S. (2008) 'Probing the locomotor conundrum: descending the "V" interneuron ladder', *Neuron*, 60(1), pp. 1–4. doi:10.1016/j.neuron.2008.09.030.

Stigger, F. *et al.* (2011) 'Treadmill training induces plasticity in spinal motoneurons and sciatic nerve after sensorimotor restriction during early postnatal period: new insights into the clinical approach for children with cerebral palsy', *International Journal of Developmental Neuroscience: The Official Journal of the International Society for Developmental Neuroscience*, 29(8), pp. 833–838. doi:10.1016/j.ijdevneu.2011.09.002.

Strata, F. *et al.* (2004) 'Effects of sensorimotor restriction and anoxia on gait and motor cortex organization: implications for a rodent model of cerebral palsy', *Neuroscience*, 129(1), pp. 141–156. doi:10.1016/j.neuroscience.2004.07.024.

Taccola, G. (2011) 'The locomotor central pattern generator of the rat spinal cord in vitro is optimally activated by noisy dorsal root waveforms', *Journal of neurophysiology*, 106(2), pp. 872–884.

Takeoka, A. *et al.* (2014) 'Muscle spindle feedback directs locomotor recovery and circuit reorganization after spinal cord injury', *Cell*, 159(7), pp. 1626–1639. doi:10.1016/j.cell.2014.11.019.

Talmadge, R.J. *et al.* (1995) 'Adaptations in myosin heavy chain profile in chronically unloaded muscles', *Basic and applied myology: BAM*, 5(2), pp. 117–137.

Thiels, E., Alberts, J.R. and Cramer, C.P. (1990) 'Weaning in rats: II. Pup behavior patterns', *Developmental Psychobiology*, 23(6), pp. 495–510. doi:10.1002/dev.420230605.

Toldia, J. *et al.* (1996) 'Biphasic reorganization of somatotopy in the primary motor cortex follows facial nerve lesions in adult rats', *Neuroscience letters*, 203(3), pp. 179–182.

Trimble, M.H. and Koceja, D.M. (1994) 'Modulation of the triceps surae H-reflex with training', *International Journal of Neuroscience*, 76(3–4), pp. 293–303.

Ulfhake, B. and Cullheim, S. (1988) 'Postnatal development of cat hind limb motoneurons. II: In vivo morphology of dendritic growth cones and the maturation of dendrite morphology', *Journal of Comparative Neurology*, 278(1), pp. 88–102.

Ulfhake, B., Cullheim, S. and Franson, P. (1988) 'Postnatal development of cat hind limb motoneurons. I: Changes in length, branching structure, and spatial distribution of dendrites of cat triceps surae motoneurons', *Journal of Comparative Neurology*, 278(1), pp. 69–87.

Vanderhorst, V.G. and Holstege, G. (1997) 'Organization of lumbosacral motoneuronal cell groups innervating hindlimb, pelvic floor, and axial muscles in the cat', *The Journal of Comparative Neurology*, 382(1), pp. 46–76.

Veldhuizen, J.W. *et al.* (1993) 'Functional and morphological adaptations following four weeks of knee immobilization', *International Journal of Sports Medicine*, 14(5), pp. 283–287. doi:10.1055/s-2007-1021178.

Vermaelen, M. *et al.* (2005) 'Ubiquitin targeting of rat muscle proteins during short periods of unloading', *Acta Physiologica Scandinavica*, 185(1), pp. 33–40. doi:10.1111/j.1365-201X.2005.01446.x.

Vertes, R.P. (1984) 'Brainstem control of the events of REM sleep', *Progress in neurobiology*, 22(3), pp. 241–288.

Viaro, R. *et al.* (2014) 'Adaptive changes in the motor cortex during and after longterm forelimb immobilization in adult rats', *The Journal of Physiology*, 592(10), pp. 2137–2152. doi:10.1113/jphysiol.2013.268821.

Vinay, L. *et al.* (2000) 'Perinatal development of lumbar motoneurons and their inputs in the rat', *Brain Research Bulletin*, 53(5), pp. 635–647. doi:10.1016/s0361-9230(00)00397-x.

Vinay, L. *et al.* (2002) 'Development of posture and locomotion: an interplay of endogenously generated activities and neurotrophic actions by descending pathways', *Brain Research. Brain Research Reviews*, 40(1–3), pp. 118–129. doi:10.1016/s0165-0173(02)00195-9.

Vinay, L., Brocard, F. and Clarac, F. (2000) 'Differential maturation of motoneurons innervating ankle flexor and extensor muscles in the neonatal rat', *The European Journal of Neuroscience*, 12(12), pp. 4562–4566. doi:10.1046/j.0953-816x.2000.01321.x.

Voerman, G.E., Gregorič, M. and Hermens, H.J. (2005) 'Neurophysiological methods for the assessment of spasticity: the Hoffmann reflex, the tendon reflex, and the stretch reflex', *Disability and rehabilitation*, 27(1–2), pp. 33–68.

Walton, K.D. *et al.* (1992) 'Identification of a critical period for motor development in neonatal rats', *Neuroscience*, 51(4), pp. 763–767. doi:10.1016/0306-4522(92)90517-6.

Walton, K.D. and Navarrete, R. (1991) 'Postnatal changes in motoneurone electrotonic coupling studied in the in vitro rat lumbar spinal cord', *The Journal of Physiology*, 433, pp. 283–305. doi:10.1113/jphysiol.1991.sp018426.

Wang, X.D. *et al.* (2006) 'Mechanical load-dependent regulation of satellite cell and fiber size in rat soleus muscle', *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 290(4), pp. C981-989. doi:10.1152/ajpcell.00298.2005.

Watson, C. *et al.* (2009) 'Chapter 15 - Atlas of the Rat Spinal Cord', in Watson, C., Paxinos, G., and Kayalioglu, G. (eds) *The Spinal Cord*. San Diego: Academic Press, pp. 238–306. doi:10.1016/B978-0-12-374247-6.50019-5.

Watt, D.G. *et al.* (1976) 'Analysis of muscle receptor connections by spike-triggered averaging. 1. Spindle primary and tendon organ afferents', *Journal of Neurophysiology*, 39(6), pp. 1375–1392.

Webb, C.B. and Cope, T.C. (1992) 'Modulation of Ia EPSP amplitude: the effects of chronic synaptic inactivity', *Journal of Neuroscience*, 12(1), pp. 338–344.

Westerga, J. and Gramsbergen, A. (1992) 'Structural changes of the soleus and the tibialis anterior motoneuron pool during development in the rat', *The Journal of Comparative Neurology*, 319(3), pp. 406–416. doi:10.1002/cne.903190307.

Westerga, J. and Gramsbergen, A. (1993) 'Development of locomotion in the rat: the significance of early movements', *Early Human Development*, 34(1–2), pp. 89–100. doi:10.1016/0378-3782(93)90044-u.

Wetzel, M.C. *et al.* (1976) 'Kinematics of locomotion by cats with a single hindlimb deafferented', *Journal of Neurophysiology*, 39(4), pp. 667–678.

Whelan, P.J. (1996) 'Control of locomotion in the decerebrate cat', *Progress in Neurobiology*, 49(5), pp. 481–515. doi:10.1016/0301-0082(96)00028-7.

Wiesel, T.N. and Hubel, D.H. (1963) 'SINGLE-CELL RESPONSES IN STRIATE CORTEX OF KITTENS DEPRIVED OF VISION IN ONE EYE', *Journal of Neurophysiology*, 26, pp. 1003–1017. doi:10.1152/jn.1963.26.6.1003.

Wilkinson, K.A., Kloefkorn, H.E. and Hochman, S. (2012) 'Characterization of muscle spindle afferents in the adult mouse using an in vitro muscle-nerve preparation', *PloS One*, 7(6), p. e39140. doi:10.1371/journal.pone.0039140.

Wilson, P.D. and Riesen, A.H. (1966) 'Visual development in rhesus monkeys neonatally deprived of patterned light', *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 61(1), pp. 87–95. doi:10.1037/h0022873.

Yu, Y. *et al.* (2015) 'Comparison of commonly used retrograde tracers in rat spinal motor neurons', *Neural regeneration research*, 10(10), p. 1700.

Yvert, B., Branchereau, P. and Meyrand, P. (2004) 'Multiple spontaneous rhythmic activity patterns generated by the embryonic mouse spinal cord occur within a specific developmental time window', *Journal of neurophysiology*, 91(5), pp. 2101–2109.

Zehr, E.P., Komiyama, T. and Stein, R.B. (1997) 'Cutaneous reflexes during human gait: electromyographic and kinematic responses to electrical stimulation', *Journal of Neurophysiology*, 77(6), pp. 3311–3325. doi:10.1152/jn.1997.77.6.3311.

Zhang, Y. *et al.* (2010) 'Effects of maternal food restriction on physical growth and neurobehavior in newborn Wistar rats', *Brain Research Bulletin*, 83(1), pp. 1–8. doi:10.1016/j.brainresbull.2010.06.005.

Zhu, J. *et al.* (2012) 'Four subtypes of motor neurons exhibiting mutually exclusive firing patterns in the spinal ventral horn', *Neuroscience letters*, 525(2), pp. 163–167.

Ziskind-Conhaim, L. (1990) 'NMDA receptors mediate poly-and monosynaptic potentials in motoneurons of rat embryos', *Journal of Neuroscience*, 10(1), pp. 125–135.

Zoetis, T. *et al.* (2003) 'Species comparison of postnatal bone growth and development', *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, 68(2), pp. 86–110.