



**HAL**  
open science

# Locomotion et franchissement d'obstacles après lésion cérébrale : étude cinématique chez le rat

Olivier Perrot

► **To cite this version:**

Olivier Perrot. Locomotion et franchissement d'obstacles après lésion cérébrale : étude cinématique chez le rat. Médecine humaine et pathologie. Université de Bourgogne, 2010. Français. NNT : 2010DIJOS043 . tel-00596578

**HAL Id: tel-00596578**

**<https://theses.hal.science/tel-00596578>**

Submitted on 27 May 2011

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**UNIVERSITE DE BOURGOGNE**

**Ecole Doctorale des Sciences de la vie**

**THÈSE**

**Pour obtenir le grade de  
Docteur de l'Université de Bourgogne**

**Discipline : Neurosciences**

**par**

**Olivier Perrot**

**Soutenu le 13 décembre 2010**

**Locomotion et franchissements d'obstacles  
après lésion cérébrale. Etude cinématique  
chez le rat**

**Directeur de thèse**

**Pr. Christine Marie**

**Jury :**

**Pr Boulouard M. (Université de Normandie, Caen)**

**Rapporteur**

**Dr Canu MH. (Université du Nord-Pas-de-Calais, Lille)**

**Rapporteur**

**Pr Pozzo Thierry (Université de Bourgogne, Dijon)**

**Examineur**

**Dr Cazalets Jean-René (Université Bordeaux 2)**

**Examineur**

**Pr Marie Christine**

## **REMERCIEMENTS**

A Madame Christine Marie, Professeur de Physiologie à la Faculté de Pharmacie de Dijon,  
Pour m'avoir soutenu et souvent porté dans toutes les étapes et difficultés de ce travail de thèse,  
Pour sa disponibilité et sa rigueur scientifique,  
Et pour m'avoir aidé à trouver ma voie professionnelle,  
Qu'elle trouve ici l'expression de mes plus vifs remerciements.

A Madame Marie Hélène Canu, Enseignant Chercheur à la Faculté des Sciences et Technologies de Lille  
Qui m'a fait l'honneur de juger ce travail,  
Qu'elle soit assurée de mes sincères remerciements

A Monsieur Michel Boulouard, Professeur de Pharmacologie à la Faculté de Pharmacie de Caen,  
Qui m'a fait l'honneur de juger ce travail,  
Qu'il soit assuré de mes sincères remerciements

A Monsieur Jean-rené Cazalets, directeur de l'UMR 5227 Mouvement-Adaptation-Cognition à l'Université de Bordeaux 2,  
Qui m'a fait l'honneur d'examiner ce travail,  
Qu'il soit assuré de mes sincères remerciements

A Monsieur Thierry Pozzo, directeur de l'unité INSERM U887 Motricité-Plasticité à l'université de Dijon, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire et pour avoir apporté ses idées aux discussions des publications,  
Qu'il trouve ici le témoignage de ma gratitude.

A Monsieur Davy Laroche, Docteur en sciences de la vie de l'Université de Dijon,  
Pour son aide précieuse à l'écriture de programmes informatiques,  
Sans laquelle je n'aurai pu avancer dans mon travail,  
Qu'il reçoive ici mes plus vifs remerciements.

A Madame Nathalie Bertrand, Professeur de Pharmacologie à l'IUT de Dijon,  
Qui a accepté d'être membre de mon comité de suivi de thèse,  
Qu'elle trouve ici le témoignage de ma gratitude.

A Monsieur Claude Mossiat, Ingénieur, à la Faculté de Pharmacie de Dijon,  
Pour m'avoir formé aux techniques physiologiques,  
Pour sa rigueur et son sérieux,  
Pour la patience dont il a fait preuve à mon égard,  
Qu'il soit assuré de ma sincère reconnaissance.

A Lauriane, ma compagne, Elisabeth, ma mère et Fabienne, ma belle mère,  
Pour le soutien qu'elles m'ont apporté dans mon travail.

A Alexandre Madinier, Anne Tessier, Philippe Garnier et Jean-Michel Hlubina.



# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION et OBJECTIFS</b> .....	5
--	---

<b>REVUE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	8
------------------------------------	---

I) Données générales sur la locomotion.....	9
II) Analyse de la locomotion chez le rat.....	10
1) Analyse restreinte de la locomotion.....	10
2) Analyse cinématique de la locomotion.....	11
III) Les voies nerveuses de la locomotion.....	12
1) Les CPG.....	12
a) Mise en évidence et fonctionnement.....	12
b) Contrôle réflexe.....	14
c) Contrôle par les régions locomotrices.....	15
2) Les voies motrices descendantes.....	17
a) Le système ventromédian.....	17
b) Le système dorsolatéral.....	19
3) Ganglions de la base et locomotion.....	22
a) Données anatomiques.....	22
b) Rôle du Striatum dans la locomotion.....	25

<b>MATERIELS et METHODES</b> .....	28
------------------------------------	----

I) Etude de la locomotion.....	29
1) Appareillage.....	29
a) Le système optoélectronique.....	29
b) Tapis roulant.....	30
c) Obstacles.....	30
2) Les étapes pré- et post capture du mouvement.....	31
a) Calibration.....	31
b) Identification des marqueurs et traitement des images.....	31

3) Préparation des animaux.....	32
a) Sélection des rats.....	32
b) Détermination de l'emplacement des marqueurs.....	33
c) Capture du mouvement.....	33
4) Paramètres cinématiques mesurés.....	34
a) Lors de la locomotion stéréotypée.....	35
b) Lors du franchissement d'obstacles.....	39
II) Modèles de lésions cérébrales.....	41
1) Lésion du cortex cérébral.....	41
2) Lésion du striatum dorsal.....	42
III) Etude histologique du cerveau.....	43

<b>TRAVAUX PERSONNELS.....</b>	<b>46</b>
--------------------------------	-----------

I) Première étude : .....	47
Publication soumise dans le journal Behavioural Brain Research sous le titre : “Kinematics of obstacle clearance in the rat”	
II) Deuxième étude .....	83
Publication parue dans le journal Plos One sous le titre : « Quantitative assessment of stereotyped and challenged locomotion after lesion of the striatum: A 3D Kinematic study in rats”	
III) Troisième étude : Effet de la lésion du cortex cérébral sur la locomotion.....	98
1) Objectif.....	98
2) Induction de la lésion.....	98
3) Protocole expérimental.....	98
4) Résultats.....	99
a) Effets de la lésion sur la locomotion stéréotypée.....	99
b) Effets de la lésion sur la locomotion dirigée.....	100
5) Discussion.....	107

<b>CONCLUSIONS et PERSPECTIVES.....</b>	<b>111</b>
---	------------

<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>115</b>
---------------------------	------------

# **INTRODUCTION et OBJECTIFS**

Le cerveau est plastique à tout âge et le cerveau adulte reste doté d'une incroyable capacité à remodeler ses réseaux neuronaux en cas de lésion. Ce remodelage contribue à la régression spontanée du déficit neurologique observé chez la majorité des patients victimes d'un accident vasculaire cérébral ou encore au long délai d'apparition des premiers symptômes cliniques chez les patients souffrant de maladies neurodégénératives comme la maladie de Parkinson ou de Huntington. Par ailleurs, les déficiences motrices associées à ces pathologies sont améliorées par une rééducation adaptée aussi bien chez l'homme que chez l'animal. Ces données expliquent pourquoi de gros espoirs thérapeutiques sont fondés sur les stratégies pharmacologiques capables, comme la rééducation, de potentialiser la réponse plastique du cerveau à la mort neuronale. Dans ce contexte, les recherches conduites au laboratoire ont pour objectif d'identifier les mécanismes biochimiques qui sous-tendent la plasticité post-lésionnelle, cibles des futurs médicaments capables d'interférer avec la récupération fonctionnelle. Les expériences sont conduites chez le rat soumis soit à une lésion corticale d'origine ischémique soit à une lésion striatale d'origine métabolique. Cependant, pour vérifier que les interventions pharmacologiques qui interfèrent avec la biochimie de la neuroplasticité post-lésionnelle ont bien des répercussions sur l'état neurologique des animaux, il est nécessaire de disposer de tests fonctionnels devant répondre à trois critères: 1) le test doit explorer une fonction qui sera altérée de façon suffisamment durable par la lésion, 2) le déficit fonctionnel révélé par le test doit régresser de façon spontanée dans le temps, 3) le test ne doit pas poser de problème d'objectivité (déficit exprimé par des variables quantitatives continues).

Le laboratoire a précédemment montré que la lésion du cerveau, qu'elle soit corticale ou striatale, conduisait à une réduction de la performance des animaux à réaliser le test de la poutre (Millerot-Serruot et coll, 2007). Ce test qui permet de coter à l'œil l'utilisation et le placement des pattes lors de la traversée d'une poutre étroite et surélevée, a révélé l'existence d'anomalies pour les pattes contralatérales à la lésion. Aussi, nous avons émis l'hypothèse selon laquelle une analyse détaillée de la locomotion à partir de l'imagerie du mouvement constituait un paradigme expérimental approprié pour quantifier de façon sensible et objective le déficit et la récupération sensorimotrice induits par chacun de nos modèles de lésion. Cette technologie a déjà été utilisée par d'autres laboratoires pour étudier la locomotion chez le rat et même la souris mais jamais en cas de lésion du cerveau.

Dans ce contexte, les objectifs de ma thèse ont été :

- d'adapter au rat la technologie d'imagerie du mouvement (système optoélectronique VICON) jusque-là dédiée, dans notre laboratoire, à l'étude du mouvement chez l'homme.
- de décrire la stratégie utilisée par le rat pour franchir un obstacle, tâche locomotrice qui n'a jamais fait l'objet d'étude chez le rat et qui est utilisée chez l'homme pour détecter les patients à risque de chutes.
- d'explorer dans quelle mesure les paramètres locomoteurs évoluent lors des études à long terme. En effet, les changements de poids corporel et le caractère continu de la croissance osseuse sont susceptibles d'introduire un biais dans l'interprétation des résultats.
- de quantifier le déficit locomoteur induit par les lésions corticale et striatale, la locomotion étant enregistrée lors d'une course sur tapis roulant (locomotion stéréotypée) ou lors du franchissement d'obstacles (locomotion dirigée) fixés sur le tapis roulant.

**REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

## I) Données générales sur la locomotion

La locomotion est un acte moteur, qui une fois déclenché, est réalisé sans effort conscient de façon automatique et stéréotypé grâce à l'existence de réseaux d'interneurones situés dans la moelle épinière. Ces réseaux sont connus sous le nom de « Générateurs Centraux de Rythmes (GCR) » ou « Générateurs Centraux de Patron » (GCP) traduction de l'anglais « *Central Pattern Generators* » (CPG). L'activité des CPG est responsable de l'activation coordonnée des motoneurones qui innervent les muscles extenseurs et fléchisseurs sollicités respectivement pendant la phase d'appui et la phase d'oscillation. Cette activité rythmique et coordonnée génère ce que l'on appelle le pattern locomoteur, défini comme étant un schéma moteur global qui se répète d'un cycle locomoteur à l'autre. Au repos, les CPG sont silencieux et leur activation est déclenchée par les régions locomotrices du tronc cérébral. Pendant la marche, l'activité des CPG et des motoneurones est en permanence modulée par les réflexes cutanés et proprioceptifs (Grillner et Wallen, 1985 ; Rossignol et coll, 2006) ainsi que par les voies motrices descendantes (Armstrong, 1988 ; Grillner, 1985). Cette modulation par les voies sensibles et motrices permet d'adapter (de façon involontaire et volontaire) le pattern locomoteur au milieu environnant.

L'essentiel de ce qui est connu sur les voies nerveuses impliquées dans l'amorce, la modulation, et l'arrêt de la locomotion humaine, a été fourni par des expériences relativement anciennes conduites chez le chat. Dans certaines expériences, les paramètres locomoteurs et/ou l'activité électromyographique ont été analysés après lésion ou stimulation localisée du système nerveux, alors que dans d'autres expériences c'est l'activité électrique de différentes régions du système nerveux qui a été enregistrée pendant l'exécution de tâches locomotrices plus ou moins complexes. On peut préciser ici que les connaissances sur les CPG ont largement bénéficié des expériences de locomotion fictive (enregistrement de l'activité électrique des nerfs moteurs) chez l'animal spinal (section complète de la moelle épinière) et curarisé. Enfin, les études *in vivo* et *in vitro* (préparation de moelle épinière isolée) conduites sur d'autres espèces animales qu'il s'agisse de la lamproie, du mollusque, du céphalopode, du rongeur ou du singe ont également apporté leur lot d'informations.

## II) Analyse de la locomotion chez le rat

De nombreux tests sont actuellement disponibles pour quantifier le déficit sensorimoteur des pattes (surtout pattes antérieures) ou le déficit cognitif induit par une lésion du cerveau, et des efforts constants sont faits pour augmenter leur sensibilité et leur objectivité (Bouet et coll, 2009 ; Freret et coll, 2009 ; Haelewyn et coll, 2007). A l'opposé, le nombre d'outils développés chez le rat pour « quantifier » la fonction locomotrice résiduelle après lésion du système nerveux central est plutôt faible. Ils peuvent être classés en deux catégories : ceux qui évaluent un spectre limité de la locomotion et ceux qui renseignent sur la cinématique.

### 1) Analyse restreinte de la locomotion

Parmi les tests les plus utilisés, on peut citer le BBB test ou test de Basso, Beattie, Bresnahan, (Basso et coll, 1995), très utilisé en cas de lésion de la moelle épinière. Le test consiste à coter (sur une échelle de 21 points) le déficit des pattes postérieures par un examen visuel du rat placé dans un openfield. Un autre test qui permet de quantifier la coordination de la marche et le placement des pattes consiste à analyser les empreintes de l'animal dont l'extrémité des pattes est badigeonnée d'encre lors d'une locomotion spontanée dans un environnement plus ou moins restreint (Medinaceli et coll, 1982). Une version automatisée de ce test est disponible, c'est le Catwalk test qui peut être utilisé chez le rat (Wang et coll, 2008). L'exploration de la locomotion dirigée, qui requiert la modification du pattern locomoteur fait appel à d'autres tests comme la traversée d'une échelle horizontale (Metz et Wishaw, 2002) ou d'une poutre étroite surélevée (Ohlsson et Johansson, 1995). Il est possible de modifier l'espacement des barreaux de l'échelle pour éviter une mémorisation de la tâche lors de la répétition des tests et d'augmenter la difficulté de la traversée de la poutre en réduisant sa largeur ou son inclinaison. Le déficit est coté à l'aide d'un score qui prend en compte selon les laboratoires un ou plusieurs des paramètres qui suivent : la durée de la traversée, le nombre de mauvais placements des pattes, la posture de l'animal, le besoin d'une stimulation pour enclencher la traversée, le score étant établi à partir d'un examen visuel direct du rat ou de l'enregistrement d'une séquence vidéo de sa traversée. Ces tests sont réalisés en routine dans de nombreux laboratoires car ils sont faciles et rapides à mettre en œuvre même s'ils posent des problèmes en termes de sensibilité, de quantification (variable discontinue) et d'objectivité. De plus, ils ne permettent pas de savoir si l'amélioration de la



performance est due à la réacquisition d'un mouvement normal ou à la mise en jeu de mouvements compensateurs.

## 2) Analyse cinématique de la locomotion

L'analyse cinématique de la locomotion est la technique de référence pour étudier la locomotion chez l'Homme. Elle consiste à reconstruire la trajectoire des membres dans le temps et dans l'espace à partir de l'enregistrement à l'aide de caméras infrarouges et de marqueurs placés sur la peau en regard des joints articulaires. Cette technique d'imagerie du mouvement renseigne de façon sensible et précise la durée et la longueur des différentes phases du cycle, la vitesse du mouvement des pattes ainsi que leurs trajectoires. Cependant, son adaptation chez le rat et même la souris, espèces de petite taille au mouvement rapide des pattes, est relativement récente. Chez l'animal, la cinématique de la locomotion est le plus souvent restreinte à une analyse en deux dimensions portant sur une ou deux pattes, généralement les pattes postérieures, soit en conditions normales (Broton et coll, 1996 ; Gimenez y Ribotta et coll, 1998 ; McEwen et Stehouwer, 2001 ; Thota et coll, 2001 ; Pereira et coll, 2006), soit en conditions pathologiques comme par exemple en cas d'hypergravité (Bouet et coll, 2004), en cas de lésion de la moelle épinière (Collazos-castro et coll, 2006) ou de lésion du nerf sciatique (Varejao et coll, 2004). Alors que la précision et l'exactitude de l'excursion des joints articulaires sont meilleures lorsque l'analyse du mouvement est réalisée en 3D (Couto et coll, 2008), le nombre d'études utilisant l'analyse 3D de la locomotion est encore faible. De plus, la plupart d'entre elles se sont intéressées aux mouvements des pattes d'un seul hémicorps. Ainsi, Garnier et coll (2007) et Canu et coll (2009) ont étudié la locomotion du rat (normale ou soumise à une hypogravité prolongée) sur terrain plat ou lors de la traversée d'une échelle horizontale. D'autres études se sont intéressées à l'effet d'une lésion de la moelle épinière sur la locomotion (tapis roulant) de la souris (Courtine et coll, 2008) ou du rat (Petruska et coll, 2007). A notre connaissance, avant nos travaux, l'enregistrement simultané des quatre pattes chez le rat n'a été réalisé que dans une seule étude (Thota et coll, 2005) qui décrit la coordination des pattes lors d'une course sur un tapis roulant.

L'analyse cinématique de la locomotion chez l'animal admet cependant certaines limites liées à l'impossibilité de modéliser parfaitement le mouvement des pattes car la peau sur laquelle sont fixés les marqueurs est mobile. Le déplacement des marqueurs n'est donc

pas exactement celui des parties rigides du squelette. En d'autres termes, la trajectoire du marqueur ne correspond pas strictement à la trajectoire réelle de l'articulation, essentiellement pour l'articulation du genou. Afin de s'affranchir de ce problème, il a été proposé de calculer la position du marqueur du genou à l'aide d'une méthode géométrique de triangulation (Broton et coll, 1996). Cette méthode consiste à estimer la position du marqueur du genou à partir de la position des marqueurs de la hanche et de la cheville et des longueurs du tibia et du fémur mesurées à l'aide d'une simple règle sur l'animal. Filipe et coll (2006) a récemment étudié la cinématique des pattes postérieures du rat lors d'une course sur tapis roulant et a comparé les valeurs des angles articulaires obtenues lorsque la position du marqueur est réelle et lorsqu'elle est estimée (par la méthode de triangulation à partir de la mesure radiographique du tibia et du fémur). Les résultats montrent que la valeur des angles articulaires diffère entre les deux méthodes mais que l'évolution dans le temps des angles est tout à fait comparable entre les deux méthodes.

### III) Les voies nerveuses de la locomotion

#### 1) Les CPG

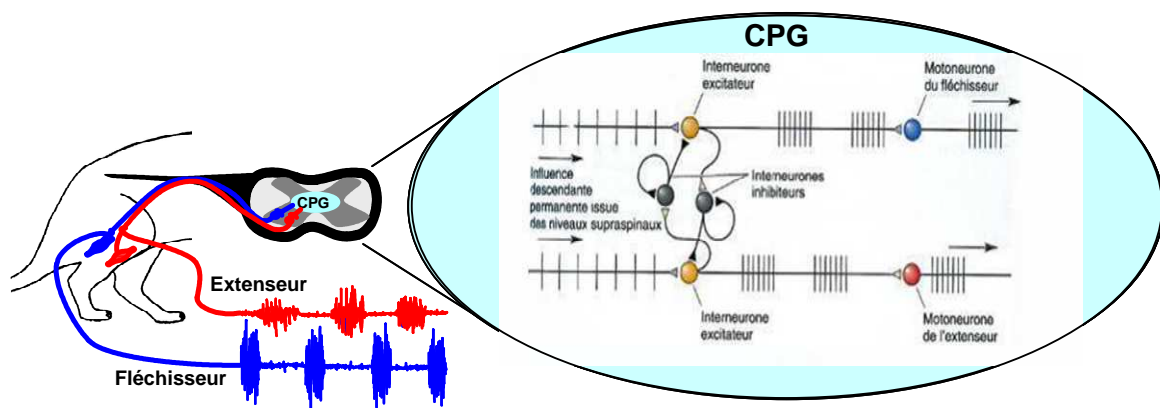
##### a) Mise en évidence et fonctionnement

Il y a plus de 90 ans, Graham Brown (1911, 1912) rapporte une contraction alternée des fléchisseurs et extenseurs de la cheville chez le chat après section de la moelle épinière et des racines dorsales. Ce résultat montre que la moelle épinière contient des neurones capables de produire un patron rythmique d'activité musculaire en l'absence de toute information sensitive en provenance des récepteurs somesthésiques et de toute information supraspinale. Il est à l'origine du concept de l'existence de CPG spinaux développé initialement par le suédois Sten Grillner (1981) et accepté maintenant dans le monde scientifique (Goulding, 2009 ; Butt and Kiehn, 2003 ; Garcia-campmany et coll, 2010 ; Kiehn 2006 pour revue).

Les points essentiels concernant les CPG chez le mammifère quadrupède sont :

- Les interneurons (excitateurs et inhibiteurs) qui contribuent à la génération du rythme émettent de façon spontanée ou en réponse à des neuromodulateurs des volées de potentiels d'action et fonctionnent comme des neurones « pacemaker ».

- Chaque patte est contrôlée par son propre CPG, localisé entre C7 et T1 pour les pattes antérieures et entre T11 et T13 et L1 et L6 pour les pattes postérieures.
- Chaque CPG comprend de multiples modules interconnectés permettant le contrôle indépendant des muscles fléchisseurs et extenseurs de chaque articulation (cf schéma ci-dessous).
- Des neurones commissuraux et des connections proprioceptives assurent la coordination entre les deux côtés de la moelle épinière et entre les pattes antérieures et postérieures.



*Proposition d'un circuit organisé susceptible de rendre compte d'une activité alternée. Les interneurons de ce générateur central de rythme (CPG) produisent un pattern de base en inhibant mutuellement les muscles fléchisseurs puis extenseurs via les motoneurons (Feldman et Grillner, 1983).*

Il n'existe évidemment que des arguments indirects en faveur de l'existence de CPG chez l'homme et le plus renommé des spécialistes sur le sujet est probablement le canadien V. Dietz. Parmi ces arguments, on peut citer l'existence de mouvements d'enjambement chez des patients avec lésion de la moelle épinière (Dietz et coll, 1995) ou encore l'existence de mouvements ressemblant à la marche chez le nouveau-né (Thelen et coll, 1981) ou chez l'enfant anencéphalique (Nashner et Forsberg, 1986). De plus, les expériences réalisées chez l'enfant et l'adulte sont en faveur de l'intervention d'un couplage neuronal flexible à l'étage spinal pour expliquer la coordination existant entre les deux jambes et celle existant entre les

membres supérieurs et inférieurs lors d'une activité de marche (Dietz, 2003). Enfin, des patients spinaux peuvent générer des mouvements locomoteurs et des patterns d'activation musculaire comparables à ceux des sujets normaux si leur corps est soutenu (Dietz, 1995). Chez l'homme, les CPG s'étaleraient tout le long de la moelle épinière de l'étage thoracolombaire à l'étage cervical (Dietz et coll, 1999).

#### b) Contrôle réflexe

Malgré leur capacité indéniable à produire de manière autonome une activité rythmique alternée caractéristique de l'activité locomotrice, l'activité des CPG est en permanence modulée lors de la marche par les afférences extéroceptives qui ont leur origine dans la peau des pattes, et les afférences proprioceptives qui ont leur origine dans les muscles, les tendons et les articulations des pattes. De façon importante, l'activité des CPG est également capable d'exercer un contrôle sur l'activité des afférents sensitifs. Dit autrement, les CPG choisissent les informations sensibles qui atteindront les motoneurons spinaux pendant la locomotion, ce qui permet d'adapter les réponses réflexes aux mouvements locomoteurs (Rossignol et coll, 2006). Cette interaction dynamique entre CPG et réflexes sensitifs complique l'étude du contrôle des CPG par les afférences sensibles. Enfin, il faut signaler ici que certains afférents sensitifs à destination spinale projettent directement non pas sur les CPG mais sur les motoneurons. Les données qui suivent sont pour l'essentiel extraites de revues récentes (Dietz, 2002 ; Büschges, 2005 ; Rossignol et coll, 2006).

Chez le chat, l'interruption unilatérale ou bilatérale des influx cutanés en provenance des pattes postérieures induit une dorsiflexion de la patte objectivée pendant la phase d'oscillation d'une marche sur tapis roulant, anomalie qui récupère rapidement. En revanche, si la dénervation est induite chez l'animal spinalisé, la dorsiflexion est prolongée. Toujours chez le chat, la dénervation cutanée n'est pas compatible avec la traversée d'une échelle horizontale pendant les 7 semaines qui suivent l'opération. Au-delà, la tâche peut être à nouveau réalisée grâce à la mise en place d'une compensation d'origine à la fois supraspinale et spinale. En effet, en cas de dénervation complète, le placement correct des pattes de l'animal sur les barreaux devient impossible en cas de spinalisation de l'animal (pas d'informations supraspinales) alors que le placement correct est possible même après spinalisation lorsque la dénervation est incomplète. Par ailleurs, une stimulation cutanée sur la face dorsale de la patte induit son hyperflexion si elle est appliquée pendant la phase

d'oscillation et son hyperextension si elle est appliquée pendant la phase d'appui. Chez le rat, la seule étude disponible montre que l'anesthésie plantaire (par le froid) des pattes postérieures ne modifie pas le pattern locomoteur mais induit une hyperextension de la hanche et du genou lors d'une course sur tapis roulant (Varejao et Filipe, 2007).

En faveur d'un contrôle des CPG par les afférences proprioceptives, la position et la force des pattes influencent le timing et la durée de l'activation des fléchisseurs (phase d'oscillation) et des extenseurs (phase d'appui) lors de la marche (Grillner et Rossignol, 1978 ; Duysens et Pearson, 1980) chez le chat spinalisé. Les études en locomotion fictive de Conway et coll (1987) chez le chat montrent que la stimulation du nerf plantaire avec recrutement des fibres Ib (en relation avec les organes tendineux de Golgi) met fin à l'activité des fléchisseurs lorsqu'elle est appliquée pendant la phase d'oscillation et augmente l'activité des extenseurs lorsqu'elle est appliquée pendant la phase d'appui.

#### c) Contrôle par les régions locomotrices

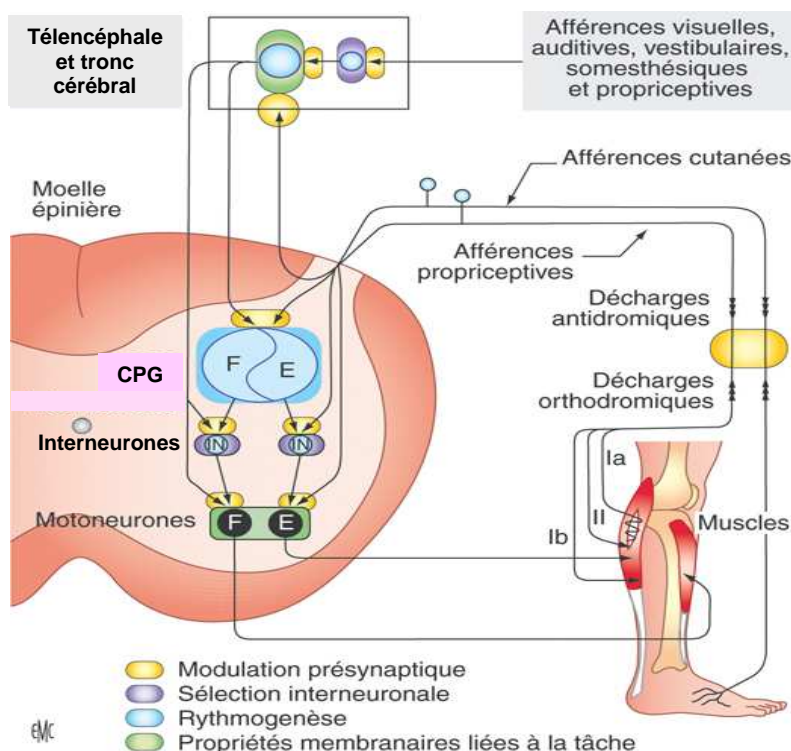
A l'état basal, les CPG sont au repos. Leur activation, qui est indispensable à l'initiation locomotrice, met en jeu des régions du tronc cérébral qui sont la région locomotrice mésencéphalique (RLM) et la région locomotrice sous thalamique (RLS) localisées dans le diencéphale. Les neurones formant ces régions font synapse avec les neurones réticulospinaux (Schwanzel-Fukuda et coll, 1984 ; Garcia-rill, 1986) projetant directement sur les CPG.

La RLM initialement découverte chez le chat par des russes dans les années 1960 comprend le noyau cunéiforme caudal, le brachium conjunctivum et une région du noyau pédonculopontin (NPP) (Takakusaki et coll, 2003). Le NPP n'est pas un noyau en tant que tel mais plutôt une structure réticulaire appartenant à la formation réticulée mésencéphalique. Le NPP est connecté aux ganglions de la base chez le rongeur et le singe, et aux aires corticales motrices du moins chez le primate (Aravamuthan et coll, 2009). Le NPP présente par ailleurs des connexions directes avec la moelle épinière chez le rongeur (Skinner et coll, 1990) mais pas chez le primate (Aravamuthan et coll, 2009). La stimulation électrique du NPP est capable de déclencher la locomotion, et l'augmentation progressive de l'intensité de la stimulation permet de passer de la marche au trot puis au galop chez le chat décérébré, mais supporté par les ceintures et dont les pattes sont en contact avec un tapis roulant en marche (Shik et

Orlovsky, 1976 ; Garcia-Rill et Skinner, 1987 ; Garcia-Rill et coll, 1990 ; Pahapill et Lozano, 2000). De plus, la lésion du NPP induit chez le primate une akinésie (Kojima et coll, 1997).

La RLS a été moins étudiée mais sa stimulation électrique engendre une activité locomotrice chez le rat et le chat. (Parker et Sinnamon, 1983 ; Milner et Mogenson, 1988; Mori et coll, 1989 ; Grillner et coll, 2005).

Il faut préciser ici que les régions locomotrices reçoivent de multiples afférences qu'elles soient visuelles, auditives, vestibulaires, somesthésiques ou proprioceptives (voir schéma ci-dessous) expliquant pourquoi une modification de l'environnement sensoriel peut initier la locomotion.



*Représentation simplifiée des interactions sensorimotrices contribuant à la régulation du pattern locomoteur (d'après Rossignol et coll, 2006). Les entrées sensorielles d'origines diverses se projettent sur la moelle épinière ou le tronc cérébral et sont généralement soumises à un contrôle présynaptique inhibiteur (en jaune). Les afférences font synapse avec des neurones de second ordre qui sont eux-mêmes modulés par des processus rythmiques de telle sorte que certaines voies soient ouvertes ou fermées à différentes phases du cycle (interneurons en violet). Ceci est réalisé soit par des messages générés par des interneurons impliqués directement dans la genèse de pattern locomoteurs, soit par des interneurons (IN) dont l'excitabilité est*

*modulée cycliquement par le générateur central de rythme (CPG). Les propriétés membranaires des motoneurons et des interneurons actifs dans la locomotion peuvent changer également le gain des réponses aux stimuli sensoriels.*

## 2) Les voies motrices descendantes

Après section unilatérale de la moelle épinière, le quadrupède (chat et rat) récupère de façon spontanée et relativement rapidement une activité locomotrice quasi normale (Ballerman et Fouad, 2006) confirmant que les faisceaux ascendants et descendants ne sont pas indispensables à la production de la locomotion. Cependant, il est admis que pour se déplacer adéquatement dans un environnement changeant, l'activation des voies motrices descendantes est nécessaire à la modification volontaire de la trajectoire des membres et au maintien de l'équilibre (Grillner et Wallen, 1985). Ces voies sont, chez l'homme, classiquement dissociées en deux grands systèmes : le système ventromédian et le système dorsolatéral.

### a) Le système ventromédian

Ce système comprend trois voies prenant naissance dans le tronc cérébral : la voie vestibulospinale, la voie réticulospinale et la voie tectospinale. Ces voies transitent dans le bulbe rachidien en dehors des pyramides bulbaires (d'où leur nom de voies extrapyramidales) puis empruntent les cordons ventraux (partie médiane et latérale) de la moelle épinière.

**La voie vestibulospinale.** Elle a pour origine les noyaux vestibulaires bulbaires qui relaient l'information sensorielle issue des récepteurs vestibulaires du labyrinthe de l'oreille interne. Chez l'homme comme chez le chat, le faisceau vestibulospinal médian (ou faisceau longitudinal médian) qui prend naissance dans les noyaux vestibulaires médians projette bilatéralement sur la moelle épinière alors que le faisceau vestibulospinal latéral (ou externe) naît dans le noyau vestibulaire externe et projette ipsilatéralement sur la moelle épinière (Matesz et coll, 2002). Chez le rat, la projection est ipsilatérale sur les cornes sensitive et motrice. Les études électrophysiologiques ou de lésions s'accordent pour montrer que le faisceau vestibulospinal joue un rôle incontournable dans le maintien de la posture durant la

marche. La stimulation du noyau vestibulaire latéral chez le chat durant la phase d'appui augmente le niveau d'activité des extenseurs (Orlovsky, 1972 ; Armstrong, 1988). En revanche, délivrée durant la phase d'oscillation (quand les muscles fléchisseurs sont actifs), la stimulation n'affecte pas ou peu les patterns d'activation musculaire. De plus, il existe une relation entre les décharges des neurones vestibulospinaux et l'activité des extenseurs durant la locomotion (Orlovsky, 1972 ; Orlovsky et coll, 1992). Enfin, la lésion spécifique des noyaux vestibulaires (Yu et Eidelberg, 1981) ou du système ventromédian à l'étage spinal (Brustein et rossignol, 1988) conduit chez le chat à un défaut de stabilisation de l'équilibre médiolatéral, une attitude plus accroupie et une réduction de la vitesse de déplacement.

**La voie réticulospinale.** Chez l'Homme, cette voie se subdivise en deux faisceaux qui naissent pour l'un dans la formation réticulée pontique et pour l'autre dans la formation réticulée bulbaire. La projection spinale est majoritairement ipsilatérale pour les deux faisceaux. Chez le rat, les noyaux réticulaires sont présents dans tout le tronc cérébral (Satoh, 1979) et la projection des fibres réticulospinales (sécrétion de sérotonine) est plutôt bilatérale et sur toutes les couches. Par ailleurs, un certain nombre de noyaux réticulaires projettent à la fois sur la moelle et sur le cortex cérébral (Newman et liu, 1987) et certains neurones localisés dans les aires motrices corticales projettent sur les noyaux réticulaires (voie cortico-réticulaire) (Matsuyama et coll, 2004). Sur le plan fonctionnel, il existe de nombreux arguments, obtenus chez le chat, en faveur de l'intervention de la voie réticulospinale dans l'ajustement de la réponse posturale qui accompagne la locomotion. Durant la locomotion, les neurones réticulospinaux présentent une activité rythmique en relation avec l'activité des muscles fléchisseurs et extenseurs (Matsuyama et drew, 2000) et leur microstimulation influence l'activité aussi bien des fléchisseurs que des extenseurs, tout dépend de la phase du cycle pendant laquelle la stimulation a lieu (Drew et Rossignol, 1984, 1990a, 1990b). Concernant la locomotion dirigée, de multiples périodes d'hyperactivité neuronale sont observées à chaque fois qu'une patte franchit l'obstacle (Prentice et Drew, 2001). Il a été proposé que la décharge des neurones réticulospinaux observée pendant le franchissement d'une patte ait un double objectif qui est d'augmenter l'activité des fléchisseurs de la patte en action et d'augmenter l'activité des extenseurs de la patte en support.



**La voie tectospinale.** Cette voie a pour origine le colliculus supérieur du mésencéphale (tectum) qui reçoit des informations de la rétine, du cortex visuel et des aires somatosensorielles. Après décussation dans le mésencéphale, les fibres tectospinales se trouvent près de la scissure médiane ventrale de la moelle épinière et se terminent majoritairement dans les segments cervicaux. Le faisceau tectospinal participe au contrôle des mouvements de rotation de la tête en réponse à des stimuli visuels. Chez le rat, la lésion du colliculus supérieur ne modifie pas le pattern locomoteur (Goodale et Murison, 1975) mais augmente l'aspect quantitatif de la locomotion spontanée (dans un openfield ou sur une roue d'entraînement).

b) Le système dorsolatéral

Ce système comprend la voie corticospinale qui a son origine dans le cortex cérébral, et la voie rubrospinale qui naît dans le noyau rouge situé dans le mésencéphale. La première transite dans les pyramides bulbaires (voie pyramidale) et la seconde en dehors (voie extrapyramidale) puis ces voies empruntent respectivement les cordons dorsaux et latéraux de la substance blanche médullaire.

**La voie corticospinale.** Chez l'homme, 60% des fibres corticospinales naissent dans le cortex moteur (lobe frontal), pour moitié dans le cortex moteur primaire (aire 4 de Brodmann), et pour l'autre moitié dans le cortex prémoteur (aire 6 de Brodmann), les 40% restants ayant leur origine dans les aires somesthésiques primaires et secondaires (lobe pariétal, aires 1, 2, 3, 5 et 7 de Brodman). L'ensemble de ces fibres descend ipsilatéralement dans la capsule interne, les pédoncules cérébraux puis dans les pyramides du bulbe rachidien. A la jonction bulbo-médullaire, près de 90% des fibres corticospinales croisent et forment le faisceau pyramidal croisé (qui cheminera dans le cordon latéral médullaire), le restant des fibres croisent au niveau médullaire et forment le faisceau pyramidal direct (qui cheminera dans le cordon ventral). Pour le faisceau pyramidal croisé, bien que quelques fibres issues des aires corticales 4 et 6 projettent directement sur les motoneurons alpha (corne motrice), la majorité d'entre elles se termine sur les CPG. Quant aux fibres issues des aires corticales 1, 2, 3, 5 et 7, elles projettent sur la corne sensitive de la moelle épinière et modulent ainsi la transmission des influx afférents. Concernant le faisceau pyramidal direct, il projette bilatéralement sur les

motoneurones alpha et les CPG. Chez le rat, le faisceau corticospinal a essentiellement pour origine les cellules de Betz (neurones pyramidaux de la couche V) du cortex moteur mais aussi d'autres neurones du cortex frontal et préfrontal (Li et coll, 1990, Miller et coll, 1987). Le faisceau qui transite directement dans le striatum (pas de capsule interne chez le rat) comprend deux, et possiblement trois divisions à l'étage spinal (voir Whishaw et coll, 2002). Environ 95% des fibres croisent au niveau bulbaire puis descendent dans le cordon dorsal (en position ventrale pour 93% des fibres et en position dorsolatérale pour 2%). Les 5% de fibres restantes ne croisent pas et cheminent dans le cordon ventral. Ainsi, contrairement à l'homme mais comme chez le chat, un certain contingent des fibres corticospinales ne croisent pas chez le rat (Brosamle et Schwab, 1997). Une autre importante différence entre l'homme et le rat est que chez le rat, les fibres corticospinales projettent pour l'essentiel sur la corne sensitive (Lemon, 2008).

Sur le plan fonctionnel, la voie corticospinale est considérée comme la source primordiale de la commande des mouvements intentionnels chez l'Homme. Cette idée s'est construite sur le fait qu'en cas d'accident vasculaire cérébral conduisant à une lésion du cortex cérébral ou de la capsule interne (syndrome pyramidal), les patients présentent une hémiparésie ou une hémiparésie. En faveur de l'implication de la voie corticospinale dans la locomotion du quadrupède, certaines cellules du cortex moteur ont une activité maximale durant la phase d'appui alors que d'autres l'ont durant la phase d'oscillation (Armstrong et Drew, 1984 ; Beloozerova et Sirota, 1986 ; Widajewicz et coll, 1994). De plus, la stimulation du cortex moteur pendant la phase d'oscillation augmente l'activité des muscles fléchisseurs alors que la stimulation pendant la phase d'appui réduit l'activité des extenseurs (Bretzner et drew, 2005). Cependant, chez le rat, le chat et même le singe, la pyramidotomie conduit à un déficit locomoteur qui régresse rapidement (Armstrong et coll, 1986 ; Metz et coll, 1998 ; Muir et Whishaw, 1999). Après quelques jours ou semaines seuls certains animaux présentent des déficits mineurs comme une patte traînante lors de la phase d'oscillation (Jiang et Drew, 1996), une hyperflexion pendant la phase d'oscillation (Metz et coll, 1998), une hyperextension durant la phase d'appui (Eidelberg et Yu, 1981). Aussi, la voie corticospinale n'est pas indispensable à la locomotion chez le quadrupède, du moins en cas de locomotion sur terrain plat. C'est peut être aussi le cas chez l'Homme. En effet, en cas d'accident vasculaire cérébral, la performance à la marche (vitesse, endurance, paramètres spatiotemporels) ainsi que la réponse au reconditionnement (tapis roulant avec harnais) sont indépendantes de l'étendue de la lésion du tractus corticospinal (Dawes et coll, 2008). En

revanche, l'étendue de la lésion est un déterminant majeur du déficit moteur qui affecte la main (Zhu et coll, 2010).

Si l'intégrité de la voie corticospinale n'est pas indispensable à la locomotion sur terrain plat du quadrupède, qu'en est-il en cas de locomotion nécessitant un placement précis des pattes comme lors de la traversée d'une échelle horizontale ou le franchissement d'obstacles placés sur le sol ou sur un tapis roulant ? Chez le chat, la plupart des neurones moteurs corticaux augmentent leur activité lors de la modification volontaire du pattern locomoteur de base (Beloozerova et Sirota, 1993 ; Drew, 1993 ; Widajewick et coll, 1994 ; Kabli et drew, 1998a, 1998b ; pour revue Drew, 2008). De plus, l'accroissement des décharges des neurones du cortex moteur est corrélé à l'augmentation de la précision de la tâche suggérant un rôle important du cortex moteur dans le contrôle des mouvements précis ; d'ailleurs, le chat heurte l'obstacle ou tombe de l'échelle après inactivation bilatérale ou unilatérale du cortex moteur par un anesthésique local ou après son exérèse (Beloozerova et Sirota, 1993). Cependant, une information souvent omise dans la littérature est que le déficit ne dure que 3-4 jours. Plus récemment, il a été montré que le chat était incapable de franchir correctement un obstacle après interruption bilatérale à l'étage spinal (T13) des voies corticospinale et rubrospinale. En effet, l'animal heurte l'obstacle avec ses pattes postérieures suite à une dorsiflexion exagérée de la cheville (Drew et coll, 2002). Enfin, Friel et coll (2007) ont montré que l'inactivation unilatérale du cortex moteur (impliquant les pattes antérieures uniquement) chez le chaton conduit chez le chat adulte à un placement inapproprié de la patte antérieure contralatérale lors de la traversée d'une échelle horizontale ou lors du franchissement d'un obstacle attaché à un tapis roulant. De façon plus précise, la patte qui initie le mouvement est placée trop loin du barreau ou de l'obstacle. En revanche, sa trajectoire n'est pas affectée. Concernant les études chez le rat, Metz et Whishaw (2002) ont étudié la locomotion lors de la traversée d'une échelle horizontale 3 à 6 mois après lésion unilatérale du cortex moteur ou du tractus corticospinal à l'étage bulbaire. Comparativement aux animaux intacts, les animaux lésés présentent plus fréquemment un déficit dans le placement des pattes antérieures qu'elles soient ipsilatérales ou contralatérales à la lésion. De plus, en cas de bon placement, la flexion des doigts autour du barreau est moindre en cas de lésion, du moins pour la patte antérieure contralatérale à la lésion. Le laboratoire (Millerot-Serruot et coll, 2007) et d'autres (Goldstein, 2003) ont montré que la lésion du cortex moteur chez le rat réduit de façon précoce mais transitoire (7 jours) la performance à traverser une poutre surélevée. De façon surprenante, le rôle de la voie corticospinale dans la locomotion

dirigée chez l'homme est peu documenté. Cependant, en cas de lésion corticale post-AVC, les patients hémiparétiques mais capables de déambuler sans aide sont également capables, pour la majorité d'entre eux (plus de 80%), de franchir un obstacle fixé à un tapis roulant (Den Otter et coll, 2005).

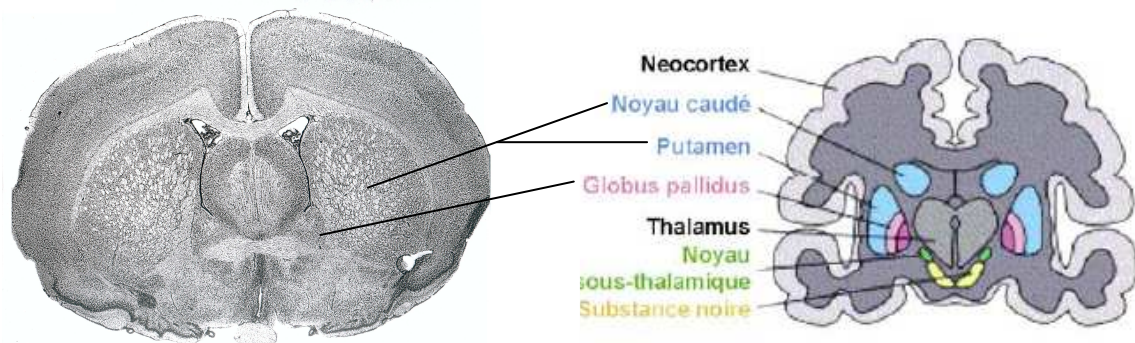
**La voie rubrospinale.** Chez l'homme, les axones de la voie rubrospinale croisent au niveau du tegmentum puis cheminent dans le cordon latéral médullaire contralatéral avant de projeter sur les interneurons de la substance intermédiaire et dans une moindre mesure sur les motoneurons alpha proches. Chez le rat, la voie rubrospinale projette sur les motoneurons des pattes (innervation des muscles distaux et intermédiaires mais pas proximaux)(Kuchler et coll, 2002). De plus, une portion des axones rubrospinaux (entre 10 et 30 %) ne croise pas (Brown, 1974 ; Antal et coll, 1992). Le rôle de la voie rubrospinale dans la locomotion a été relativement peu étudié. Cependant, chez le rat, la lésion unilatérale du noyau rouge ou du tractus rubrospinal conduit à une asymétrie des forces produites par les pattes et à des anomalies de la coordination des pattes lors de la locomotion sur terrain plat ou compromet la traversée d'une échelle horizontale (Muir et Whishaw, 2000 ; Webb et Muir, 2003). Chez le chat, une augmentation importante de la décharge cellulaire des neurones du noyau rouge a été enregistrée lors de l'enjambement d'un obstacle (Lavoie et drew, 2002).

### 3) Ganglions de la base et locomotion

#### a) Données anatomiques

Les ganglions de la base comprennent un ensemble de noyaux sous-corticaux que sont le noyau caudé, le putamen, le globus pallidus, le noyau sous-thalamique (NST) et la substance noire (SN). Chez l'Homme mais pas chez le rat, le noyau caudé et le putamen sont séparés par la capsule interne. L'ensemble noyau caudé et putamen forme le striatum qui est subdivisé en trois portions : le striatum dorsal, le striatum latéral et le striatum ventral. Chez le rat, l'équivalent du striatum ventral est le noyau accumbens. Chez l'homme, le globus pallidus comprend une partie interne (GPi) et une partie externe (GPe). Chez le rat, le GPe s'appelle pallidum et le GPi correspond au noyau entopédonculaire.

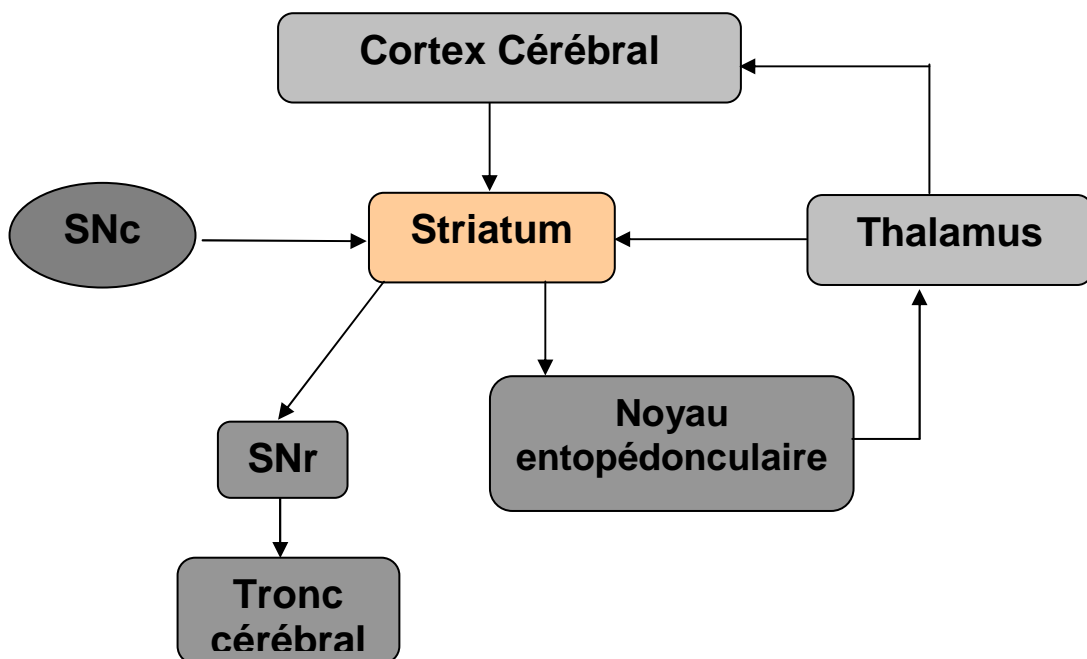
d



*Coupe coronale de cerveau de rat (à gauche) et Humain (à droite) : sont représentées les structures majeures des ganglions de la base : striatum (noyau caudé + putamen), globus pallidus ainsi que le noyau sous-thalamique et la substance noire (uniquement légendés sur la coupe de cerveau Humain). Le noyau caudé et le putamen appelé caudo-putamen chez le rat est traversé par des fibres de substance blanche : le faisceau corticospinal.*

Le striatum est la principale structure d'entrée des informations dans les ganglions de la base. La plupart des neurones striataux sont GABAergiques (petits et moyens neurones), les autres (grands neurones) sont cholinergiques. Le striatum reçoit des afférences en provenance de presque toutes les régions du cortex cérébral, et les afférences d'origine corticale projettent sur le striatum selon une somatotopie bien précise (McGeorge et Faull, 1989). Chez le primate, les portions dorsolaterales du putamen et du caudé (striatum dorsolateral) sont innervées par les aires motrices corticales et le cortex somatosensitif, les portions rostrales des deux noyaux étant innervées par les aires corticales associatives et les portions ventrales par le cortex limbique (Voir Feekes et Cassel, 2006). Aussi, sur le plan fonctionnel, le striatum comprend trois territoires : sensorimoteur, associatif et limbique, compatibles avec l'implication du striatum dans respectivement, le contrôle, la planification et la gestion des processus motivationnels et émotionnels associés à l'acte moteur (Postuma et Dagher, 2006). Hormis le cortex, la substance noire compacte (SNc) et le thalamus constituent les deux autres sources d'afférences striatales. La SNc qui innerve le striatum dorsal forme le système dopaminergique nigro-strié (Faull et carman, 1968) qui dégénère dans la maladie de parkinson. D'autres projections, quantitativement mineures, ont été mises en évidence et

proviennent notamment du pallidum, de l'amygdale, du noyau sous-thalamique, et du tronc cérébral (raphé, formation réticulée, noyau pédonculo-pontin (NPP) (Veening et coll, 1980 ; Mori et coll, 1985 ; Parent, 1990). Le GP est la principale structure de sortie des informations hors des ganglions de la base. Il retourne les informations d'origine corticale via le thalamus aux cortex moteur primaire, prémoteur et frontal (Middleton et strick, 2000). Par ailleurs, les ganglions de la base via essentiellement la SN réticulée (SNr), sont connectés (neurones GABAergiques) aux régions du tronc cérébral impliquées dans la locomotion (région locomotrice mésencéphalique, noyau cunéiforme) et le tonus musculaire (formation réticulée pontobulbaire). On peut noter ici que le striatum envoie des afférences sur la SNr selon une organisation topographique bien précise (Deniau et coll, 1996). L'ensemble de ces données anatomiques suggère fortement que le striatum est en position pour réguler la fonction motrice via le système ganglions de la base-cortex et la posture via le système ganglions de la base-tronc cérébral (Takakusaki et coll, 2003 ; Drew et coll, 2004 ).



*Représentation schématique des principales afférences et efférences du striatum. SNC : Substance Noire compacte ; SNr : Substance Noire réticulée.*

b) Rôle du Striatum dans la locomotion

L'idée d'un rôle du striatum dans la locomotion se fonde essentiellement sur les troubles de la marche observés chez les patients souffrant de la maladie de Parkinson, pathologie due à la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la voie nigrostriée et dont les signes cliniques (akinésie, tremblement et rigidité en tuyau de plomb) sont proportionnels à la déplétion en dopamine du striatum. La marche du parkinsonien est typique; lente à petits pas traînants avec perte du ballant des bras, antéflexion du corps et possibilité de blocage imprévisible (freezing). De façon intéressante, le blocage peut être levé par la nécessité d'une modification volontaire du pattern locomoteur (montée des marches d'un escalier, enjambement d'un objet). Cependant, l'activation des muscles des jambes comme celle des bras lors d'une marche sur tapis roulant avec obstacle n'est pas différente entre les patients parkinsoniens et les individus du même âge mais non malades (Dietz et Michel, 2008). De plus, si l'on excepte une plus haute élévation du pied lors du franchissement de l'obstacle (fixé sur un tapis roulant), les paramètres locomoteurs ne diffèrent pas entre le parkinsonien et son contrôle.

Des anomalies de la locomotion et de la posture sont également rapportées dans les modèles rats de maladie de parkinson (lésion unilatérale du faisceau dopaminergique nigrostrié par injection locale de 6-hydroxydopamine (6-OHDA) ou 1-méthyl-4-phényl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). Le rat hémiparkinsonien présente une extension prolongée du genou des pattes contralatérales à la lésion ainsi qu'une asymétrie posturale pendant la locomotion, le poids du corps étant supporté par les pattes contralatérales à la lésion (Muir et Whishaw, 1999 ; Miklyaeva et coll, 1994 , 1995 ; Metz et coll, 2005). Ces anomalies sont associées à un comportement rotatoire caractéristique (dans le sens où la transmission dopaminergique est la plus faible) (Da Cunha et coll, 2008). De plus, chez le rat hémiparkinsonien, la durée et la vitesse de la phase d'oscillation sont réduites lors d'un déplacement sur le sol (Vlamings et coll, 2007) alors que la locomotion sur tapis roulant (à faible vitesse) est hésitante et irrégulière (Chang et coll, 2006). Chez la souris avec lésion bilatérale de la substance noire, la longueur du pas est bien plus variable que chez son contrôle non lésé (Kurz et coll, 2007).

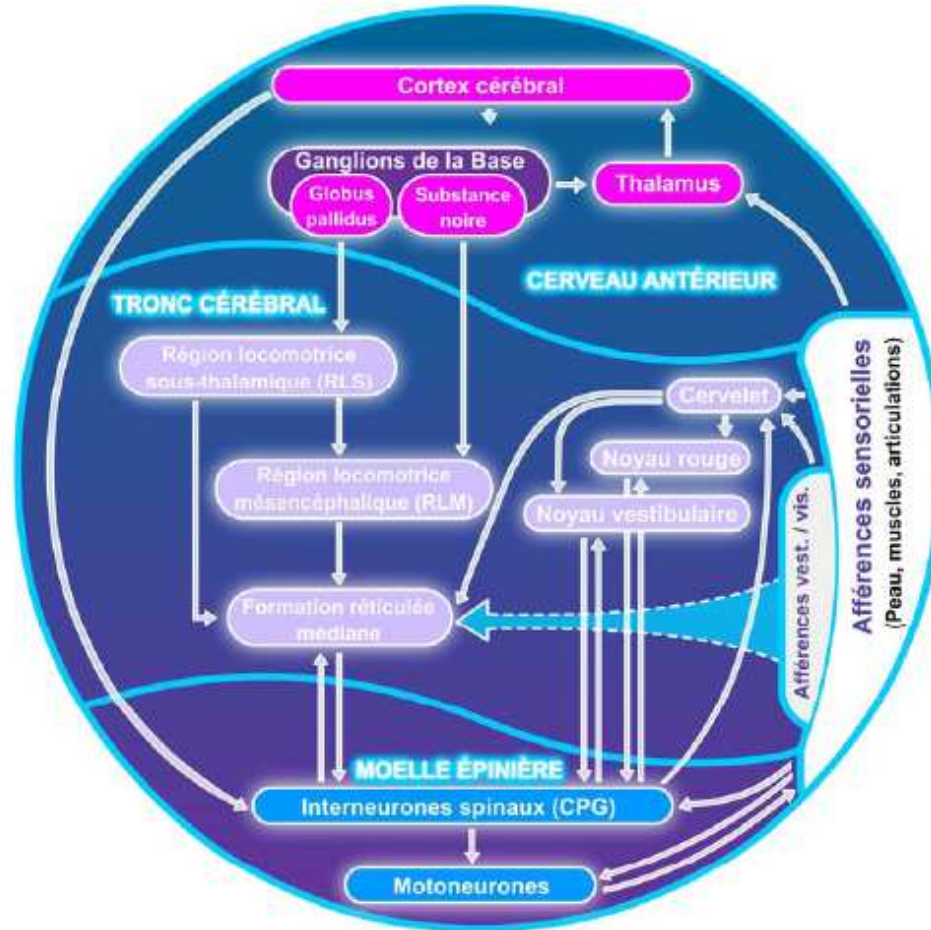
Un rôle du striatum dans la locomotion s'appuie également sur les troubles de la marche présentés par les patients souffrant de maladie d'Huntington, maladie génétiquement

transmissible causée par la mort progressive des neurones GABAergiques et cholinergiques du striatum et qui se caractérise par des mouvements choréiformes hyperkinétiques. Les malades présentent un déclin de la vitesse de marche au cours du temps lié à une dégradation des caractéristiques temporelles (cadence et durée du cycle) et spatiales (longueur du cycle diminuée) (Delval et coll, 2008). Par ailleurs, les malades sont incapables de cadencer leur marche à un métronome sonore (Bilney et coll, 2005). Bien que peu d'études soient disponibles, la locomotion est également affectée dans les modèles animaux de maladie de Huntington. Ainsi, après administration systémique d'acide 3 nitropropionique, la souris est incapable d'engager ses pattes postérieures dans une course sur tapis roulant (Amende et coll, 2005) et après administration intrastriatale unilatérale de malonate, le rat présente de grandes difficultés dans la réalisation du test de la poutre (Millerot-Serrurot et coll, 2007).

Enfin, en faveur de la contribution du striatum dans le contrôle de la marche, certains neurones striataux déchargent à une fréquence similaire à celle du cycle locomoteur chez le rat (Shi et coll, 2004) et une activation du striatum est observée lors de l'imagination d'une marche le long d'une courbe chez l'humain (Wagner et coll, 2008).



**Schéma récapitulatif des voies nerveuses impliquées dans la locomotion**



*Les structures spinales (interneurones spinaux et corps cellulaires des motoneurones) et supraspinales (localisées dans le tronc cérébral et le cerveau antérieur) sont en constante interaction avec des informations sensorielles provenant de nombreuses sources (muscles, peau, et organes sensoriels, collatérales de motoneurones). vest. : vestibulaires; vis. : visuelles.*

# **MATERIELS et METHODES**

Les expériences ont été menées sur des rats Wistars mâles adultes (Dépré, Saint Doulchard, France) aptes à réaliser une course régulière sur tapis roulant. Les animaux ont libre accès à l'eau et à la nourriture, sont hébergés cinq par cage afin de maintenir l'interaction sociale et soumis à un cycle jour/nuit de 12/12 heures. Les études ont été réalisées selon les règles de la législation de l'expérimentation animale et en accord avec le comité d'Ethique de l'université de Bourgogne.

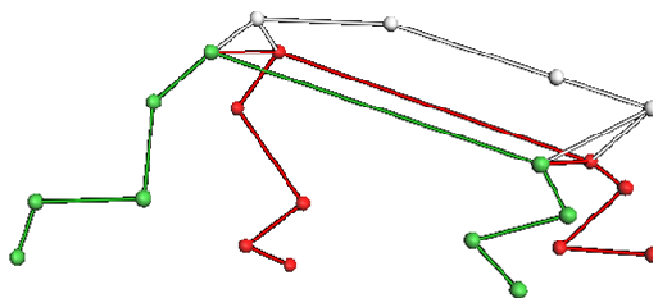
## I) Etude de la locomotion

La locomotion du rat a été étudiée lors d'une course sur tapis roulant muni ou pas d'obstacles à l'aide d'un système optoélectronique relié à six caméras, trois de chaque côté du tapis roulant, afin d'enregistrer simultanément les deux hémicorps et de réaliser une analyse en 3D du mouvement (un même marqueur doit au moins être « vu » par deux caméras).

### 1) Appareillage

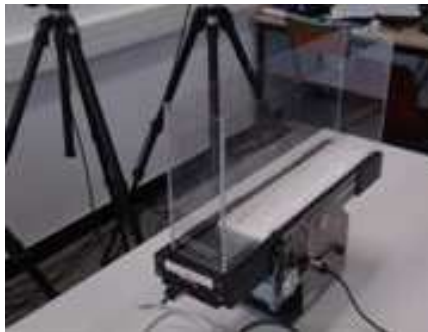
#### a) Le système optoélectronique

Nous avons utilisé le système optoélectronique VICON avec des caméras MX 13 capables d'enregistrer deux cents images par seconde avec une résolution maximale de 1.3 Méga pixels (1280 x 1024 pixels). Les logiciels Nexus et Workstation permettent la reconstruction du squelette de l'animal (cf. Figure ci-dessous) et la visualisation instantanée des données cinématiques de position, de distance, d'angle, de vitesse et d'accélération.



b) Tapis roulant

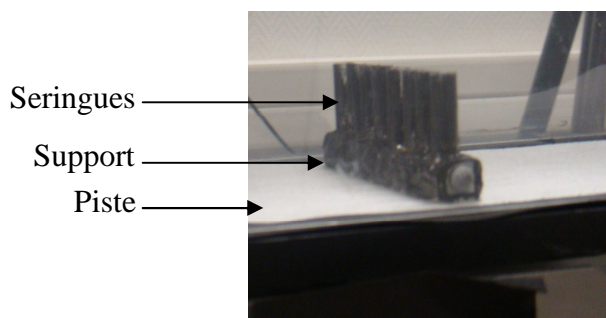
Nous avons utilisé un tapis roulant du commerce (Panlab SI, model LE 8700, BIOSEB) dont nous avons modifié le capot et la piste afin de limiter la diffraction des ondes infrarouges émises par les caméras. Le nouveau capot (cf. figure ci-dessous) a été réalisé manuellement à partir de découpes de plexiglas d'épaisseur 2 mm (au lieu de 1cm) et d'une planche en bois amovible faisant office de couvercle afin de prévenir toute tentative de sortie de l'animal. La piste originale a été remplacée par une pièce de toile cirée posée à l'envers, le coté brillant étant caché.



c) Obstacles

Les obstacles ont été fabriqués à partir de corps de seringues en plastique espacés de 4 mm et fixés à un support. Un tel espacement permet le passage de l'obstacle entre les barreaux de la grille électrifiée du tapis et de ce fait n'entrave pas le mouvement de la piste. Au final, les caractéristiques des obstacles sont les suivantes :

- hauteur : 3 cm
- largeur : 1,2 cm
- couleur noire



Deux obstacles sont fixés sur la piste, la distance les séparant est de 45 cm, permettant ainsi à l'animal de réaliser plus d'un cycle locomoteur complet entre les 2 obstacles.

## 2) Les étapes pré et post-capture du mouvement

### a) Calibration

La capture du mouvement est obligatoirement précédée d'une étape de calibration dont le but est de définir le volume d'enregistrement (calibration dynamique) et le système de référence métrique (direction des axes X, Y, Z) utilisés pour le calcul des variables cinématiques (calibration statique). Cette étape nécessite au préalable de déterminer la position et l'orientation des caméras par rapport au tapis roulant. Dans notre étude, les caméras sont disposées en demi-cercle autour du tapis dont elles sont éloignées d'environ 70 cm (cf. figure ci-dessous).



### b) Identification des marqueurs et traitement des images

Après capture du mouvement et sur la première image, l'expérimentateur attribue à chaque marqueur son nom anatomique. Sur la base des rapports de distance entre l'ensemble des couples de marqueurs, le système VICON est alors capable d'identifier les marqueurs sur les images suivantes et même de ré-estimer la position dans l'espace d'un marqueur qui n'aurait pas été vu par les caméras. De façon importante, l'extrapolation n'est réalisée que si la perte de capteur n'excède pas 0.1 s. Cependant, l'expérimentateur devra vérifier sur chaque image que le système n'a pas fait de confusion de marqueurs puis sélectionner les images à partir desquelles seront calculés les paramètres locomoteurs.

### 3) Préparation des animaux

#### a) Sélection des rats

Après habituation des rats à l'expérimentation (manipulation manuelle des animaux par l'expérimentateur pendant trois jours, 30 min/j), les animaux sont sélectionnés en fonction de leur aptitude à courir de façon régulière sur un tapis roulant. Dans ce but, nous avons retenu le protocole suivant :

- Jour 1 :

-Matin : l'animal est placé sur le tapis roulant maintenu à l'arrêt durant trois minutes. Ce laps de temps permet au rat d'explorer et de se familiariser avec l'environnement. Puis, le tapis est mis en marche à faible vitesse (10 cm/s) pour éviter les départs abrupts. Après quelques secondes, la vitesse est augmentée progressivement (de 10 à 25 cm/s) pour permettre à l'animal de s'habituer à la course.

-Après midi : l'animal est placé sur le tapis roulant qui déroule à 25 cm/s.

- Jour 2 :

-Matin et après midi : l'animal est placé sur le tapis roulant qui déroule à 25 cm/s.

- Jour 3 :

-Matin et après midi : l'animal est placé sur le tapis roulant qui déroule à 25 cm/s d'abord en l'absence d'obstacle puis en présence des deux obstacles, la vitesse de déroulement étant augmentée progressivement de 10 à 25 cm/s.

- Jour 4 :

-Matin et après midi : idem jour trois mais avec une vitesse d'emblée à 25 cm/s pour la course avec obstacles.

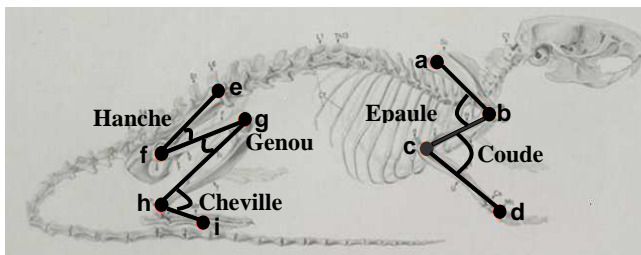
Durant la phase de sélection, la course sur tapis est fractionnée en période de 30 s et n'excède pas 2 min, évitant ainsi toute fatigue. Par ailleurs, l'électrification de la grille du tapis roulant n'a été maintenue que les deux premiers jours.

A l'issue de la période de sélection, les animaux incapables de course régulière sur le tapis (appui des pattes antérieures sur la paroi de l'appareil, phase d'immobilité trop fréquente, présence de l'allure galop) sont exclus des expérimentations ultérieures.

#### b) Détermination de l'emplacement des marqueurs

Après anesthésie générale à l'hydrate de chloral 4% (400 mg/kg, 10 ml/kg, i.p.), les animaux sélectionnés sont rasés (tondeuse BaByliss PRO, FORFEX) et les joints articulaires sont repérés par palpation des segments osseux après mobilisation passive des membres. La projection cutanée du marqueur est définitivement arrêtée par un tatouage précis de la peau à l'encre de chine.

Pour les pattes antérieures, les tatouages sont réalisés en regard des pièces anatomiques suivantes : la scapula (a), les épiphyses proximales (b) et distales (c) de l'humérus et la partie latérale du cinquième métacarpien (d). Pour les pattes postérieures, ils sont réalisés en regard de la pointe dorsale de la crête iliaque (e), du grand trochanter (f), de l'extrémité distale du fémur (g), de la malléole latérale externe (h), et la portion latérale du cinquième métatarsien (i) (Cf. Figure ci-dessous).

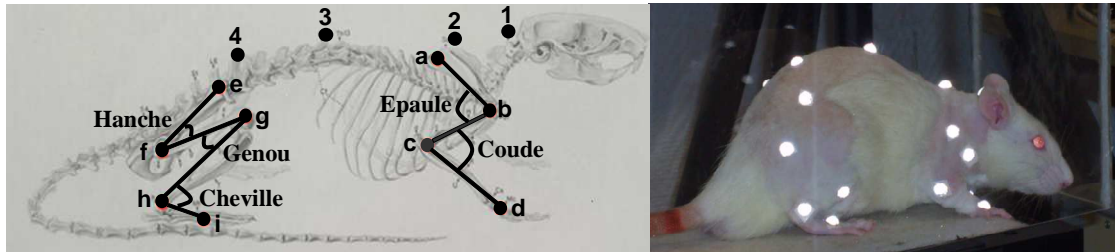


*Position des marqueurs en regard des joints articulaires des quatre pattes.*

#### c) Capture du mouvement

Avant chaque enregistrement de la locomotion, l'animal est, si nécessaire, à nouveau rasé (anesthésie non nécessaire car l'animal est en confiance) et les marqueurs sont collés au niveau des régions tatouées à l'aide d'un adhésif double face (double face moquette, Leroy Merlin). Quatre autres marqueurs sont ensuite collés en regard du squelette axial : au niveau

de l'atlas (1), sur une vertèbre thoracique entre les deux scapula (2), et sur les vertèbres thoracolombaires (3 et 4). Au total, vingt-deux marqueurs sont positionnés sur l'animal. Enfin, deux marqueurs supplémentaires sont collés à la base de l'obstacle.



*Position des marqueurs. Quatre marqueurs sont placés sur chaque patte antérieure, cinq sur chaque patte postérieure et quatre sur le squelette axial.*

La capture du mouvement est réalisée lors d'une course sur tapis roulant qui déroule à une vitesse de 25 cm/s. Les séquences d'enregistrement sont courtes : 3 x 20 s en l'absence d'obstacle et 3 x 1 min en présence d'obstacle. A l'issue de l'enregistrement, les marqueurs sont décollés de la peau du rat et le rat remplacé avec ses congénères.

#### 4) Paramètres cinématiques mesurés

Les données ont été analysées à partir d'un programme écrit sous le logiciel de calcul matriciel MATLAB (MATrix LABoratory). Le programme a été réalisé par Davy Laroche et sa véracité a été vérifiée, quand cela était possible, à partir des données individuelles fournies par le logiciel NEXUS, ce qui a pris un temps considérable. Les paramètres ont été calculés à partir de quinze cycles locomoteurs en cas de course sans obstacle. En cas de course avec obstacle, les paramètres ont été calculés à partir de cinq passages consécutifs d'obstacle lors de la première minute de course, ou à partir d'une vingtaine de passages d'obstacles : soit sept à huit passages consécutifs collectés dans chacune des périodes d'enregistrement.

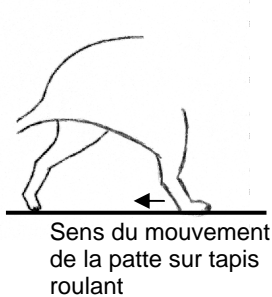


a) Lors de la locomotion stéréotypée

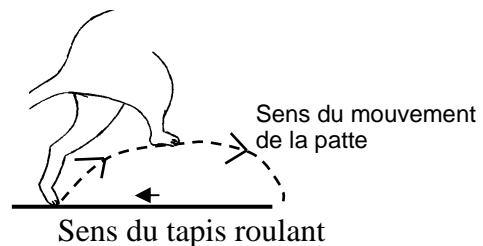
- ***Durée des phases d'appui et d'oscillation***

Au cours du déplacement, le cycle de marche se divise en une phase d'appui et une phase d'oscillation dont les durées ont été calculées à partir des marqueurs les plus distaux pour chaque cycle locomoteur. La phase d'appui est définie comme étant la partie du cycle qui débute dès que la patte entre en contact avec le tapis roulant et se termine quand celle-ci effectue un nouveau mouvement vers l'avant. La phase d'oscillation commence lorsque la patte débute son mouvement vers l'avant et se termine lorsque celle-ci entre à nouveau en contact avec le tapis roulant.

**Phase d'appui**



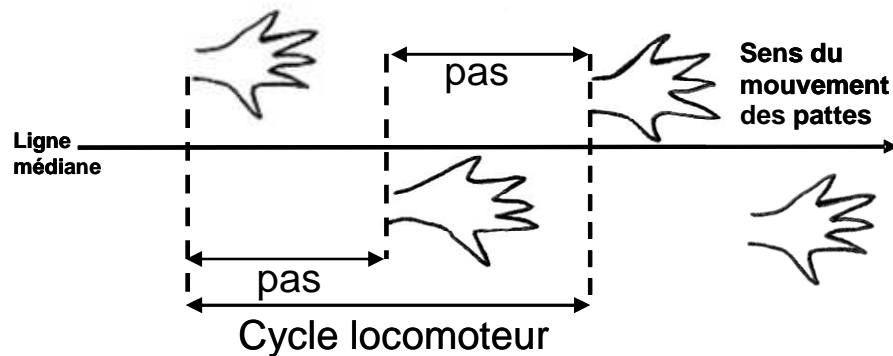
**Phase d'oscillation**



*Vue dans un plan sagittal des pattes postérieures du rat. La patte postérieure droite est en début de phase d'appui (schéma de gauche) et en élévation maximale pendant la phase d'oscillation (schéma de droite).*

- ***Durée et longueur du cycle locomoteur :***

Pour une patte donnée, la durée et la longueur du cycle locomoteur (cette dernière étant nommée Stride length par les anglo-saxons) correspondent respectivement à la période de temps et la longueur séparant deux prises d'appui successives d'une même patte. Ces deux paramètres sont calculés à partir des marqueurs les plus distaux de chaque patte.



Vue de dessus des empreintes du rat lors d'un cycle locomoteur. Un cycle est composé de deux pas.

- **Hauteur maximale à laquelle s'élève la patte :**

Elle est calculée à partir de la hauteur maximale du marqueur le plus distal de la patte lors de la phase d'oscillation.

- **Rapport de la Symétrie Temporelle de marche (RST) :**

Il est calculé à partir du rapport des durées de phase d'oscillation sur phase d'appui, de la patte antérieure ou postérieure droite sur la patte antérieure ou postérieure gauche. L'équation suivante indique le RST pour les pattes antérieures :

$$\text{RST} = \frac{\text{durée de la phase d'oscillation} / \text{durée de la phase d'appui} \quad \text{De la patte antérieure DROITE}}{\text{durée de la phase d'oscillation} / \text{durée de la phase d'appui} \quad \text{De la patte antérieure GAUCHE}}$$

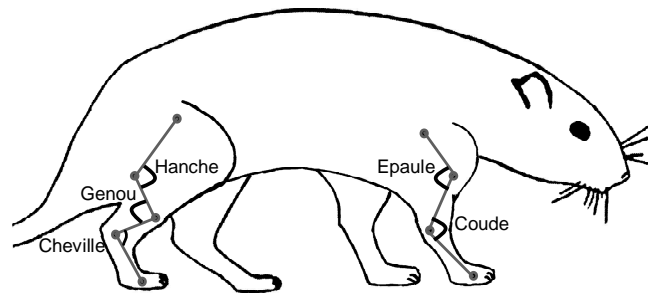
- **Coordination entre les pattes :**

Elle exprime le décalage spatio-temporel existant entre les cycles locomoteurs des quatre pattes. Pour réaliser ce calcul, le cycle locomoteur d'une patte est pris comme cycle de référence. Le décalage spatio-temporel des trois autres pattes par rapport à la patte de référence est exprimé en pourcentage du cycle de référence. Nous avons calculé la coordination entre les pattes d'un même hémicorps (Couplage Homolatéral), la coordination entre les deux pattes antérieures ou entre les 2 pattes postérieures (Couplage Homologue) et

enfin la coordination entre la patte postérieure d'un hémicorps et la patte antérieure de l'hémicorps opposé (Couplage Diagonal). L'ensemble des calculs a été réalisé à partir des marqueurs les plus distaux de chaque patte.

- ***Valeur maximale et minimale des angles articulaires pendant la phase d'appui et pendant la phase d'oscillation :***

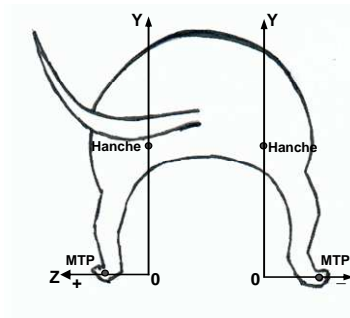
Les valeurs maximales et minimales des angles de la hanche, du genou, de la cheville, de l'épaule et du coude pendant la phase d'oscillation et pendant la phase d'appui du cycle locomoteur ont été calculées pour chacune des pattes. Une réduction de l'angle indique une flexion et son augmentation une extension.



*Vue du rat dans un plan sagittal. Sont représentés les angles articulaires des segments des pattes de l'hémicorps droit.*

- ***Placement des pattes dans le plan frontal (axe Z) :***

Il permet d'évaluer l'éloignement ou le rapprochement d'une patte par rapport à l'axe du corps dans un plan frontal. Pour les pattes postérieures, il est défini comme étant la distance (sur l'axe Z) entre le marqueur le plus distal de la patte (MéTaTarso-Phalangien = MTP) et l'axe vertical passant par le marqueur de la hanche (cf figure ci-après). Pour les pattes antérieures, il est défini comme étant la distance (sur l'axe Z) entre le marqueur le plus distal de la patte (MéTaCarpo-Phalangien = MCP) et l'axe vertical passant par le marqueur de l'épaule. Ce paramètre est calculé lors de la transition entre la phase d'appui et la phase d'oscillation pour chacune des pattes.

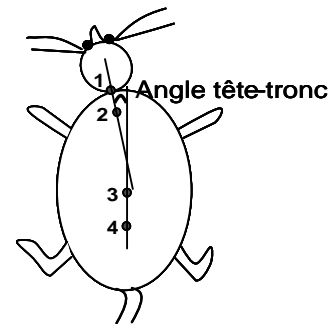


Vue dans un plan frontal des pattes postérieures de l'animal. L'axe Y (vertical) passe par le marqueur de la hanche, l'axe Z (frontal) par le marqueur MTP. Est calculée la distance entre le point 0 et le marqueur MTP.

- **Orientation de la tête par rapport au tronc :**

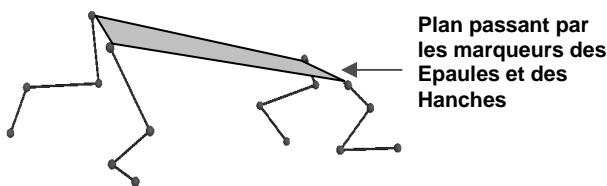
Elle est calculée à partir de l'angle formé par la droite passant par les marqueurs du squelette axial 1 et 2 et la droite passant par les marqueurs du squelette axial 3 et 4 (cf. figure ci-dessous).

Vue de dessus d'un rat. Les chiffres 1, 2, 3 et 4 indiquent le placement des marqueurs sur le squelette axial de l'animal. Est représenté l'angle « tête-tronc » formé par deux droites passant par ces marqueurs.



- **Inclinaison latérale du corps :**

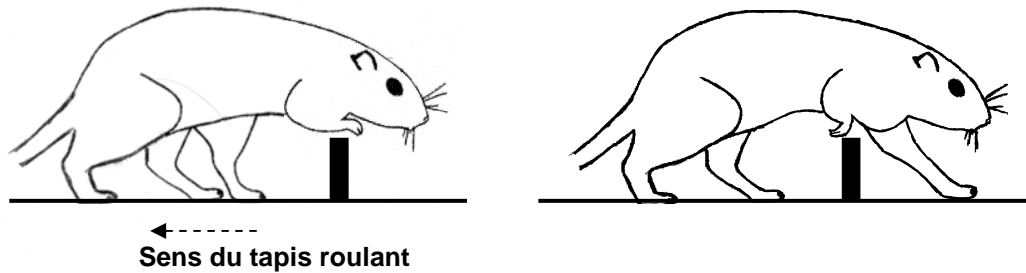
Elle est calculée à partir de l'angle existant entre le plan horizontal du laboratoire et le plan passant par les marqueurs des ceintures scapulaires et pelviennes (cf. figure ci-dessous).



Vue dans un plan sagittal des segments des quatre pattes de l'animal. La partie en gris représente le plan passant par les marqueurs des épaules et des hanches. Le plan horizontal du laboratoire n'est pas représenté ici.

b) Lors du franchissement d'obstacle

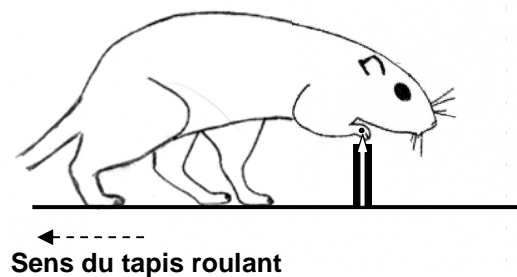
Les paramètres ont été calculés pour chacune des pattes en différenciant pour les pattes antérieures et postérieures celle qui est la première à franchir l'obstacle (la patte conduit la manœuvre de franchissement) de celle qui passe l'obstacle en second (la patte suit).



Vue du rat dans un plan sagittal lors du franchissement d'un obstacle. L'animal franchit l'obstacle avec la patte antérieure droite en premier (schéma de gauche) ou en deuxième (schéma de droite).

- **Hauteur maximale à laquelle s'élève la patte:**

Elle est calculée à partir de la hauteur maximale du marqueur le plus distal de la patte lors du franchissement de l'obstacle (cf. figure ci-dessous).



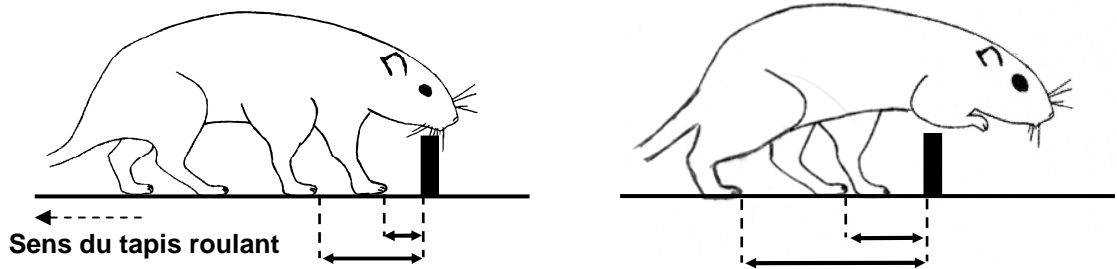
Vue du rat dans un plan sagittal lors du franchissement d'un obstacle. La flèche verticale indique la hauteur du marqueur le plus distal de la patte antérieure droite lors de sa phase d'oscillation par-dessus l'obstacle.

- **Temps mis par une patte pour franchir l'obstacle :**

Il débute dès que la patte « franchissante » quitte le tapis roulant et se termine quand cette patte prend appui de l'autre côté de l'obstacle.

- **Distance pré-obstacle :**

C'est la distance séparant l'obstacle de la patte en appui, juste avant qu'elle ne franchisse l'obstacle (cf. figure ci-dessous). Ce paramètre est calculé à partir des marqueurs les plus distaux de chaque patte.



Vue du rat dans un plan sagittal avant (schéma de gauche) et lors (schéma de droite) du franchissement d'un obstacle. Les flèches pleines indiquent les pré-obstacle distances des pattes antérieures et postérieures.

- **Distance post-obstacle :**

C'est la distance séparant l'obstacle de la patte qui vient de franchir l'obstacle, et qui reprend une phase d'appui.

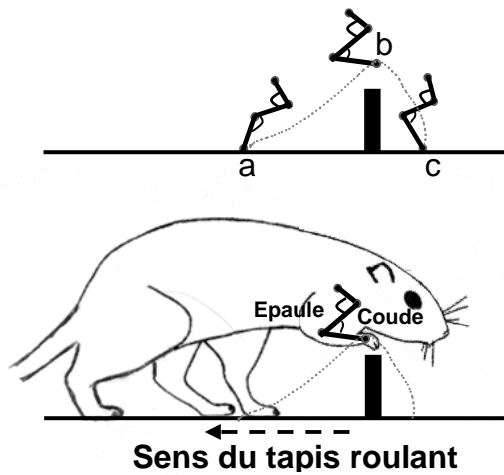
- **Longueur de l'enjambement de l'obstacle :**

C'est la somme des paramètres pré et post-obstacle distance.

- **Angles articulaires :**

Les angles articulaires ont été calculés pour la patte qui franchit l'obstacle (cf. figure ci-après) :

- juste lorsqu'elle débute sa phase d'oscillation (a)
- lorsque que la hauteur du marqueur le plus distal est maximale (b)
- au moment où elle reprend contact avec le tapis roulant (c)



*Vue des segments articulaires (dessus) et du rat (en dessous) dans un plan sagittal lors du franchissement d'un obstacle. Les angles articulaires sont indiqués pour la patte antérieure qui franchit l'obstacle. La trajectoire de la patte est représentée en pointillés gris clair.*

## II) Modèles de lésions cérébrales

### 1) Lésion du cortex cérébral

La lésion corticale de l'hémisphère droit a été induite par le modèle d'ischémie focale permanente mis au point par Watson et coll (1985), et modifiée au sein de notre Laboratoire par Boquillon et coll (1992) en remplaçant la lampe à xénon par un faisceau laser (Opton Laser International) afin d'éviter un réchauffement trop important du cerveau. Ce modèle consiste à administrer par voie intraveineuse (jugulaire) un colorant photosensible, le rose bengale qui sous l'effet de l'irradiation, conduit à la transformation de l'oxygène circulant en oxygène singulet. Cette espèce réactive de l'oxygène induit une lésion des cellules endothéliales (face lumineuse). La lésion conduit à la formation d'agrégats plaquettaires puis de thrombi vasculaires (occlusion des micro-vaisseaux) au niveau de la zone irradiée. Il se développe alors un infarctus exclusivement cortical et centré sur la zone irradiée.

Sur le plan pratique, après anesthésie à l'hydrate de chloral (400 mg/kg, 10 ml/kg, i.p., Merck), l'animal est placé sur un appareil stéréotaxique, la peau du crâne est incisée au scalpel, l'os du crâne est dégagé et une aiguille est placée dans une veine jugulaire. L'aiguille servira à l'administration (au pousse-seringue) d'une solution de rose bengale (disodium

tétraiodo-tétrachloro-fluorescéine, Aldrich) à la posologie de 20mg/kg (1ml/kg, durée de perfusion 20s). Le centre de la fibre optique est ensuite positionné 0.2 mm au dessus de l'os du crâne selon les coordonnées stéréotaxiques suivantes par rapport au bregma : Antéropostérieur : -1 mm, Latéral : 3 mm, le bregma et le lambda étant placés dans un plan horizontal afin d'induire un infarctus du cortex moteur. L'irradiation (532 nm, fibre optique de diamètre 1 mm, puissance en sortie de fibre de 90 mW) est débutée trente secondes avant la perfusion du colorant et maintenue pendant cinq minutes et vingt secondes. Pendant toutes ces étapes, la température corporelle est contrôlée et maintenue à 37°C à l'aide d'un tapis chauffant. Finalement, après retrait de l'aiguille et suture des incisions cutanées, les animaux sont placés en cages individuelles jusqu'à leur réveil. Avec ces conditions d'irradiation, nous avons précédemment montré que l'infarctus atteint son volume maximal vingt-quatre heures après induction de l'ischémie (Van Hoecke et coll, 2005) et qu'à ce temps, la lésion affecte le cortex moteur (représentatif des pattes antérieures et postérieures).

## 2) Lésion du striatum dorsal

La lésion du striatum gauche a été induite par injection de malonate de sodium, une neurotoxine mitochondriale (inhibiteur réversible de la succinate déshydrogénase). Comme le malonate ne passe pas la barrière hémato-encéphalique, il est nécessaire de l'injecter directement dans le striatum.

Après anesthésie générale à l'hydrate de chloral 4% (400mg/kg, 10 ml/kg, i.p.), l'animal est placé sur un appareil stéréotaxique. La peau du crâne est incisée afin de visualiser les sutures crâniennes. Un orifice est alors percé dans l'os du crâne à l'aide d'une fraise dentaire selon les coordonnées stéréotaxiques suivantes par rapport au bregma : AP : 0,5 mm, L : 3,5 mm, (Atlas de Paxinos et Watson). La dure-mère est à son tour percée avant la descente dans le striatum gauche d'une canule d'injection (tube de silice (réf. TSP 075150, d.i.=75µm et d.ex.=150µm, Phymep) sur une distance de 6 mm par rapport à l'os du crâne. Une solution de malonate de sodium (1 M) est alors administrée au moyen d'une pompe à perfusion, à un débit de 1 µl/min pendant trois minutes. Après administration, la canule est maintenue en place pendant cinq minutes afin d'assurer une bonne diffusion du malonate dans le tissu puis elle est retirée. Après suture de l'incision, les animaux dont la température corporelle a été maintenue à 37°C à l'aide d'un tapis chauffant pendant toute la procédure



sont replacés dès leur réveil en cage individuelle. La solution de malonate de sodium (acid malonic disodium salt) est préparée dans de l'eau ultra pure puis ajustée à un pH de 7,4 par ajout de HCL 0,5 M. Le laboratoire a précédemment montré que la quantité de malonate administrée (3  $\mu$ moles) est suffisante pour induire en vingt-quatre heures une lésion affectant le striatum dans sa totalité (Demougeot et coll, 2001).

### III) Etude histologique du cerveau

Chez les rats soumis à la lésion corticale, la localisation et l'étendue de l'infarctus ont été étudiées sur des coupes transversales de cerveau après leur incubation (37°C, dix minutes) dans une solution de TTC (2,3,5-triphényltetrazolium chloride, Sigma) à 2% dans du sérum physiologique. Les zones infarciées qui apparaissent en blanc contrastent avec le reste du cerveau qui est coloré en rouge.

Chez les rats soumis à la lésion striatale, le volume de lésion et le volume de tissu histologiquement intact ont été calculés sur des coupes de cerveau colorées au violet de crésyle (un colorant vital). Après anesthésie (hydrate de chloral à 4%, 400mg/kg, 10 ml/kg, i.p.), l'animal subit une perfusion transcardiaque (dix minutes sous une pression de 110 cm d'eau) de paraformaldéhyde (PFA). Après prélèvement, le cerveau est successivement placé dans une solution de PFA (trente minutes), une solution de sucrose (trente-six heures) et un bain d'isopentane refroidi à -40 °C par de la carboglace (deux minutes). Le cerveau congelé est alors stocké à -80 °C jusqu'à la réalisation de coupes transversales (50  $\mu$ m d'épaisseur) à l'aide d'un cryostat. Les coupes sont prélevées sur une lame de verre (Superfrost, Dutcher, Brumath, France), séchées, fixées par immersion dans du liquide de Carmoy (dix minutes) puis colorées au violet de crésyle. Après montage entre lame et lamelle, les coupes sont « scannées » (Snapscan 1212, Agfa) afin de mesurer sur chaque coupe à l'aide du logiciel Scion Image : la surface des hémisphères, celle des cavités ventriculaires et celle de la zone lésée (qui apparaît en blanc). La surface du tissu histologiquement intact est égale à la surface de l'hémisphère dont on retranche la surface des cavités ventriculaires et éventuellement (pour l'hémisphère lésé) la surface de la lésion. La connaissance des surfaces permet de calculer les volumes. La perte de tissu de l'hémisphère lésé est exprimée en pourcentage du volume de tissu histologiquement intact de l'hémisphère non lésé et calculée à partir de la formule suivante :

$$\left[ \frac{\text{Volume de tissu histologiquement intact de l'hémisphère non lésé} - \text{Volume de tissu histologiquement intact de l'hémisphère lésé}}{\text{Volume de tissu histologiquement intact de l'hémisphère non lésé}} \right] \times 100$$

Composition des réactifs et protocole de coloration :

Tampon phosphate 0,4 M :

Sodium phosphate dibasique (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ) pH = 8,95	840 ml
Sodium phosphate monobasique (NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) pH = 4,5	160 ml

PFA 4%, tampon phosphate 0,1 M :

Paraformaldéhyde (PFA)	1000 ml
Tampon phosphate 0,4 M	500 ml
Eau bidistillée	500 ml

Sucrose 20%, tampon phosphate 0,1M

Sucrose	20 g
Tampon phosphate 0,4 M	100 ml

Liquide de Carmoy :

Chloroforme	300 ml
Acide acétique glacial	100 ml
Ethanol absolu	600 ml

Violet de crésyle

Acétate de violet de crésyle	1,6 g
Acétate de sodium anhydre 0,2 M	180 ml
Acétate acétique 0,2 M	220 ml

Coloration au violet de crésyle des coupes

- Violet de crésyle 0,4 %      20 minutes

- Eau bidistillée                      20 secondes x 2 bains
- Ethanol 95°                            1 minute
- Ethanol absolu                        1 minute
- Toluène                                 jusqu'au montage

# **TRAVAUX PERSONNELS**

**I) PREMIERE ETUDE - Cinématique du franchissement d'obstacle. Etude à long terme chez le rat**

**Titre:** Kinematics of obstacle clearance in the rat

**Auteurs :** Perrot O, Laroche D, Pozzo T, Marie C

**Journal :** Behavioral Brain Research

## **RESUME DES TRAVAUX**

Alors que la stratégie utilisée par le chat pour franchir un obstacle est bien décrite dans la littérature, celle utilisée par le rat n'a jamais été étudiée. Or sa connaissance est nécessaire à la sélection des paramètres qui seront importants à mesurer pour mettre en évidence un déficit de cet aspect particulier de la locomotion qui implique une modification volontaire du pattern locomoteur. Aussi, cette étude décrit pour la première fois la modification des paramètres locomoteurs engendrée par le franchissement d'un obstacle par le rat.

### 1) Protocole expérimental

La locomotion lors d'une course sur tapis roulant avec obstacle a été enregistrée une, deux, sept et dix semaines après sélection des rats aptes à la course. Différents paramètres (hauteur maximale des marqueurs distaux et proximaux, durée et longueur de l'enjambement, valeurs des angles articulaires lorsque la patte quitte le tapis roulant, puis lorsqu'elle est à sa hauteur maximale puis lorsqu'elle reprend appui) ont été mesurés lors du franchissement de l'obstacle et entre les deux obstacles afin de comprendre les modifications du pattern locomoteur de base associées au passage de l'obstacle. Nous avons également mesuré les distances pré et post-obstacle de chacune des pattes. Les paramètres ont été calculés à partir de cinq ou de vingt passages d'obstacle chez sept rats. Entre le premier et le dernier enregistrement, l'âge des rats passe de onze à vingt-et-une semaines et leur poids corporel de 364 grammes à 478 grammes.

### 2) Principaux résultats

Le franchissement de l'obstacle est associé à une modification de la coordination du mouvement des pattes. Entre les obstacles, le rat progresse par bipèdes diagonaux avec un pas successif de l'antérieur puis du postérieur (par exemple antérieur droit puis postérieur gauche, antérieur gauche puis postérieur droit). Pour franchir l'obstacle, ce pattern est complètement rompu, les deux pattes antérieures suivies des deux pattes postérieures passant successivement l'obstacle. Dans nos conditions, le franchissement de l'obstacle (3 cm de haut) s'est accompagné d'une modification de la trajectoire des pattes qui s'est révélée plus marquée pour les pattes antérieures que pour les pattes postérieures. De façon importante, le déplacement des ceintures joue un rôle considérable dans l'élévation des pattes au-dessus de l'obstacle : déplacement vertical de l'épaule pour la patte antérieure qui conduit la manœuvre et déplacement horizontal pour celle qui suit. Le déplacement est vertical pour la ceinture

pelvienne, que la patte postérieure conduise ou non le mouvement. Nos résultats montrent également une grande stabilité des paramètres locomoteurs dans le temps indiquant que ces paramètres ne sont pas influencés par la croissance osseuse, ni par la prise de poids. Enfin, les valeurs des paramètres locomoteurs calculées à partir de cinq passages consécutifs d'obstacles ne sont pas différentes de celles obtenues à partir de l'analyse de vingt passages.

**Title:** Kinematics of obstacle clearance in the rat

Authors: Olivier Perrot <sup>1,2</sup>, Davy Laroche <sup>4</sup>, Thierry Pozzo <sup>1,3</sup>, Christine Marie <sup>1,2</sup>

1. INSERM, U887, Motricité-Plasticité, Dijon, F-21078, France

2. Université de Bourgogne, Dijon, Campus Universitaire, UFR Pharmacie, BP 87900, F-21079, Dijon, France.

3. Université de Bourgogne, Dijon, Campus Universitaire, UFR STAPS, BP 27877, F-21078 Dijon, France.

4. CIC-P INSERM 803, Plateforme d'Investigation Technologique, Centre Hospitalier Universitaire de Dijon, BP 77908, 21079 Dijon cedex

Corresponding author: Christine Marie, e-mail: [chmarie@u-bourgogne.fr](mailto:chmarie@u-bourgogne.fr), phone and fax number: +33 3 80 39 32 27



## **Abstract**

Although the rat has become the favourite animal model in preclinical researches on locomotion, studies designed to assess the strategy used by rats to avoid obstacle avoidance are lacking in rats. Using an optoelectronic 3D motion analysis system, we have, therefore, compared the step pattern, timing and length variables of locomotor cycles, trajectories and joint angles values of limbs when rats stepped between and overcame obstacles (3 cm-height) fixed on a treadmill belt (25 cm/s). Motion of all the four limbs was serially recorded for a 10 weeks long-period in adult animals with an initial age of 11 weeks. The results show that obstacle avoidance results in disruption of the basic step pattern thus resulting in increased stride length of all limbs, increased duration of the swing phase of forelimbs, only, and appearance of quadrupedal stance phases. They also reveal that elevation of limbs above the obstacle not only involved their flexion but also displacement of corresponding girdles. Remarkably, trajectory of the forelimb that was the second to overcome obstacle was the mirror image of that of the leading forelimb. Lastly, all measured parameters remain stable over the observation period during which body weight gain reaches 100 g (one third of the initial body weight). In conclusion, our study may represent a basic work for futures studies aimed at understanding the neural pathways involved in pathologies associated with deficit/recovery of challenged locomotion.

Key words: 3D motion analysis, kinematics, challenged locomotion, obstacle avoidance, rats

## **1. Introduction**

Studies in cats have furnished most of what is known on mammalian locomotion. However, the rat has become the favourite animal model in preclinical researches on locomotion to increase our understanding on the neural pathways involved in the control of locomotion in pathological conditions including stroke (Wang et al., 2008), spinal cord injury (Metz et al., 2000; Hamers et al., 2006) and neurodegenerative brain diseases (Miklyeva et al., 1995; Metz and Whishaw, 2002), and to test various treatments (Wang et al., 2008, Poulton and Muir, 2005). Most rat studies have focussed on locomotion on a flat surface and therefore neglect one important component of locomotion, i.e. the possibility to deal with environmental constraints by the voluntary modification of the basic locomotor pattern, which largely involves activity of a network of spinal interneurons named as central pattern generators (CPGs). It can be noticed here that locomotion has been also assessed from visual inspection of lesioned rats while traversing a narrow beam or a horizontal ladder (Millerot Serruot, 2007, Metz and Whishaw, 2002, 2009), two situations that are more demanding in requiring supraspinal motor circuitry as compared to locomotion on a flat surface. However, these tests only measure a narrow spectrum of locomotion.

Walking in an environment in which there are obstacles is a complex locomotor task that requires modification of limb trajectories as well as appropriate limb placements before and after the obstacle to avoid a trip and a subsequent fall. Such adaptation of the locomotor pattern involves activation of supraspinal pathways as evidenced by impaired obstacle crossing after lesion of the nervous central system brain both in patients (Said et al., 2001, 2005, McFadyen et al., 2003, Morton et al., 2004, Michel et al., 2009, Amatachaya et al., 2010) and cats (Drew et al., 2002, Lajoie et Drew, 2007, Friel et al., 2007). Furthermore, we

recently showed that rats with lesion of the striatum frequently step on the obstacle with limbs opposite to the lesion providing they were the first to encounter obstacle (Perrot et al, 2009). These data suggest that obstacle crossing in rats, a species in which almost all brain diseases can be mimicked, may be an adequate experimental paradigm to better understand the neural pathways involved in planning and execution of challenged locomotion after brain diseases and accelerate the development of treatment strategies. However, before using such a paradigm, it is necessary to get knowledge on the strategy used by the rat to overcome obstacle in order to further identify pertinent parameters from which deficit in challenged locomotion will be quantified..

The first aim of the present study was to identify and quantify changes in spatial and temporal variables of limbs that occurred when rats have to step over an obstacle. The second aim was to explore the stability over the time of these changes. Indeed, body weight gain of rats as well as their bones growth, which is a continuous process in this species, may be confounding factors in long-term locomotion studies. For this purpose, using an optoelectronic 3D motion analysis system, motion of the four limbs was serially recorded over a span of ten weeks in treadmill running adult rats of an initial age of 11 weeks. Two obstacles (3 cm-height, 1.2 cm-wide) were equally spaced on the treadmill belt. Stride length and duration, maximal height of the distal and proximal markers as well as joint angles were measured when rats stepped between obstacle (normal step) and when they overcame the obstacle (crossing step). The position of the tip of crossings limb with respect to the obstacle was also measured.

## **2. Material and method**

### 2.1. Animals

Experiments were carried out on 10 Wistar adult male rats, which were purchased from Depré (Saint-Doulhard, France), and conducted according to the guidelines of the French department of agriculture (licence n° 21CAE101). Animals were kept in a ventilated-humidity- and temperature-controlled room with a 12/12-h light/dark cycle. They were housed 5 per cage and received food and water *ad libitum*. To reduce animal's stress, the same operator performed all steps of the experiments.

### 2.2. Materiel

#### 2.2.1. Optoelectronic system

An optoelectronic 3D motion analysis system with six infrared cameras (VICON MX-13 optical motion capture system, Vicon, Oxford, Great Britain), which can record 1280 x 1024 full frame grey scale pixels and operating at a high time resolution of 200 Hz, was used to collect trajectories of hemispherical reflective markers with a diameter of 6 mm (BTS Bioengineering, Cod FMK0005, Milano, Italy). Pilot experiments revealed frequent signal loss with markers with a smaller (3 mm) diameter.

#### 2.2.2. Treadmill apparatus

The treadmill apparatus was a traded rat apparatus purchased from BIOSEB (Vitrolles, France) which was modified as follows in order to prevent disturbing reflections: the top box was replaced by a Plexiglas enclosure with a 2 mm-thickness and the treadmill belt by a piece of wax cloth that was put on a wrong way.

### 2.2.3. Obstacles

Two obstacles (3 cm-high final) were made from an assemblage of 8 syringes (6 mm of outer diameter) regularly spaced by 4 mm. They were fixed on a support (1 cm-high, 1.2 cm-wide) which constituted the base of the obstacle. The obstacles were then painted in black. Such a construction did not hinder the movement of the treadmill belt. The obstacles were attached to the treadmill belt equally spaced with double face adhesive tape, so that rats make more than one complete locomotor cycle between obstacles. Two markers were fixed on obstacle bases (lateral faces).

### 2.3. Selection of animals

To familiarize rats with the operator, they were handling twice a day for one week. Then, rats were selected according to their capacity of running regularly on the horizontal treadmill. On the first day, the rats were placed on the treadmill belt (speed zero, without obstacle) and were allowed to explore it for a few minutes before starting a 2 min-long running session during which the speed of the treadmill was progressively increased from 10 to 25 cm/s. On the following four days, a 2 min-long running session was given twice a day with a speed of the treadmill belt fixed at 25 cm/s, first without obstacle and then with obstacles. Notably, mild intensities of foot shocks were not used as negative reinforcement, except on days 1 and 2. Rats were excluded from further experiments when they failed to regularly run (contact of the forelimbs with the front wall of the treadmill, frequent immobility, or gallop) at the end of the selection period.

### 2.4. Position of the markers

Selected rats were anaesthetized (chloral hydrate, 400 mg/kg, i.p.), shaved and tattooed with permanent ink in order to locate the following anatomical landmarks: the

scapula, the upper and lower humerus epiphysis, the metacarpophalangeal joint, the iliac crest, the great trochanter, the knee, the external malleolus and the fifth metatarsophalangeal joint. When necessary, the area around the tattoo marks was shaved and re-touched with permanent ink. For this step, anaesthesia of animals that were now confident with the experimenter was not required.

## 2.5. Kinematic recordings

### 2.5.1. Procedure

Kinematic recordings were performed in a quiet and dark room. The cameras were placed at approximately 0.7 m from the treadmill apparatus. Three cameras were placed facing the rat's left side and three other cameras facing the rat's right side, perpendicular to the direction of the movement, thus allowing the simultaneous recording of the two hemi-bodies. The magnification of the cameras was calibrated to cover the 45 cm length of the treadmill apparatus. Just before recordings, markers were positioned on the tattooed area using double face adhesive tape. Recording was performed during treadmill running (25 cm/s) with the two obstacles attached to the treadmill belt (3 x 1 min-long session, i.e. 3 x 30 successive obstacle crossings). After removal of markers, the rat was put back in its cage with these congeners.

### 2.5.2. Measured parameters

Using a MATLAB program (Math-Works, Natick, USA), we measured the following parameters : a) the maximal height of the more distal and proximal markers, b) the duration and length of the stride (from toe-off before obstacle to paw contact after obstacle), c) the joint angle values of limbs at toe off, at maximal height of the distal marker, and at landing. These parameters were measured when the rat stepped between obstacles and when it overcame the obstacle. We also measured the pre-obstacle distances (the distance between the

front of the obstacle and the tip of the limb just before the crossing swing) and the post-obstacle distance (the distance between the obstacle and the tip of the limb at toe-contact). All the studied parameters were calculated at week 1, 2, 7, and 10 after the selection period from either 5 consecutive obstacle crossings collected during the first 1 min-long session or ~20 obstacle crossings (5 to 7 consecutive obstacle crossings collected in each of the three 1 min-long session). Notably, when the rat ran too much forward on the belt (it cannot see the advancing obstacle), the obstacle crossing was not taking into account. The limb that was the first to cross over the obstacle was referred to as the leading limb and the second as the trailed limb. Strides (from toe-off to toe-contact) between obstacles were referred to as normal steps and stride to straddle the obstacle to as crossing steps.

## 2.6. Data analysis

Statistics were performed using the 9.0 version of SYSTAT (Systat Software, Inc, Chicago, USA). At a given time after the selection period, pairwise comparisons between normal and crossing steps, between leading and trailed limbs, and between parameters calculated from 5 and 20 obstacle crossings were studied using the test of Wilcoxon. To test whether trailed forelimb trajectory was the mirror image of leading forelimb trajectory, a linear regression analysis was performed between the normalized waveform of the distal marker of the leading forelimb and the normalized and reversed in time waveform of the distal marker of the trailed forelimb, either on the vertical axis or the horizontal axis. Lastly, in order to investigate whether parameters changed over the time, parameters collected 1, 2, 7 and 10 weeks after the selection period were analyzed using the Pearson's correlation coefficient. Tests were considered statistically significant at p values <0.05. Data were expressed as mean  $\pm$  SD.

### **3. Results**

Among the 10 rats included in the study, two rats failed to regularly run at the end of the selection period, and another was excluded from kinematic recordings because of frequent attempts of withdrawal of the distal markers from forelimbs with their teeth. Therefore, kinematics was analyzed in 7 rats at weeks 1, 2, 7 and 10 after the selection period. At these times, the body weight (g) of rats was  $364 \pm 7$ ,  $400 \pm 10$ ,  $467 \pm 16$ ,  $478 \pm 18$ , respectively. All the parameters presented in the text, Table and Figures were calculated from 20 obstacle crossings. However, parameters calculated from 5 obstacle crossings (not shown) were not significantly different.

#### 3.1. Modification of the basic locomotor pattern to cross over obstacles

Fig.1 (right part) shows in a representative rat the trajectory of the more distal marker when the rat stepped between obstacles (normal steps, Fig. 1A) and when it overcame the obstacle (crossing step, Fig. 1B). As indicated in the left part of Fig.1, the right and left forelimbs are named as limbs 1 and 2, respectively and the right and left hindlimbs as limbs 3 and 4. In the example, the first limb to step was the right forelimb. Between obstacles (Fig 1A), limb 1 was followed by the opposite hindlimb (limb 3) and then by limbs 2 and 4. This corresponded to the basic step pattern of the rat during walking on a flat surface (Thota et al, 2005). Obstacle crossing required modification of the basic step pattern. As shown in Fig. 1B), each of the forelimbs followed by each of the hindlimbs sequentially stepped over the obstacle. Accordingly, the first crossing hindlimb (limb 3) was always ipsilateral to the leading crossing forelimb (limb 1). Beside, limb trajectory differed between normal and crossing steps, yet the major difference between the two stepping conditions occurred for limb 2. During normal steps, limb 2 progressively and slowly elevated and rapidly contacted the treadmill belt. In contrast, to cross obstacle limb 2 rapidly lifted above the obstacle and then



slowly repositioned on the treadmill belt. Obstacle avoidance also modified the postural strategy. More precisely, whereas two bipedal stance phases (two limbs support body weight) were observed during locomotion between obstacles, obstacle crossing was characterized by the presence of only one bipedal stance phase, providing more postural stability and the appearance of two quadrupedal stance phases (four limbs support the body weight just after repositioning of limb 1 and of limb 3). Remarkably, in the conditions of obstacle avoidance (Fig.1B, right part) trajectory of the trailed forelimb (limb 2) was the mirror image of that of the leading forelimb (limb 1). Results of the linear regression analysis showed that the mean correlation coefficient on the vertical axis was  $0.79 \pm 0.09$ ,  $0.79 \pm 0.04$ ,  $0.76 \pm 0.07$ ,  $0.82 \pm 0.08$  at weeks 1, 2, 7, 10 after the selection period, the corresponding values on the horizontal axis being  $0.78 \pm 0.08$ ,  $0.73 \pm 0.08$ ,  $0.80 \pm 0.04$ ,  $0.80 \pm 0.07$ .

### 3.2. Maximal height of the distal marker

From week 1 to 10 after the selection period, we measured the maximal height of the distal marker during stepping between obstacle (normal steps) and during obstacle clearance (crossing steps). Results are summarized in Table I. For normal stepping (upper section), the maximal height of the paw remained closed to 8 mm for the forelimbs and to 25 mm for the hindlimbs. The corresponding values were significantly higher for crossing steps (lower section). Notably, the maximal height of the distal marker differed between the leading and the trailed conditions. Elevation was more important with the leading than the trailed forelimbs whereas it was more important for the trailed than the leading hindlimb. From the difference in maximal height of the distal marker between normal and crossing steps, it can be deduced that obstacle clearance-associated additional limb elevation was maximal for the leading forelimb. For instance, at week 1, additional elevation that reached 28 mm for the leading forelimb (36.5 minus 8.1 mm for limb 1) was ~20 mm for other limbs (29.2 minus 9.5

mm for limb 2, 45.2 minus 24.0 mm for limb 3 and 49.4 minus 25.8 mm for limb 4). No difference in the maximal height of the distal marker was observed between the four recording sessions following the selection period.

### 3.3. Length and timing parameters of the locomotor cycle

The tables II and III show length and timing parameters from week 1 to 10 after the selection period, respectively. Concerning the length parameters (table II), obstacle clearance resulted in a significant increase of the stride length for all the limbs (+ 3 cm for the leading forelimb, + 5 cm for the trailed forelimb, and + 7 cm for both the leading and trailed hindlimbs). For all the limbs, length parameters of normal steps were independent on the week at which the recording was performed. This was also the case when rats overcame the obstacle, except for the trailed hindlimb. For this limb, the stride length (cm) increased from 13.7 cm at week 1 to 15.7 cm at week 10,  $r = 0.980$ ,  $p = 0.02$ ). Concerning the timing parameters (Table III) no difference in stride duration was observed between normal and crossing steps for the forelimbs. In contrast, obstacle clearance was associated with an increased by a factor 2 of the stride duration of the hindlimbs whether it led or trailed. The timing parameters were independent on the week at which the recording was performed whether rats stepped between obstacles or overcame obstacle.

### 3.3. Pre- and post-obstacle distance

Fig. 2 shows the position of the paw with respect to the obstacle in a representative rat (left part) and the average values of the pre- and post-obstacle distance from 1 to 10 weeks after the selection period (right part). For the forelimbs, the paw was positioned far away the front of the obstacle when it was leading as compared to its position when it was trailing. Thus, the pre-obstacle distance was ~ 5 cm for limb 1 and ~ 2 cm for limb 2 ( $p < 0.05$ ). The

corresponding values in pre-obstacle distance for the leading (limb 3) and trailed hindlimbs (limb 4) were 8 and 3.5 cm ( $p < 0.05$ ). At landing, the leading forelimb was positioned closer to the obstacle than the trailed forelimb. Thus, the post-obstacle distance was ~ 6 cm for the leading forelimb (limb 1) and 10 cm for the trailed forelimb (limb 2) ( $p < 0.05$ ). The corresponding values for the hindlimbs were also ~6 and ~ 10 cm. Whatever the considered limb, pre- and post-obstacle distances were independent on the week at which the recording was performed. It is noteworthy that neither pre- nor post-obstacle distance of the trailed hindlimb was dependent on the time, thus questioning the relevance of the time-dependent increase of its stride length (see paragraph 3.2).

### 3.4. Joint angle values

Figure 3 which shows sticks figures of representative consecutive normal and crossing steps (from toe-off to toe-contact), illustrates differences in kinematics between stepping between obstacles and passage over obstacles. Fig. 4 gives a focus on joint angle values of limbs at toe-off (a), at maximal height of the paw (b) and at toe-contact (c) during stepping between obstacles (4A) and during obstacle clearance (4B). The corresponding averaged values of joint angles are shown in Table IV (for the forelimbs) and Table V (for the hindlimbs). The results show differences in joint angle values between normal and crossing steps at toe-off, at maximal height of the distal marker, and to a less extent at toe-contact.

With regards of the forelimbs (Table IV), the crossing limb at toe-off whether it led or trailed showed an overextension of the shoulder and an overflexion of the elbow as compared to joint angle values at the starting of normal steps. At maximal elevation of the crossing limb, the shoulder was more flexed whether the limb led or trailed as compared to steps between obstacles. In contrast, the elbow was more flexed when the limb led and more extended when the limb trailed. Lastly, at toe-contact only weak differences in joint angles were observed

between normal and crossing steps. The major difference between the leading and trailed forelimb was observed for the elbow joint when the limb was at maximal elevation.

With regards of the hindlimbs (Table V), knee and ankle joints at toe-off were overextended, whether the limb led or trailed. At maximal height of the distal marker, hip and ankle joints of the leading limb were more flexed for the crossing than the normal steps, and no important difference in knee joint were observed between the two conditions. In contrast, for the trailed hindlimb, only the knee joint was different between normal and crossing steps (the joint is more flexed for the crossing limb). As observed for the forelimbs, no important difference in joint angles at toe-contact of the hindlimbs was observed between normal and crossing steps. For the hindlimbs, the major difference in joint angle values between the leading and trailed conditions was observed for the knee and the ankle at toe-off and for all the joints when the distal marker was at maximal height. Lastly, joint angle values for both normal and crossing steps were independent on the week at which the recording was performed.

It is noteworthy that obstacle avoidance not only involved changes in angular joint but also displacement of girdles (see Fig.4B). For the trailed forelimb, which was placed very close to the obstacle and showed an overextension of the shoulder, the initial constraint was to raise rapidly the limb above the obstacle. This was mainly achieved by a rapid flexion of the shoulder and horizontal displacement of the scapula, which was dramatically in a forward position related to the position of the distal marker when the paw reached its maximal elevation. This was quite different for the leading forelimb for which passage over the obstacle was mainly due to a progressive upward displacement of the scapula associated with a flexion of the elbow. For the hindlimbs whether they led or trailed, the knee and ankle joint are overextended at toe-off, and their passage above the obstacle involved an upward motion of the pelvis associated with a flexion of both the ankle and the knee joints. In order to assess

the contribution of girdle elevation in the elevation of limbs above obstacle, we compared maximal height of scapula and pelvis when rats stepped between obstacles and when they overcame obstacle. As shown in Fig.5, the maximal height of scapula was 15 mm higher during the crossing than the normal step whether the limbs led or trailed. Therefore, the rise of the scapula (15 mm) largely contributed to the additional elevation of the tip of the paw that was required to pass over obstacle (28 mm for the leading forelimb and 20 mm for the trailed forelimb, see Table I). With regards to the hindlimbs, obstacle crossing led to a vertical displacement of 20 mm of the hip whether the limb led or trailed. Accordingly, for these limbs an elevation of the pelvis would be sufficient to allow their passage above the obstacle if joint angles at toe-off (just before the crossing swing) were not different from those observed during normal locomotion.

#### **4. Discussion**

Using an optoelectronic system, the present study provides a comprehensible analysis of the strategy used by the rat to overcome obstacles.

##### Methodological considerations

Locomotion- and obstacle avoidance-related parameters were measured in treadmill running rats with two obstacles fixed to the treadmill belt. The speed of the treadmill belt was fixed at 25 cm/s, a speed that is within the range of speed of rats during overground locomotion (Clarke et al, 1986). Importantly, previous data in the cat showed that the strategy used to avoid obstacles fixed to a treadmill belt did not differ from that used to avoid obstacles placed on the ground (see Lavoie et al, 1995). Kinematics was assessed from an a 3D motion analysis system, which provides maximal precision and accuracy of joint angles values as compared to a 2D analysis system (Couto et al, 2008). This technology primarily dedicated in human has been recently used in rats to explore joint kinematics after hypogravity (Canu and Garnier, 2009), lesion of the striatum (Perrot et al, 2009) and lesion of the spinal cord (Jung et al, 2009; Pereira et al, 2006, Ichiyama et al, 2005). Here, knee position was estimated from skin markers instead from computer interpolation of the position of the knee. Such estimation could be a source of error because the skin around the knee exhibits slippage relative to the skeleton. However, no difference between the two methods (skin marker versus interpolation) was noticed at toe-contact for hip and knee joints, and only a weak difference for ankle angular movement determination of the whole steps was observed between the two methods during treadmill locomotion (Filipe et al, 2006). Additionally, our present study showed that the distances hip-knee and knee-malleollus were not different between normal and crossing steps, suggesting that skin movement around the knee is not

exacerbated during obstacle clearance. For these reasons, we think that reconstruction of limbs movement from skin markers is reliable enough to assess the strategy used by rats to cross over obstacle.

In experimental studies on locomotion, kinematic parameters have to be serially recorded for a long-term period in order to investigate spontaneous or treatment-induced recovery of deficit. In the rat but not in the human or the cat, the bones never cease to grow (at least up to one year) even though growth rate of the bones decline as the animals become older (Harrison, 1958; Raman, 1969). Therefore, bone growth may be a source of misinterpretation of results when long-term studies are performed in rats. Against this hypothesis, our study reveals that locomotion- and obstacle avoidance-related parameters remain stable in rats from age of 11 (~80 d) to 21 weeks (~150 d). These findings are consistent with anatomical studies showing that the growth of long bones or pelvis is fairly rapid until 80 days of age and then quickly slowed down. It is noteworthy that during the 10 weeks-long observation period the body weight gain of rats reaches 100g, i.e. more than one third of the initial body weight. Accordingly, locomotion- and obstacle avoidance-related parameters are independent on body weight of animals, at least in adult rats. This data suggest that body weight loss as a result of brain lesion should not introduce a bias in the interpretation of lesion-induced changes in kinematics of locomotion.

From locomotion to obstacle avoidance

Our results show that interlimb coordination is quite different between stepping between obstacle and obstacle crossing. Between obstacles, the step pattern is alternate with forelimb and diagonal hindlimb footfalls occurring in sequence and nearly simultaneously as observed during unobstructed treadmill locomotion (see Thota et al, 2005 for details in

interlimb coordination). Conversely, during obstructed locomotion rats do not progress in bipedal diagonals since the hindlimb that is the first to encounter the obstacle is always on the same side that the leading forelimb, inducing major changes in both length and timing parameters of the locomotor pattern (see fig. 1B left part). More notably, the appearance of quadrupedal stance phases after repositioning of the leading crossing limbs suggests a complete reorganization of the locomotor pattern. One question raised by our results is how such a re organization of the locomotor pattern can take place? One possibility would be that cortical areas generate specific and independent motor commands on each actuator. Recent lesion and electrophysiological studies in cats suggest a role of the posterior parietal cortex (McVea et al, 2009; Lajoie et al, 2010) in the re planning of the gait modification. Interestingly, a contribution of this cortical region has also been suspected in obstacle avoidance in human reaching (Schindler et al, 2004). Alternatively, supraspinal projections may also reach a new spinal neural network compatible with the new limb trajectories recorded during obstacle avoidance. In support to this hypothesis was the rapid switch from the basic step pattern to the obstacle clearance step pattern. When hunting prey, rats have to take into account very uneven terrain and rapid changes in direction. Online adaptation to the environmental constraints including the presence of obstacles would be facilitated by existence of dedicated spinal ‘pattern generator’ circuits that would produce the modified rhythmicity of locomotion. Remarkably, our results show that trajectory of the forelimb that was the second to overcome obstacle is the mirror image of that of the leading forelimb. It has been suggested that the leading forelimb that is the only one under visual control at obstacle clearance, may determine the trajectory of the hindlimbs (Wischaw et al, 2009, Lajoie et al, 2010). In the same vein, one can speculate that the kinematic pattern of the leading forelimb would be re used as a kinematic template by the trailed forelimb, undergoing a simple reversal in time. This schema is compatible with data recorded in human in which foot kinematics



was found to be basically invariant in various conditions, such as forward vs backward direction, erect vs bent posture (Grasso et al, 1998, 2000) or walking with various levels of body weight unloading (Ivanenko et al, 2000), whereas muscle activation was dependent on the condition. The authors suggested that coordination of muscle activity during voluntary locomotor tasks is accomplished through combination of simple motor programs (Ivanenko et al, 2006).

In our experimental conditions, successful obstacle crossings require a voluntary elevation of both the forelimbs and hindlimbs. Our study reveals a major contribution of girdle displacement to the passage of limbs above obstacle. More precisely, obstacle clearance with the forelimbs involves an upward motion of the scapula when it leads and a rapid forward displacement of the scapula followed by its elevation when it trails. With respect to the hindlimbs, their passage over the obstacle is mainly due to pelvis elevation. These data do not mean that joint flexion of limbs do not occur during the crossing swing but rather highlight the importance of the nervous pathways that control girdles motion in successful obstacle crossings. It is noteworthy that obstacle clearance in cats (Lavoie et al, 1995), but not in human (Austin et al, 1999) also involves vertical and horizontal displacement of the girdles suggesting that contribution of girdles to avoid obstacle is specific of quadrupeds. In addition, comparison of our kinetic results with those of Lavoie et al (1995) reveals a great similitude in the strategy used to overcome obstacle between rats and cats, suggesting the involvement of the same neuronal pathways even though the cat is a digitigrades and the rat a plantigrade.

In conclusion, assuming that ambulation at home and in the community is threaten by the presence of obstacle, our results are likely useful for future studies designed to investigate

the neural pathways involved in the planning and execution of voluntary modification of the basic locomotor pattern or develop strategies to prevent falls in patients with brain diseases.

**Acknowledgements:** This study was supported by grants from the Conseil Régional de Bourgogne and l'Institut Universitaire de France.

Figures and Tables

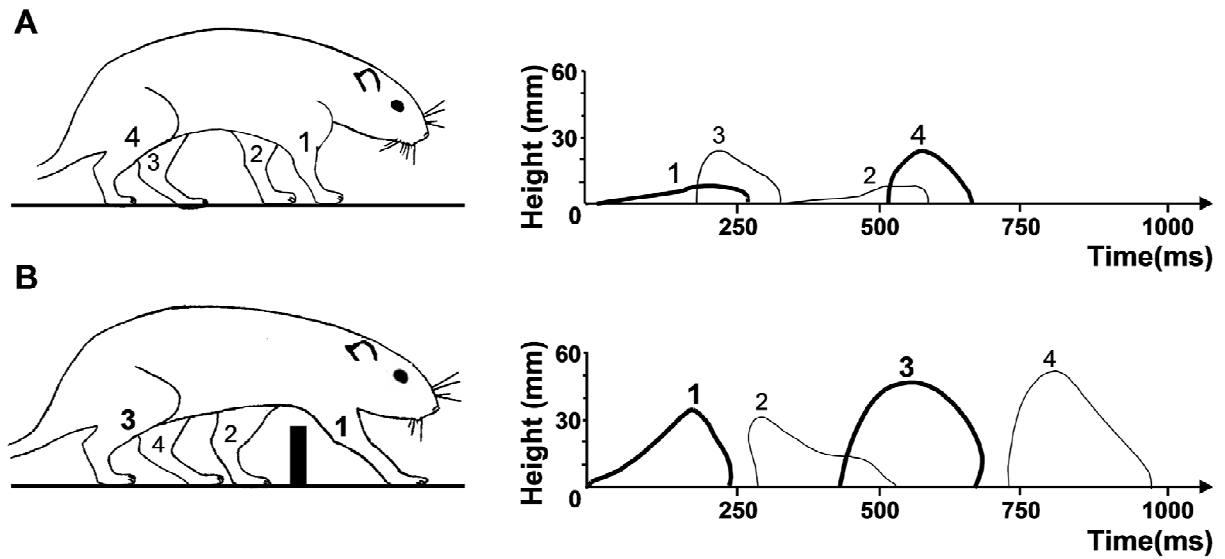


Figure.1 Modification of the basic locomotor pattern is required to clear obstacle. A) the rat stepped between obstacles, B) the rat crossed over the obstacle.

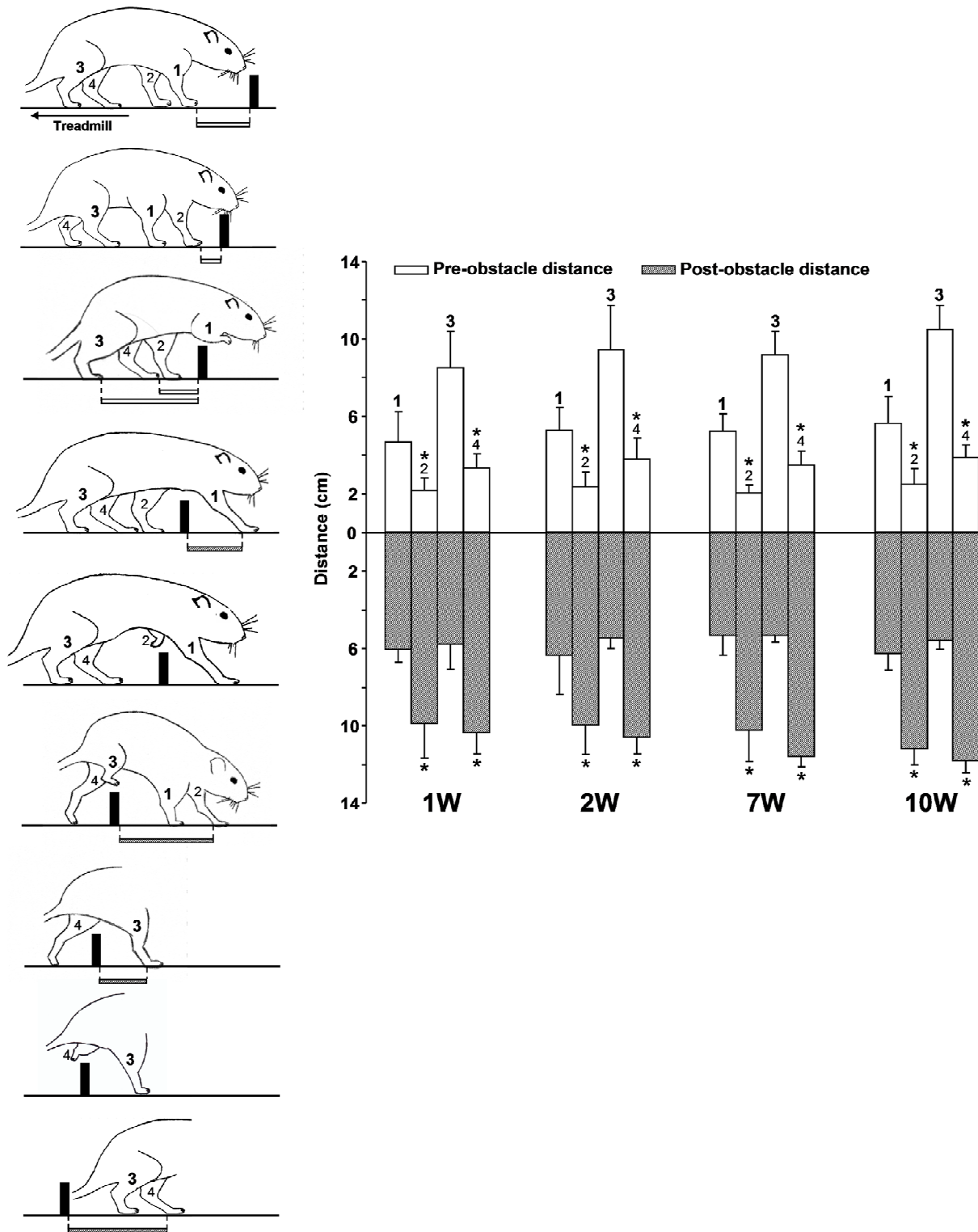
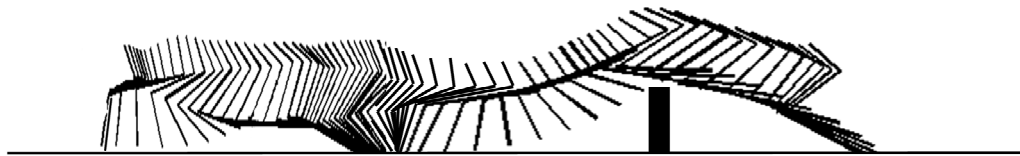
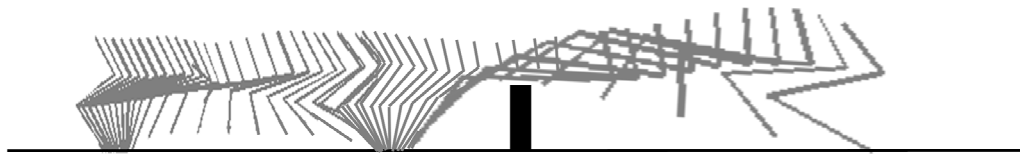


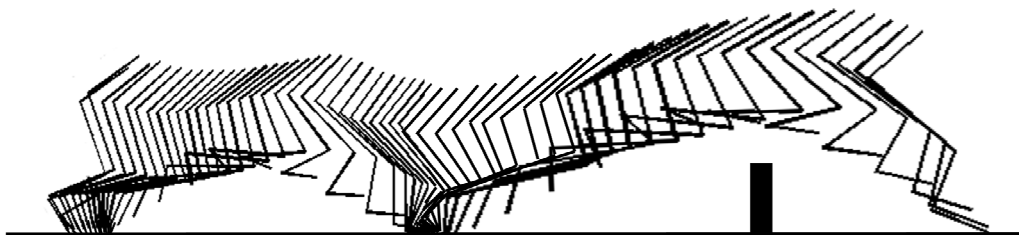
Figure.2 Pre- and post-obstacle distance from week 1 to 10 after the selection period. 1 = leading forelimb, 2 = trailed forelimb, 3 = leading hindlimb, 4 = trailed hindlimb. Values are means  $\pm$  SD, \* different from the leading limb ( $p < 0.05$ ).



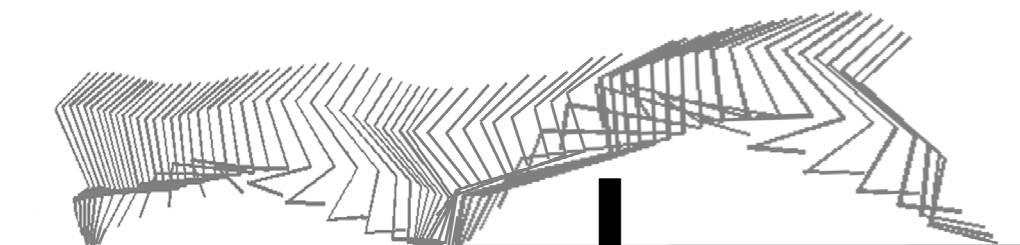
**Leading Forelimb**



**Trailed Forelimb**



**Leading Hindlimb**



**Trailed Hindlimb**

Figure.3 Stick figures of representative consecutive normal and crossing steps when the limb led and when it trailed the obstacle manoeuvre.

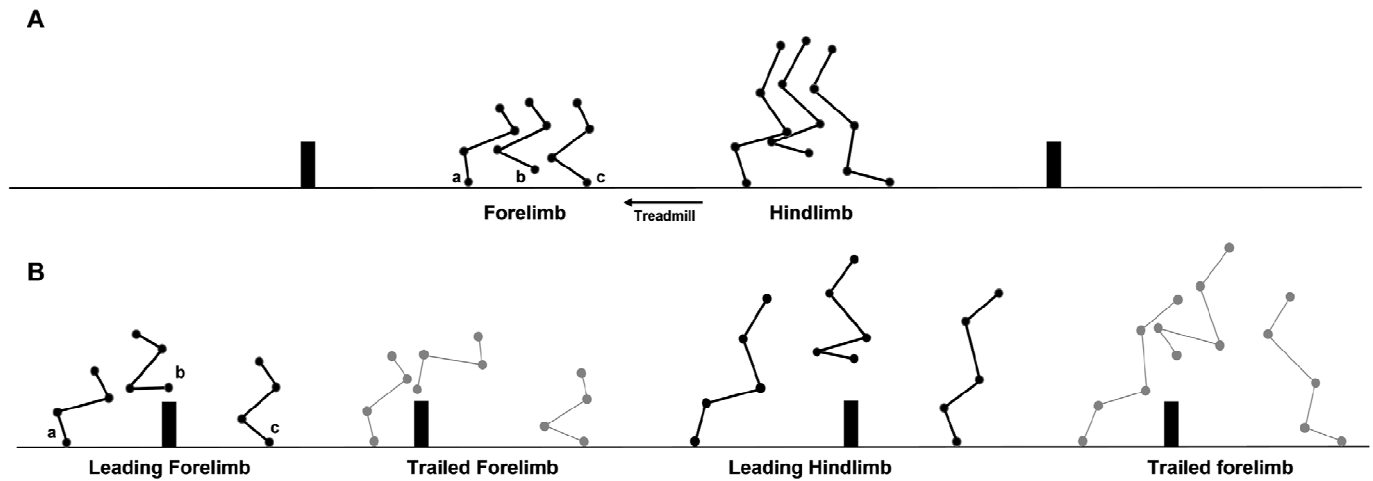


Figure.4 Representative joint angle positions at toe off (a), at maximal height of the paw (b), and at toe contact (c) during stepping between obstacles (A) and during obstacle clearance (B).

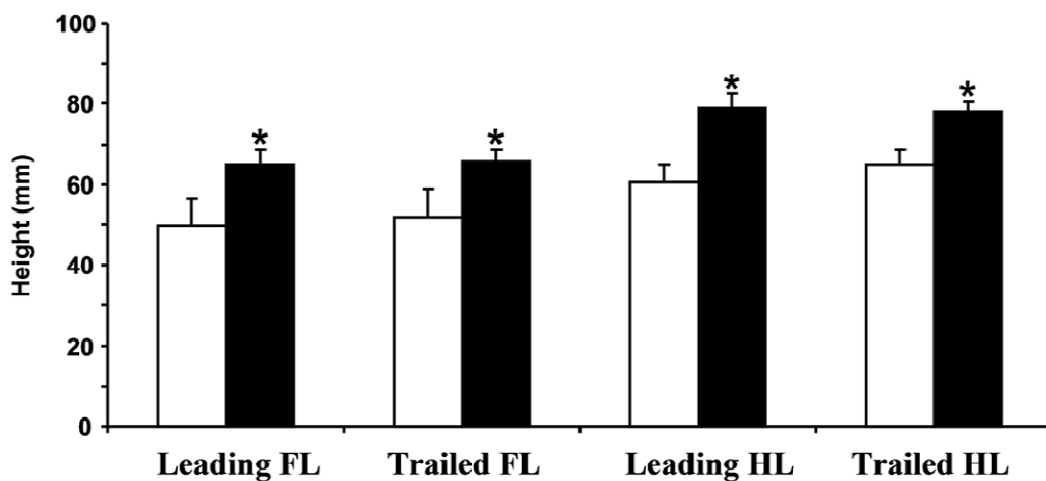


Figure.5 Maximal height of the proximal marker during stepping between obstacles (empty bars) and during obstacle clearance (black bars). FL = forelimb, HL = hindlimb. Values are means  $\pm$  SD, \* different from stepping between obstacles ( $p < 0.05$ ).

Table I

<b>Between obstacle</b>				
	<b>RFL (mm)</b>	<b>LFL (mm)</b>	<b>RHL (mm)</b>	<b>LHL (mm)</b>
<b>1W</b>	8.1 ± 3.1	9.5 ± 3.9	24.0 ± 4.3	25.8 ± 2.9
<b>2W</b>	8.6 ± 3.1	9.6 ± 2.4	24.8 ± 6.5	26.6 ± 2.0
<b>7W</b>	7.5 ± 2.0	7.7 ± 3.2	24.6 ± 3.7	24.6 ± 5.1
<b>10W</b>	7.3 ± 1.5	8.1 ± 2.3	23.9 ± 6.0	23.4 ± 3.4
<b>Obstacle clearance</b>				
	<b>Leading FL (mm)</b>	<b>Trailed FL (mm)</b>	<b>Leading HL (mm)</b>	<b>Trailed HL (mm)</b>
<b>1W</b>	36.5 ± 2.0 a*	29.2 ± 2.0 a*,b*	45.2 ± 2.2 a*	49.4 ± 1.8 a*
<b>2W</b>	35.7 ± 2.7 a*	29.1 ± 3.2 a*,b*	46.8 ± 1.8 a*	49.5 ± 1.4 a*,b*
<b>7W</b>	35.9 ± 1.5 a*	31.9 ± 2.3 a*,b*	45.3 ± 2.5 a*	51.3 ± 1.2 a*,b*
<b>10W</b>	36.0 ± 1.8 a*	32.1 ± 1.0 a*,b*	45.3 ± 3.1 a*	50.0 ± 2.7 a*

Maximal height of the distal marker during stepping between obstacles and during obstacle clearance from week 1 to 10 after the selection period. RFL and LFL = right and left forelimb, RHL and LHL = right and left hindlimb. Values are means ± SD, a\* different from stepping between obstacles ( $p < 0.05$ ), b\* different from the leading limb ( $p < 0.05$ ).

Table II

<b>Between obstacle</b>				
	<b>RFL (cm)</b>	<b>LFL (cm)</b>	<b>RHL (cm)</b>	<b>LHL (cm)</b>
<b>1W</b>	6.8 ± 1.0	7.2 ± 0.4	8.0 ± 0.6	8.3 ± 0.7
<b>2W</b>	7.5 ± 1.9	7.4 ± 1.6	8.4 ± 1.9	8.7 ± 1.0
<b>7W</b>	7.1 ± 0.5	7.3 ± 0.6	8.5 ± 1.1	8.2 ± 1.0
<b>10W</b>	7.9 ± 0.7	7.6 ± 2.2	8.7 ± 1.5	8.6 ± 2.2
<b>Obstacle clearance</b>				
	<b>Leading FL (cm)</b>	<b>Trailed FL (cm)</b>	<b>Leading HL (cm)</b>	<b>Trailed HL (cm)</b>
<b>1W</b>	10.7 ± 1.9*	12.0 ± 1.6*	14.2 ± 1.0*	13.7 ± 0.8*
<b>2W</b>	11.6 ± 2.3*	12.3 ± 1.4*	14.7 ± 2.0*	14.3 ± 1.2*
<b>7W</b>	10.5 ± 1.2*	12.3 ± 1.5*	14.7 ± 1.0*	15.0 ± 0.9*
<b>10W</b>	11.9 ± 1.1*	13.6 ± 0.3*	16.4 ± 1.4*	15.7 ± 0.6*

Length of the stride during stepping between obstacles and during obstacle clearance from week 1 to 10 after the selection period. RFL and LFL = right and left forelimb, RHL and LHL = right and left hindlimb. Values are means ± SD, \* different from stepping between obstacles ( $p < 0.05$ ).

Table III

<b>Between obstacle</b>				
	<b>RFL (ms)</b>	<b>LFL (ms)</b>	<b>RHL (ms)</b>	<b>LHL (ms)</b>
<b>1W</b>	249 ± 99	206 ± 46	106 ± 9	104 ± 9
<b>2W</b>	272 ± 64	214 ± 56	113 ± 10	115 ± 13
<b>7W</b>	219 ± 66	235 ± 87	121 ± 11	105 ± 17
<b>10W</b>	259 ± 79	232 ± 78	122 ± 22	110 ± 23

<b>Obstacle clearance</b>				
	<b>Leading FL (ms)</b>	<b>Trailed FL (ms)</b>	<b>Leading HL (ms)</b>	<b>Trailed HL (ms)</b>
<b>1W</b>	234 ± 44	195 ± 53	203 ± 42*	206 ± 43*
<b>2W</b>	226 ± 57	206 ± 35	234 ± 51*	230 ± 83*
<b>7W</b>	248 ± 47	209 ± 49	217 ± 27*	216 ± 30*
<b>10W</b>	259 ± 47	222 ± 12	244 ± 66*	244 ± 59*

Duration of the stride during stepping between obstacles and during obstacle clearance from week 1 to 10 after the selection period. RFL and LFL = right and left forelimb, RHL and LHL = right and left hindlimb. Values are means ± SD, \* different from stepping between obstacles ( $p < 0.05$ ).



Table IV

		Joint angle (degrees)			
		Between obstacle	Obstacle clearance		
			Leading	Trailed	
<b>At toe-off</b>					
Shoulder	1W	79 ± 7	87 ± 12 a*	94 ± 13 a*	
	2W	78 ± 9	85 ± 11 a*	92 ± 11 a*	
	7W	80 ± 9	87 ± 11 a*	93 ± 9 a*	
	10W	82 ± 10	85 ± 12	94 ± 11 a*	
Elbow	1W	105 ± 9	84 ± 15 a*	104 ± 8 b*	
	2W	109 ± 6	87 ± 7 a*	102 ± 5 b*	
	7W	104 ± 6	92 ± 9 a*	97 ± 4 a*	
	10W	109 ± 7	98 ± 13	103 ± 6 a*	
<b>At maximal height</b>					
Shoulder	1W	89 ± 9	77 ± 11 a*	75 ± 7 a*	
	2W	88 ± 10	80 ± 10 a*	73 ± 6 a*	
	7W	91 ± 11	78 ± 12 a*	73 ± 5 a*	
	10W	96 ± 10	85 ± 15 a*	76 ± 7 a*	
Elbow	1W	54 ± 6	42 ± 5 a*	77 ± 11 a*,b*	
	2W	53 ± 5	41 ± 5 a*	83 ± 9 a*,b*	
	7W	53 ± 6	46 ± 5 a*	87 ± 4 a*,b*	
	10W	53 ± 5	43 ± 3 a*	87 ± 10 a*,b*	
<b>At toe-contact</b>					
Shoulder	1W	99 ± 12	96 ± 12 a*	101 ± 14	
	2W	97 ± 11	95 ± 12	100 ± 11	
	7W	102 ± 13	98 ± 13 a*	102 ± 13	
	10W	106 ± 11	98 ± 12 a*	101 ± 8	
Elbow	1W	69 ± 5	80 ± 13	69 ± 12	
	2W	75 ± 8	79 ± 12	65 ± 10 a*,b*	
	7W	75 ± 8	82 ± 12 a*	71 ± 13	
	10W	79 ± 5	84 ± 7	67 ± 10 a*,b*	

Joint angle values of forelimbs during stepping between obstacles and during obstacle clearance when the limb led and when it trailed. Values are means ± SD and expressed as degrees, a\* different from stepping between obstacles ( $p < 0.05$ ), b\* different from the leading limb ( $p < 0.05$ ).

Table V

Joint angle (degrees)		Between obstacle	Obstacle clearance	
			Leading	Trailed
<b>At toe-off</b>				
Hip	1W	125 ± 6	118 ± 8 a*	125 ± 8 b*
	2W	129 ± 7	123 ± 11	128 ± 7
	7W	125 ± 7	118 ± 6 a*	123 ± 5 a*
	10W	127 ± 9	122 ± 9	128 ± 5
Knee	1W	59 ± 7	81 ± 10 a*	99 ± 7 a*,b*
	2W	59 ± 6	84 ± 6 a*	101 ± 7 a*,b*
	7W	67 ± 4	83 ± 5 a*	101 ± 3 a*,b*
	10W	65 ± 3	81 ± 7 a*	104 ± 4 a*,b*
Ankle	1W	75 ± 8	106 ± 9 a*	120 ± 6 a*,b*
	2W	80 ± 12	107 ± 8 a*	120 ± 8 a*,b*
	7W	90 ± 13	107 ± 7 a*	122 ± 8 a*,b*
	10W	84 ± 13	91 ± 11	117 ± 4 a*,b*
<b>At maximal height</b>				
Hip	1W	119 ± 7	106 ± 7 a*	120 ± 10 b*
	2W	122 ± 7	107 ± 8 a*	123 ± 9 b*
	7W	117 ± 6	104 ± 7 a*	116 ± 7 b*
	10W	119 ± 10	108 ± 9 a*	123 ± 6 b*
Knee	1W	59 ± 8	59 ± 5	51 ± 6 a*,b*
	2W	59 ± 6	61 ± 6	52 ± 6 a*,b*
	7W	66 ± 4	64 ± 5	55 ± 4 a*,b*
	10W	64 ± 4	69 ± 5 a*	53 ± 4 a*,b*
Ankle	1W	31 ± 6	17 ± 9 a*	27 ± 5 b*
	2W	34 ± 11	20 ± 10 a*	35 ± 11 b*
	7W	40 ± 5	22 ± 6 a*	34 ± 6 a*,b*
	10W	35 ± 10	19 ± 9 a*	35 ± 6 b*
<b>At toe-contact</b>				
Hip	1W	110 ± 7	105 ± 6 a*	111 ± 8 b*
	2W	113 ± 6	107 ± 8 a*	112 ± 7
	7W	108 ± 6	105 ± 6	107 ± 6
	10W	110 ± 9	107 ± 7 a*	112 ± 4
Knee	1W	116 ± 4	115 ± 6	111 ± 6 a*,b*
	2W	120 ± 6	118 ± 3	113 ± 7 a*
	7W	121 ± 3	113 ± 6 a*	112 ± 6 a*
	10W	118 ± 3	117 ± 5	112 ± 4 a*,b*
Ankle	1W	98 ± 2	102 ± 10	95 ± 5
	2W	101 ± 8	105 ± 4	97 ± 10 a*
	7W	100 ± 5	102 ± 6	94 ± 8 a*
	10W	95 ± 8	101 ± 4	89 ± 8 a*,b*

Joint angle values of hindlimbs during stepping between obstacles and during obstacle clearance when the limb led and when it trailed. Values are means ± SD and expressed as degrees, a\* different from stepping between obstacles ( $p < 0.05$ ), b\* different from the leading limb ( $p < 0.05$ ).

## References

Amatachaya, S., Thaweewannakij, T., Adirek-udomrat, J. & Siritaratiwat, W. 2010. Factors related to obstacle crossing in independent ambulatory patients with spinal cord injury. *J Spinal Cord Med* 33, 144-149.

Austin, G.P., Garrett, G.E. & Bohannon, R.W. 1999. Kinematic analysis of obstacle clearance during locomotion. *Gait Posture*. 10, 109-120.

Canu, M.H. & Garnier, C. 2009. A 3D analysis of fore- and hindlimb motion during overground and ladder walking: comparison of control and unloaded rats. *Exp Neurol*. 218, 98-108.

Clarke, K.A. & Parker, A.J. 1986. A quantitative study of normal locomotion in the rat. *Physiol Behav*. 38, 345-351.

Couto, P.A., Filipe, V.M., Magalhaes, L.G., Pereira, J.E., Costa, L.M., Melo-Pinto, P., Bulas-Cruz, J., Mauricio, A.C., Geuna, S. & Varejao, A.S. 2008. A comparison of two-dimensional and three-dimensional techniques for the determination of hindlimb kinematics during treadmill locomotion in rats following spinal cord injury. *J Neurosci Methods*. 173, 193-200.

Drew, T., Jiang, W. & Widajewicz, W. 2002. Contributions of the motor cortex to the control of the hindlimbs during locomotion in the cat. *Brain Res Brain Res Rev*. 40, 178-191.

Filipe V.M., Pereira J.E., Costa L.M., Mauricio A.C., Couto P.A., Melo-Pinto P., Varejao A.S. 2006. Effect of skin movement on the analysis of hindlimb kinematics during treadmill locomotion in rats. *J Neurosci Methods* 153:55-61.

Friel, K.M., Drew, T. & Martin, J.H. 2007. Differential activity-dependent development of corticospinal control of movement and final limb position during visually guided locomotion. *J Neurophysiol.* 97, 3396-3406.

Grasso, R., Bianchi, L. & Lacquaniti, F. 1998. Motor patterns for human gait: backward versus forward locomotion. *J Neurophysiol* 80, 1868-1885.

Grasso, R., Zago, M. & Lacquaniti, F. 2000. Interactions between posture and locomotion: motor patterns in humans walking with bent posture versus erect posture. *J Neurophysiol* 83, 288-300.

Hamers, F.P., Koopmans, G.C. & Joosten, E.A. 2006. CatWalk-assisted gait analysis in the assessment of spinal cord injury. *J Neurotrauma.* 23, 537-548.

Harrison, T.J. 1958. The growth of the pelvis in the rat; a mensural and morphological study. *J Anat.* 92, 236-260.

Ichiyama R.M., Gerasimenko Y.P., Zhong H., Roy R.R., Edgerton V.R. 2005. Hindlimb stepping movements in complete spinal rats induced by epidural spinal cord stimulation. *Neurosci Lett* 383, 339-344.

Ivanenko, Y. P., Grasso, R. & Lacquaniti, F. 2000. Neck muscle vibration makes walking humans accelerate in the direction of gaze. *J Physiol* 525 Pt 3, 803-814.

Ivanenko, Y. P., Poppele, R. E. & Lacquaniti, F. 2006. Motor control programs and walking. *Neuroscientist* 12, 339-348.

Jung, R., Belanger, A., Kanchiku, T., Fairchild, M. & Abbas, J.J. 2009. Neuromuscular stimulation therapy after incomplete spinal cord injury promotes recovery of interlimb coordination during locomotion. *J Neural Eng.* 6, 055010.

Lajoie, K. & Drew, T. (2007) Lesions of area 5 of the posterior parietal cortex in the cat produce errors in the accuracy of paw placement during visually guided locomotion. *J Neurophysiol* 97(3): 2339-2354.

Lajoie, K., Andujar, J.E., Pearson, K. & Drew, T. 2010. Neurons in area 5 of the posterior parietal cortex in the cat contribute to interlimb coordination during visually guided locomotion: a role in working memory. *J Neurophysiol.* 103, 2234-2254.

Lavoie, S., McFadyen, B. & Drew, T. 1995. A kinematic and kinetic analysis of locomotion during voluntary gait modification in the cat. *Exp Brain Res.* 106, 39-56.

McFadyen, B.J., Swaine, B., Dumas, D. & Durand, A. 2003. Residual effects of a traumatic brain injury on locomotor capacity: a first study of spatiotemporal patterns during unobstructed and obstructed walking. *J Head Trauma Rehabil.* 18, 512-525.

McVea, D.A., Taylor, A.J. & Pearson, K.G. 2009. Long-lasting working memories of obstacles established by foreleg stepping in walking cats require area 5 of the posterior parietal cortex. *J Neurosci.* 29, 9396-9404.

Metz, G.A., Merkler, D., Dietz, V., Schwab, M.E. & Fouad, K. 2000. Efficient testing of motor function in spinal cord injured rats. *Brain Res.* 883, 165-177.

Metz, G.A. & Whishaw, I.Q. 2002. Cortical and subcortical lesions impair skilled walking in the ladder rung walking test: a new task to evaluate fore- and hindlimb stepping, placing, and co-ordination. *J Neurosci Methods.* 115, 169-179.

Metz, G.A. & Whishaw, I.Q. 2009. The ladder rung walking task: a scoring system and its practical application. *J Vis Exp.*

Michel, J., Benninger, D., Dietz, V. & van Hedel, H.J. 2009. Obstacle stepping in patients with Parkinson's disease. Complexity does influence performance. *J Neurol.* 256, 457-463.

Millerot-Serruot E., Chausset A., Mossiat C., Prigent-Tessier A., Bertrand N., Garnier P., Beley A., Marie C. 2007. Effect of early decrease in the lesion size on late brain tissue loss, synaptophysin expression and functionality after a focal brain lesion in rats. *Neurochem Int* 50:328-335.

Miklyaeva, E.I., Martens, D.J. & Whishaw, I.Q. 1995. Impairments and compensatory adjustments in spontaneous movement after unilateral dopamine depletion in rats. *Brain Res.* 681, 23-40.

Morton, S.M., Dordevic, G.S. & Bastian, A.J. 2004. Cerebellar damage produces context-dependent deficits in control of leg dynamics during obstacle avoidance. *Exp Brain Res.* 156, 149-163.

Pereira, J.E., Cabrita, A.M., Filipe, V.M., Bulas-Cruz, J., Couto, P.A., Melo-Pinto, P., Costa, L.M., Geuna, S., Mauricio, A.C. & Varejao, A.S. 2006. A comparison analysis of hindlimb kinematics during overground and treadmill locomotion in rats. *Behav Brain Res.* 172, 212-218.

Perrot, O., Laroche, D., Pozzo, T. & Marie, C. 2009. Quantitative assessment of stereotyped and challenged locomotion after lesion of the striatum: a 3D kinematic study in rats. *PLoS One.* 4, e7616.

Poulton N.P., Muir G.D. 2005. Treadmill training ameliorates dopamine loss but not behavioral deficits in hemi-parkinsonian rats. *Exp Neurol* 193:181-197.

Raman, A. 1969. Appositional growth rate in rat bones using the tetracycline labelling method. *Acta Orthop Scand.* 40, 193-197.

Said, C.M., Goldie, P.A., Culham, E., Sparrow, W.A., Patla, A.E. & Morris, M.E. 2005. Control of lead and trail limbs during obstacle crossing following stroke. *Phys Ther.* 85, 413-427.

Said, C.M., Goldie, P.A., Patla, A.E. & Sparrow, W.A. 2001. Effect of stroke on step characteristics of obstacle crossing. *Arch Phys Med Rehabil.* 82, 1712-1719.

Schindler, I., Rice, N.J., McIntosh, R.D., Rossetti, Y., Vighetto, A. & Milner, A.D. 2004. Automatic avoidance of obstacles is a dorsal stream function: evidence from optic ataxia. *Nat Neurosci.* 7, 779-784.

Thota, A.K., Watson, S.C., Knapp, E., Thompson, B. & Jung, R. 2005. Neuromechanical control of locomotion in the rat. *J Neurotrauma.* 22, 442-465.

Wang, Y., Bontempi, B., Hong, S.M., Mehta, K., Weinstein, P.R., Abrams, G.M. & Liu, J. 2008. A comprehensive analysis of gait impairment after experimental stroke and the therapeutic effect of environmental enrichment in rats. *J Cereb Blood Flow Metab.* 28, 1936-1950.

Whishaw, I.Q., Sacrey, L.A. & Gorny, B. 2009. Hind limb stepping over obstacles in the horse guided by place-object memory. *Behav Brain Res.* 198, 372-379.



**II) DEUXIEME ETUDE. Effet de la lésion du striatum sur la locomotion**

**Titre:** Quantitative assessment of stereotyped and challenged locomotion after lesion of the striatum: A 3D Kinematic study in rats

**Auteurs :** Perrot O, Laroche D, Pozzo T, Marie C

**Journal :** PLoS One. 4, e7616.

La position fonctionnelle du striatum dans le système ganglions de la base-cortex d'une part et dans le système ganglions de la base-tronc cérébral d'autre part, est en faveur de l'implication de cette région corticale dans la locomotion. En accord avec cette hypothèse, le rat soumis à une lésion du striatum est incapable de réaliser le test de la poutre même si le déficit régresse de façon spontanée dans le temps. Cependant, la fonction locomotrice n'a jamais été étudiée sur le plan quantitatif après une lésion du striatum chez le rat. Aussi, cette étude a pour objectif de quantifier chez le rat les conséquences d'une lésion du striatum sur la fonction locomotrice, la locomotion étant enregistrée lors d'une course sur tapis roulant muni ou pas d'obstacles.

### 1) Induction de la lésion

La lésion a été induite par l'intoxication du striatum par le malonate de sodium. Il s'agit d'une neurotoxine sélective. Aussi, le faisceau corticospinal qui transite, chez le rat, dans le striatum est épargné tant sur le plan structural que fonctionnel. Les conséquences fonctionnelles de la lésion du striatum sont le résultat de la destruction des efférences du striatum, et de la déconnection fonctionnelle de ses afférences en provenance du cortex cérébral. Il faut préciser ici que le modèle malonate ne mime en rien la maladie de parkinson dont le déficit fonctionnel est dû à la destruction sélective des afférences dopaminergiques du striatum en provenance de la substance noire. Il se rapprocherait plus de la maladie de Huntington qui se caractérise par la mort des neurones du striatum. Cependant, on note une différence majeure : la mort neuronale est progressive dans la maladie de Huntington permettant ainsi le développement en parallèle de compensations, alors qu'elle est aiguë dans le modèle malonate. Enfin, le modèle malonate conduit à des anomalies dans la réalisation de mouvements avec but, avec la patte contralatérale à la lésion comme par exemple la prise de nourriture placée derrière des barreaux ou sur les marches d'un escalier (Miklyeva et coll, 1994, 1995 ; Whishaw et coll, 1997).

### 2) Protocole expérimental

Chez un même rat, les paramètres locomoteurs ont été mesurés lors d'une course sur tapis roulant (25 cm/s) d'abord sans obstacle puis en présence de deux obstacles fixés sur le tapis. Deux séries de rats ont été étudiées. Dans une première série de rats, les paramètres ont été analysés 4, 7, 14, 21, 28, 42, 49 et 60 jours après injection intrastriatale de malonate chez sept rats. Les résultats ont été comparés à la moyenne des données cinématiques collectées 19, 12,

5 et 1 jours avant induction de la lésion. A l'issue de l'expérience, les dommages histologiques du cerveau ont été quantifiés. Dans une seconde série de rats, les paramètres cinématiques ont été mesurés 1, 2, 3 jours avant et 1, 2 et 4 jours après injection intrastriatale de sérum physiologique chez quatre rats. Les paramètres mesurés lors de la course sans obstacle sont : la durée du cycle locomoteur ainsi que celle de sa phase d'appui et celle de sa phase d'oscillation, la longueur du cycle locomoteur, le rapport de la symétrie temporelle de marche, la coordination entre les pattes, les valeurs maximale et minimale des angles articulaires pendant la phase d'appui et pendant la phase d'oscillation, le placement des pattes dans le plan frontal, l'orientation de la tête par rapport au tronc et l'inclinaison latérale du corps. Concernant la course avec obstacle, nous avons également mesuré les distances pré et post-obstacle de chaque patte, le temps mis par chacune des pattes pour franchir l'obstacle et la hauteur maximale à laquelle s'élève chacune des pattes. L'ensemble des paramètres a été calculé à partir de sept rats.

### 3) Principaux résultats

L'injection de malonate conduit à une destruction complète du striatum dorsal, d'une atrophie d'environ 16% de l'hémisphère lésé et d'une importante ventriculomégalie chez tous les rats. Elle est également associée à une perte réversible du poids corporel qui ne semble pas due à une réduction de la prise alimentaire car les animaux ne présentent aucune difficulté à ronger les croquettes et à boire aux biberons placés dans le couvercle de leur cage. Le lendemain de la lésion, aucun des animaux lésés n'est capable de suivre le tapis roulant. En revanche, la course sur tapis est possible chez six animaux dès le quatrième jour et chez les sept animaux au septième jour qui suit l'administration de malonate. En revanche, la course sur tapis roulant est possible dès le lendemain de l'injection de sérum physiologique, et n'a eu aucun impact sur les paramètres cinématiques. Dans ces conditions, les effets de l'injection du malonate sont à relier à la lésion du striatum.

La lésion du striatum affecte de façon relativement modeste mais durable la locomotion stéréotypée. Les anomalies de la cinématique concernent les pattes contralatérales à la lésion :

- pour la patte antérieure, augmentation de la durée de la phase d'appui associée à une flexion exagérée de l'épaule mais à une hyperextension du coude pendant la phase d'oscillation,
- pour la patte postérieure, une flexion exagérée du genou pendant la phase d'appui et une hypermétrie.

Ces anomalies sont associées à une déviation de la tête en direction de la lésion et à un basculement latéral du corps du côté opposé à la lésion.

La lésion du striatum est incompatible avec le franchissement correct des obstacles. En effet, les rats lésés prennent très souvent appui, pendant un temps plus ou moins long, sur l'obstacle avec les pattes controlatérales à la lésion à la condition qu'elles soient les premières à franchir l'obstacle (qu'elles conduisent la manœuvre). Le déficit n'est pas dû à une élévation inappropriée de la patte mais à son mauvais positionnement devant l'obstacle. En effet, la patte est trop éloignée de l'obstacle lorsqu'elle initie son mouvement de franchissement. Cette anomalie ne montre aucune régression dans le temps.

# Quantitative Assessment of Stereotyped and Challenged Locomotion after Lesion of the Striatum: A 3D Kinematic Study in Rats

Olivier Perrot, Davy Laroche, Thierry Pozzo, Christine Marie\*

INSERM U887 Motricité-Plasticité, Université de Bourgogne, Dijon, France

## Abstract

**Background:** Although the striatum is in position to regulate motor function, the role of the structure in locomotor behaviour is poorly understood. Therefore, a detailed analysis of locomotion- and obstacle avoidance-related parameters was performed after unilateral lesion of the striatum in rats.

**Methods and Results:** Using the three dimensional motion capture technology, kinematics of walking and clearing obstacles, head and body orientation were analyzed before and up to 60 days after the lesion. Recordings were performed in treadmill running rats with or without obstacles attached to the treadmill belt. The lesion, which was induced by the direct injection of the mitochondrial toxin malonate into the left caudoputamen resulted in the complete destruction of the dorsal striatum. During the first three days following the lesion, rats were unable to run on the treadmill. Thereafter, rats showed normal looking locomotion, yet the contralesional limbs exhibited changes in length and timing parameters, and were overflexed. Moreover, the head of lesioned rats was orientated towards the side of the lesion, and their postural vertical shifted towards the contralesional side. During obstructed running, the contralesional limbs when they were leading the crossing manoeuvre stepped on the obstacle rather than to overcome obstacle without touching it, yet more frequently with the forelimb than the hindlimb. Unsuccessful crossings appeared to be due to a paw placement farther away from the front of the obstacles, and not to an inappropriate limb elevation. Importantly, deficit in locomotor behaviour did not regress over the time.

**Conclusion:** Our results argue that the striatum of one hemisphere controls kinematics of contralateral limbs during stereotyped locomotion and plays a prominent role in the selection of the right motor program so that these limbs successfully cross over obstacle.

**Citation:** Perrot O, Laroche D, Pozzo T, Marie C (2009) Quantitative Assessment of Stereotyped and Challenged Locomotion after Lesion of the Striatum: A 3D Kinematic Study in Rats. PLoS ONE 4(10): e7616. doi:10.1371/journal.pone.0007616

**Editor:** Mark R. Cookson, National Institutes of Health, United States of America

**Received:** July 24, 2009; **Accepted:** October 5, 2009; **Published:** October 27, 2009

**Copyright:** © 2009 Perrot et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Funding:** This study was supported by grants from the Conseil Régional de Bourgogne. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

**Competing Interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

\* E-mail: chmarie@u-bourgogne.fr

## Introduction

The study of quadrupeds has furnished most of our understanding of mammalian locomotion [1,2]. Thus, locomotion is controlled by the interaction of three components: (1) central pattern generators (CPGs), networks of spinal interneurons which provide the basic locomotor pattern, (2) proprioceptive and exteroceptive feedbacks, and (3) descending supraspinal control from the brain cortex including the corticospinal pathway and from the brain stem including the rubro-, vestibulo- and tectospinal pathways. The cortico- and rubro-spinal tracts are responsive for fine control and voluntary modification of locomotion and the other tracts serve to activate CPGs, which are silent at rest, and to adjust the posture. However, how these components are implemented and how they interplay to generate/regenerate locomotion in normal/pathological conditions is not well understood.

The striatum is the main input layer of the basal ganglia. It is organized in three zones; the sensorimotor, the associative and the

limbic zones, which receives afferents from the sensori-motor, associative, and the limbic cortical areas, respectively [3]. The commonest consequence of lesion of the striatum is dystonia and the syndrome of abulia (apathy with loss of initiative and of spontaneous thought and emotional response) in human depending on the site of the lesion within the striatum [4]. However, electrophysiological studies in primates and imaging studies in humans are in keeping with the idea that the striatum supports hand/fingers movement selection, preparation and execution [5–9]. In contrast, the role of the striatum in the regulation of locomotion and the voluntary adaptation of locomotion to environment, which requires a precise and fine supraspinal control of the basic locomotor pattern, is not well understood. Activation of the striatum during treadmill locomotion in rats [10] and during the imagination of locomotor tasks in human [11] has been reported. However, most of what is known of the role of the striatum in the control of locomotion has been deduced from the disturbances of gait accompanying Parkinson's disease (PD) including slow gait speed, little steps, narrowing of base support



and lack of swing arm, but normal performance in obstacle avoidance tasks [12]. Assuming that PD is caused by striatal dopamine depletion consecutive to degeneration of dopaminergic neurons originating from the substantia nigra (SN) pars compacta, locomotor deficit in PD only reveals how important is the striatal dopaminergic input in the control of the basic locomotor pattern. Additionally, the functional deficit observed in PD patients is the net result of two opposite phenomena, i.e. the severity of the striatal dopamine depletion and the intensity of the different compensatory mechanisms, which are sequentially activated in parallel with the progressive striatal dopamine depletion [13]. A detailed and quantitative analysis of stereotyped and challenged locomotion after acute lesion of the striatum in rat may help to increase our understanding on the role of the striatum in locomotor behaviour. It could also help to interpret the locomotor deficit and recovery observed in stroke patients in which the striatum alone or in combination with cortical areas is a common site of acute neuronal death.

The aim of the present study was to better understand the role of the striatum in the two components of the locomotion; the basic locomotor pattern which is provided by CPGs, and the possibility to deal with environmental constraints by the voluntary modification of the basic locomotor pattern, which requires supraspinal control. For this purpose, locomotion was studied before and up to two months after unilateral lesion of the striatum during treadmill running with or without obstacles attached to the treadmill belt in the rat. The brain lesion was induced by the direct injection of the mitochondrial toxin malonate into the dorsal striatum (caudoputamen) which includes the sensorimotor and the associative zones of the striatum in rat. Locomotion was quantitatively and objectively assessed from the 3-D motion capture technology. Recordings were also performed in sham rats in order to assess the impact of the surgical procedure on kinematics.

## Results

In a first experiment (10 rats with body weight about 450 g), 8 rats were selected at the end of the selection period, 1 rat died during anaesthesia, and the remaining rats were treated with malonate. In lesioned rats, pre-lesion kinematic recordings were performed 19, 12, 5 and 1 days before malonate administration. During this period, the body weight (g) increased from  $467 \pm 16$  to  $478 \pm 18$ . Pre-lesion kinematic parameters were not different. Therefore, the values were pooled and compared to values collected 4, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, or 60 days after malonate administration ( $n = 7$  at all time points except at day 4 lesion where  $n = 6$ ). During the post-lesion period, the body weight (g) increased from  $431 \pm 14$  to  $499 \pm 15$ . The weight loss was not due to some difficulties to reach food.

In a second experiment (6 rats with a body weight of 370 g), 4 rats were selected at the end of the selection period and treated with saline instead of malonate (sham rats). Among these rats, one rat was excluded from the kinematic analysis because of frequent removals of the forelimb distal markers with teeth. Kinematic recordings were performed 3, 2 and 1 days before saline administration. As values were not different, they were pooled and compared to values collected 1, 2 and 4 days after saline administration. In sham rats, the body weight remained close to 370 g.

### 1) Histological study

After malonate administration, all rats exhibited a complete lesion of the dorsal striatum which was associated with a severe atrophy of the lesioned hemisphere. The mean lesion volume was

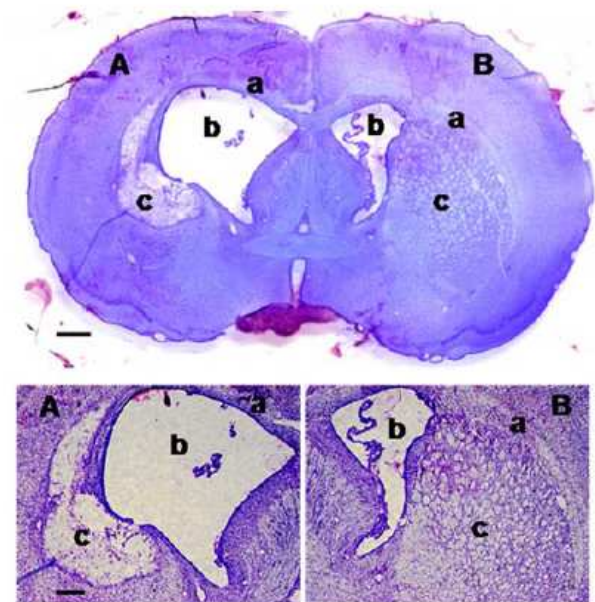
$18.9 \pm 5.4 \text{ mm}^3$  and tissue loss in the lesioned hemisphere reached  $16.6 \pm 4.0\%$  (relative to the unlesioned hemisphere). These data are in accordance with previous data of our laboratory [14]. Fig. 1 shows a representative slice of brain collected at the striatum level. Note the dilation of the ventricle on the lesion side as well as the multiple cavities within the lesioned striatum.

### 2) Overview

Rats were all unable to run on the treadmill during the first three days following malonate administration. At day 4 post-lesion, running was possible in 6 rats, the remaining rat being capable of running from day 7 post-lesion. The running incapacity was apparently due to the inability of rats to adapt limb motion to the treadmill belt movement. Once capable of running, lesioned rats badly performed the obstacle clearance task with their contralesional limbs when these limbs were leading the obstacle manoeuvre. In contrast, sham rats were capable of treadmill running as soon as the first day following saline treatment, and saline did not impair obstacle crossing. Accordingly, changes in locomotor behaviour observed in malonate-treated rats were not due to the surgical procedure. Moreover, deficit after malonate cannot involve changes in body weight. First, kinematic changes were restricted to limbs contralateral to the lesion. If the impairments had been due to changes in body weight, kinematics would have been impaired bilaterally. In addition, changes in kinematics did not parallel with changes in body weight in lesioned rats.

### 3) Effect of the striatal lesion on stereotyped locomotion

Whereas the sham procedure affected none of the measured parameters (data not shown), malonate administration impaired

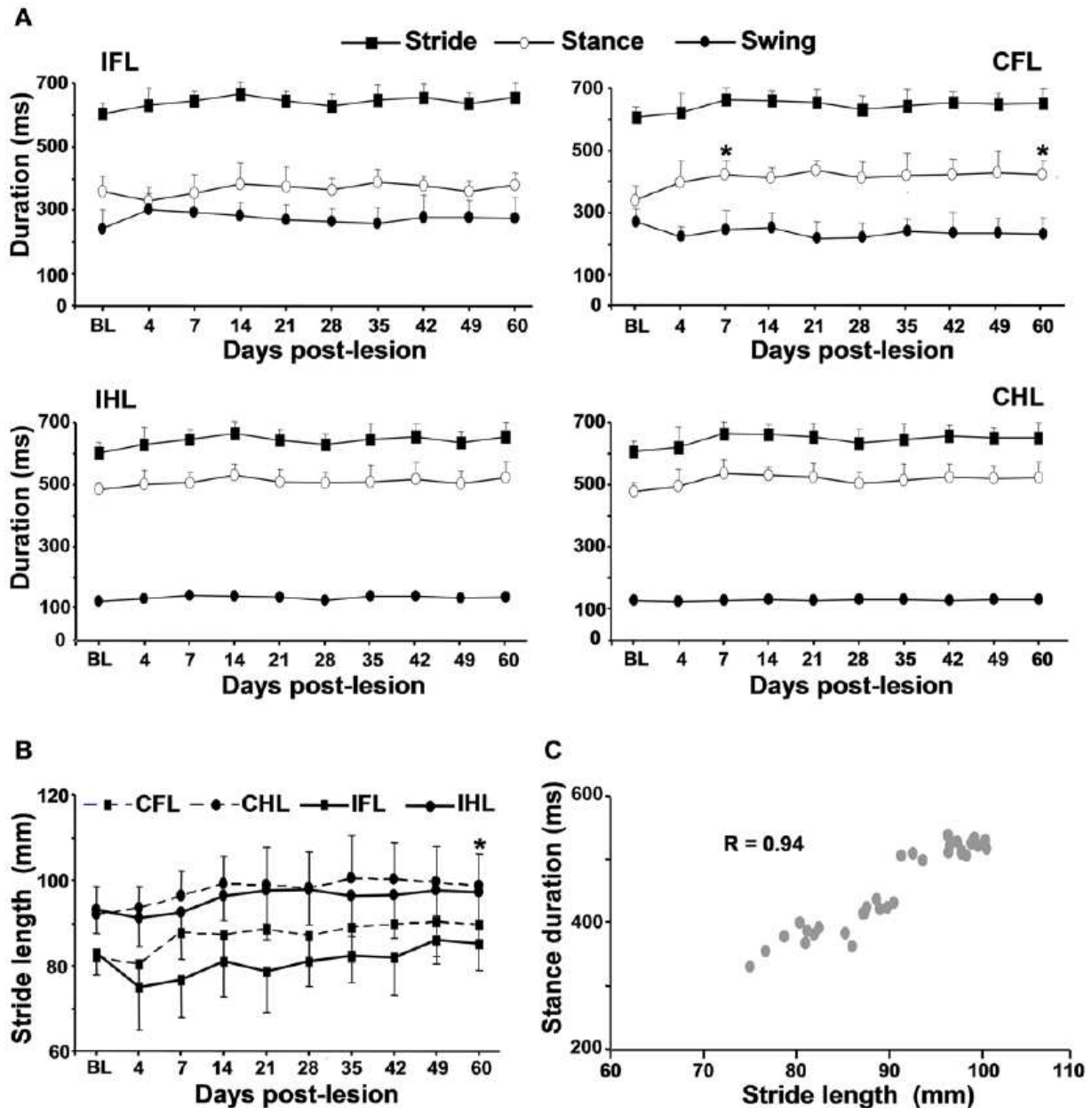


**Figure 1. Representative photographs of a brain slice passing through the lesioned striatum.** Note the preservation of the corpus callosum (a), the dilation of the lateral ventricle (b) and the cavities within the striatum (c) of the lesioned side (A) as compared to the unlesioned site (B) Staining: cresyl violet; scale bars for the top and the bottom photographs are 350 and 500  $\mu\text{m}$ , respectively. doi:10.1371/journal.pone.0007616.g001

many locomotion-related parameters either transiently or persistently as described in the following paragraphs.

**a) Timing and length parameters.** After lesion, timing parameters were affected only for the contralesional forelimb (CFL) (Fig. 2A). That limb exhibited an early and persistent increase in the stance phase duration. However, the stride duration remained close to pre-lesion values. The lesion also led to a persistent decrease in temporal symmetry ratio (TSR) between the forelimbs ( $1.09 \pm 0.81$  and  $0.93 \pm 0.37$  at day 7 and 60 post-

lesion vs  $1.66 \pm 0.89$  before lesion,  $P < 0.025$ ), whereas TSR between the hindlimbs was not modified ( $1.01 \pm 0.31$  and  $1.02 \pm 0.22$  at day 7 and 60 post-lesion vs  $1.09 \pm 0.10$  before lesion, NS). Length parameters were also significantly affected by the lesion (Fig. 2B). After lesion, stride length of the contralesional hindlimb (CHL) progressively increased over the time ( $P < 0.025$  at day 60 post-lesion). Nevertheless, the stride length remained in proportion with the stance phase duration after lesion (Fig. 2C). Finally, the homologous, homolateral and diagonal coupling



**Figure 2. Effect of the lesion on timing and length parameters.** A) duration of the stride, the stance and swing phases, B) stride length, C) relationship between the stride length and the stance phase duration after lesion. The parameters were measured before lesion (BL) and up to 60 days after lesion from the ipsilesional and contralesional forelimbs (IFL and CFL) and hindlimbs (IHL and CHL). The stride length was plotted against the corresponding stance phase duration. Values are means  $\pm$  SD, \* different from BL values ( $P < 0.025$ ). doi:10.1371/journal.pone.0007616.g002

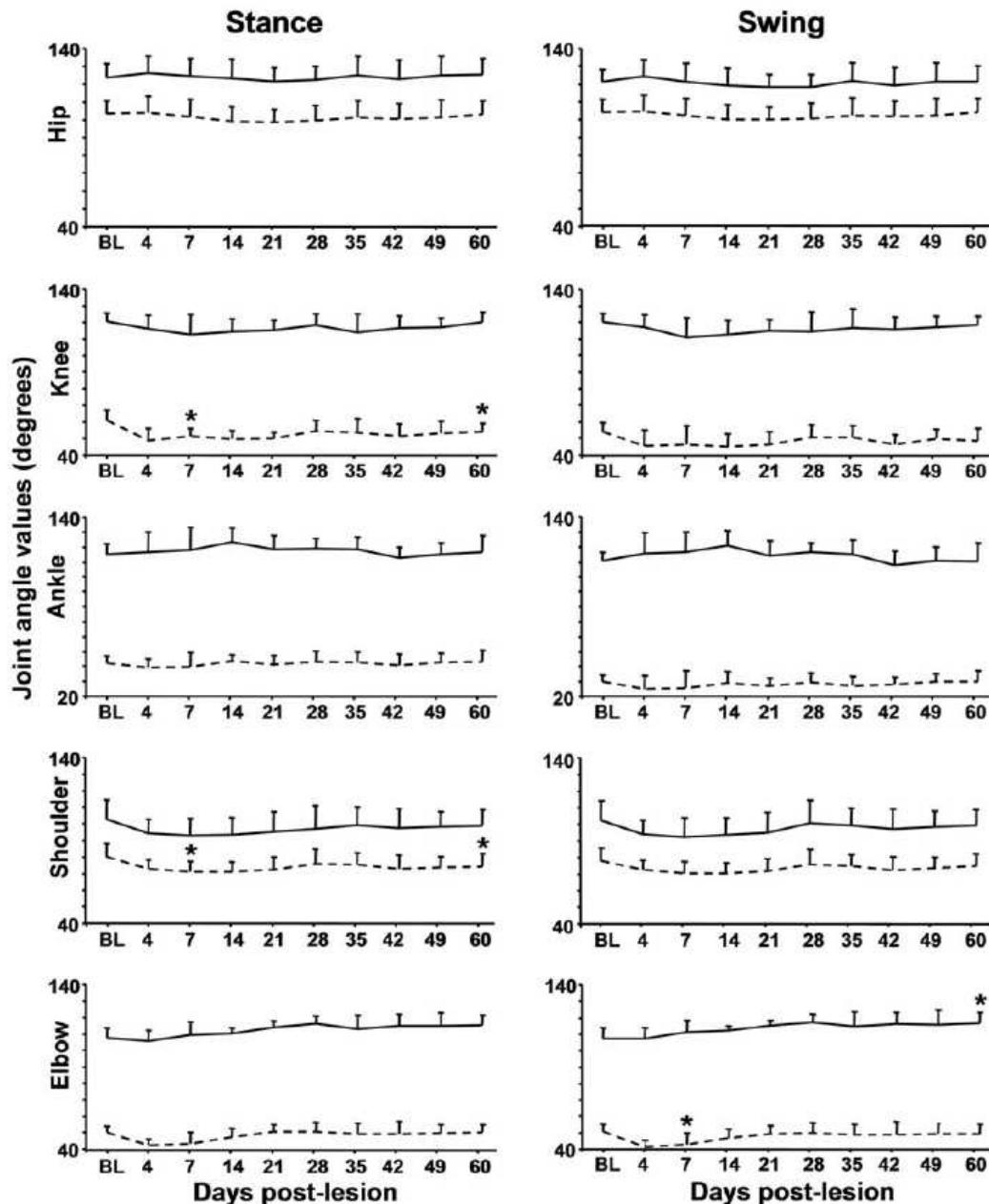


between limbs before lesion were ~50%, 30% and 80%, respectively, and were not affected by the lesion, regardless of the post-lesion time (data not shown).

**b) Joint angle values.** The mean distance between the hip and the knee markers as well as between the knee and the ankle markers was not significantly different between the two hindlimbs and not affected by the lesion. In addition, the distance was not different among rats whatever the time point of the measurement. Therefore, comparisons between pre- and post-lesion values of

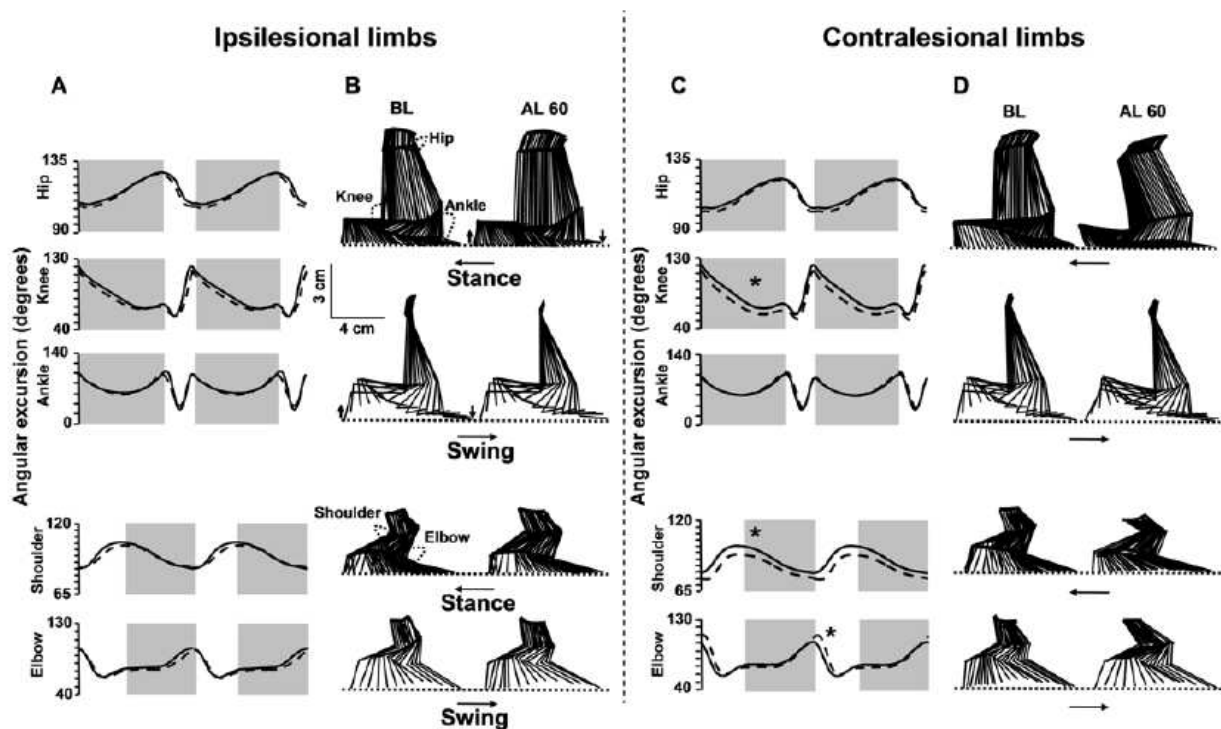
knee angle values did well inform on the impact of the lesion on joint kinematics.

The impact of the lesion on joint angle values is shown in Fig. 3 and 4. Unlike ipsilesional limbs whose joint angle values were not affected by the lesion, the contralesional limbs exhibited significant changes in joint angle values (Fig. 3). After lesion, the knee and shoulder angles were decreased early and persistently during the stance phase, i.e. the joints were over-flexed. In contrast, a transient over-flexion followed by a delayed over-extension of the



**Figure 3. Effect of the lesion on joint angle values of the contralesional limbs.** The solid and dashed lines correspond to the maximal and minimal values, respectively. The parameters were measured during the stance and swing phases before lesion (BL) and up to 60 days after lesion. Values are means  $\pm$  SD, \* different from BL values ( $P < 0.025$ ).  
doi:10.1371/journal.pone.0007616.g003





**Figure 4. Effect of the lesion on mean values of the joint angle positions.** A and C) angular excursion, the solid and dashed lines correspond to values measured before and at day 60 after lesion, respectively. The phases of the locomotor cycle were normalized (the stance phase in grey), \* difference between pre- and post-lesion values ( $P < 0.025$ ), B and D) corresponding stick figures of one complete step cycle (stance and swing). Horizontal arrows indicate the direction of the movement, downward arrows foot contact and upward arrows foot lift.  
doi:10.1371/journal.pone.0007616.g004

elbow was observed during the swing phase. The mean pre- and post-lesion (at day 60) angular excursion (over 2 consecutive cycles) as well as sticks diagrams of a representative rat is shown in Fig. 4. Clearly, the pre-lesion and post-lesion angular traces are superimposed for the ipsilesional but not the contralesional limbs. For these limbs, the post-lesion trace is below the pre-lesion trace for the knee and the shoulder and above the pre-lesion trace for the elbow.

**c) Paw placement in the frontal plane.** The results are summarized in Fig. 5A and 5B. The lesion resulted in a more internal placement of the contralesional hindlimb. Thus, the distance (mm) between the hip and MTP markers in the frontal plane at toe off was  $-10.5 \pm 3$  before lesion and decreased to  $-6.4 \pm 3.5$  and  $-7.4 \pm 3.2$  at days 4 and 7 post-lesion, respectively. The distance progressively recovered pre-lesion values over the time. The paw placement of other limbs was not affected by the lesion. These data are consistent with a reversible decrease in the hindlimb base of support in the lesioned rats.

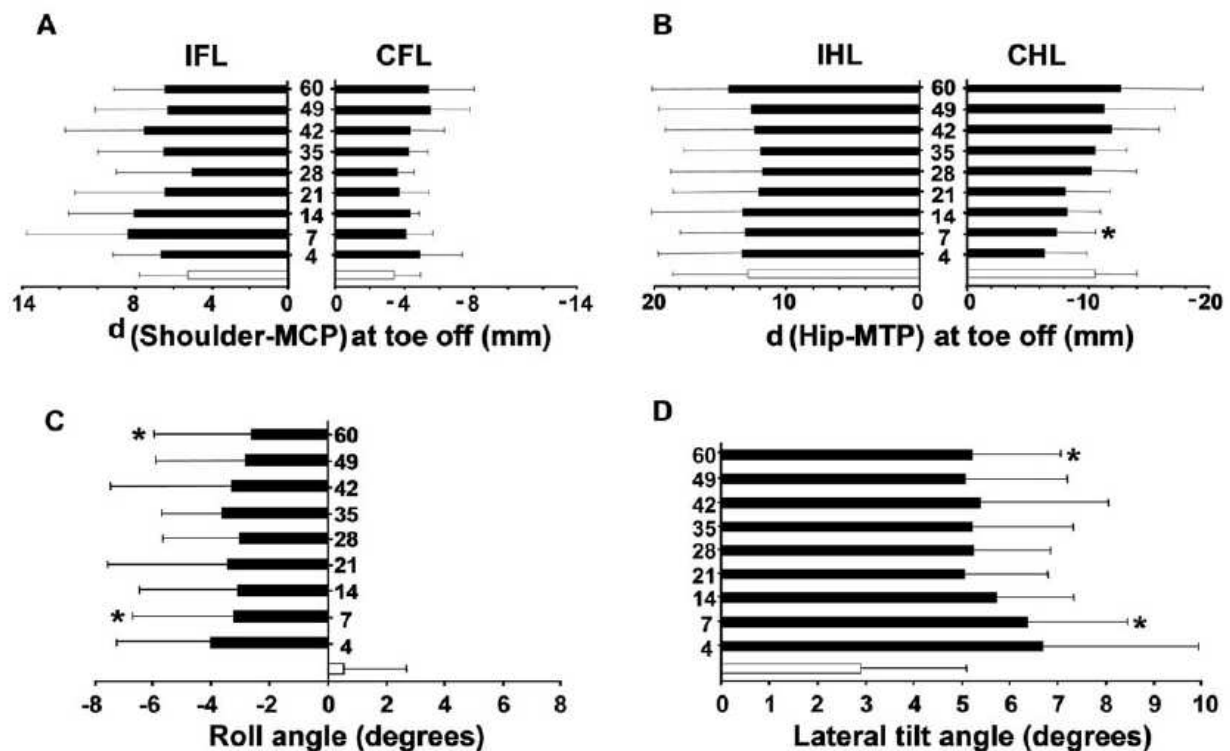
**d) Head and body orientation.** The results are summarized in Fig. 5C and 5D. Before lesion, the mean horizontal head-on-trunk position was close to the mid-sagittal body axis as evidenced by the value of the roll angle ( $0.5 \pm 2.2^\circ$ ). A substantial and long-lasting deviation toward the ipsilesional side was observed in lesioned rats. Thus, as shown in Fig. 5C, the roll angle was  $-3.2 \pm 3.5^\circ$  and  $-2.6 \pm 3.0^\circ$  at days 7 and 60 post-lesion, respectively. In addition, the lesion produced a persistent shift of the body towards the side opposite to the lesion (Fig. 5D) as evidenced by the increased lateral shift angle from day 7 ( $6.4 \pm 2.1^\circ$ ) to day 60 post-lesion ( $5.2 \pm 8^\circ$ ) as compared to pre-

lesion values ( $2.9 \pm 2.1^\circ$ ). Such a shift of the body is consistent with the increased flexion of the contralesional limbs (Fig. 3).

#### 4) Effect of the striatal lesion on obstacle avoidance

Before lesion, no preference was shown for leading either with the right or with the left forelimb (data not shown) and rats crossed over the obstacle without touching it. When rats stepped over obstacles, they used a strategy in which the first hindlimb to step over the obstacle was always ipsilateral to the leading forelimb as illustrated in Fig. 6A. In the example, the right forelimb (limb 1) was the first limb to step over the obstacle (leading forelimb), followed by the left forelimb (trailed forelimb = limb 2). Then, the rat stepped over the obstacle with the right hindlimb (leading hindlimb = limb 3) and finally with the left hindlimb (trailed hindlimb = limb 4). The pre-obstacle distances (cm) were  $5.4 \pm 1.2$  and  $2.4 \pm 0.8$  for the leading and traileed forelimbs, respectively. The corresponding values for the hindlimbs were  $9.7 \pm 1.4$  and  $3.7 \pm 0.8$ . The maximal height (mm) of the more distal marker during the crossing swing was  $36.9 \pm 1.4$  for limb 1,  $30.6 \pm 1.7$  for limb 2,  $45.7 \pm 2.8$  for limb 3 and  $50.4 \pm 2.7$  for limb 4. For both forelimbs, maximal elevation was reached when the tip of limbs was just above the obstacle. On the contrary, maximal elevation of limbs 3 and 4 was reached before and after the tip of the paw had crossed over the obstacle, respectively. Time to avoid obstacle was  $\sim 250$  ms for all limbs. Fig. 6D illustrates limbs trajectory before lesion in a representative rat.

After lesion, no preference for leading was observed either with the contralesional or ipsilesional forelimb (data not shown). However, in the situation in which the contralesional forelimb



**Figure 5. Effect of the lesion on paw placement in the frontal plane and head and body orientation.** A) paw placement of forelimbs, B) paw placement of the hindlimbs, C) horizontal head-on-trunk position, D) the lateral shift of the body. Positive values indicate deviation towards the contralateral side and negative values towards the ipsilateral side. IFL, IHL = ipsilateral forelimb, hindlimb; CFL, CHL = contralateral forelimb, hindlimb. Empty bars represent pre-lesion values and black bars post-lesion values (from day 4 to 60 post-lesion). Values are means  $\pm$  SD, \* different from pre-lesion values ( $P < 0.025$ ).  
doi:10.1371/journal.pone.0007616.g005

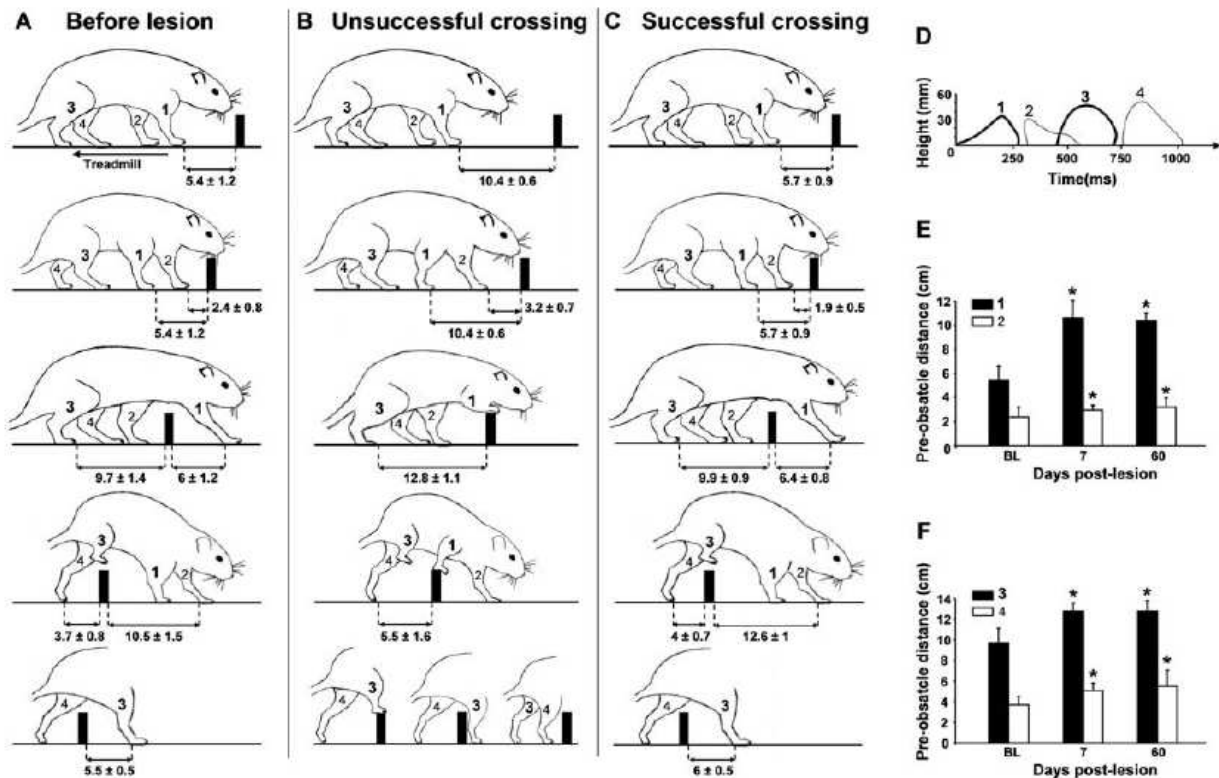
was leading the crossing manoeuvre, obstacle avoidance was impaired. In contrast, all the limbs crossed over obstacle normally when the ipsilateral forelimb was the first to encounter the obstacle. The situation in which the contralateral forelimb was the leading limb (limb 1) is illustrated in Fig. 6B and 6C. In this situation, limb 1 either stepped on the obstacle and remained for varying durations on the obstacle (unsuccessful crossings, Fig. 6B) or crossed over the obstacle normally (successful crossing, Fig. 6C). When limb 1 badly performed obstacle crossing, limb 2 (forelimb ipsilateral to the lesion) and limb 4 (hindlimb ipsilateral to the lesion) successfully crossed over the obstacle. On the contrary, limb 3 (the leading contralateral hindlimb) either stepped on the obstacle, successfully crossed over the obstacle, or took an extra step before passing over the obstacle without touching it (see bottom panel of Fig. 6B). In steps in which the leading contralateral forelimb normally performed obstacle crossing, the other limbs also crossed over obstacle normally (Fig. 6C). Deficit in obstacle avoidance did not regress over the time. Indeed, the percentage of unsuccessful crossings with the leading contralateral forelimb was  $63.6 \pm 12.2\%$  at day 7 post-lesion and  $67.3 \pm 13.2\%$  at day 60 post-lesion. The corresponding values for the leading contralateral hindlimb were  $28.8 \pm 11.1\%$  and  $24.7 \pm 9.5\%$ .

Unsuccessful crossings with the contralateral forelimb were associated with a placement of the limb farther away from the front of the obstacle and not with an inappropriate limb elevation. Indeed, maximal paw elevation of the leading contralateral

forelimb was not different from pre-lesion values (not shown). In contrast, pre-obstacle distance of this limb was  $10.4 \pm 0.6$  cm when it stepped on the obstacle (limb 1 in Fig. 6B, above panel) whereas distance ( $5.7 \pm 0.9$  cm) was not different from pre-lesion value when the limb overcame obstacle normally (limb 1 in Fig. 6C, above panel). The bad placement of limb 1 was accompanied with a bad placement of other limbs which were also placed farther away from the front of the obstacle. However, the increase in pre-obstacle distance was more important for limb 1 ( $\sim +200\%$  vs  $\sim +30\%$  for other limbs) as shown in Fig. 6E and 6F. Finally, in steps in which the contralateral forelimb was leading the crossing manoeuvre with success (Fig. 6C) as in steps in which the ipsilateral forelimb was leading (not shown), the trailed forelimb was placed farther behind the obstacle as compared to limb position before lesion, at least within the acute post-lesion period. Thus, post-obstacle distance of limb 2 when it was the ipsilateral forelimb was  $12.5 \pm 1$  cm at day 7 ( $P < 0.025$ ) and  $12.6 \pm 1$  cm at day 60 (NS,  $P = 0.027$ ) vs  $10.5 \pm 1.5$  cm before lesion. On the contrary, maximal elevation of limbs 3 and 4 was reached before and after the tip of the paw had crossed over the obstacle, respectively.

## Discussion

The 3-D motion capture technology primarily dedicated to human is a little-used method in rodents. Available studies focussed on kinematics in normal conditions, after spinal lesion or hindlimb [15–18]. Using this high-performing technology, our



**Figure 6. Obstacle avoidance-related parameters.** A) before lesion, rats never touch the obstacle and used a strategy in which the first (leading) hindlimb (limb 3) to step over obstacle is always ipsilateral to the leading forelimb (limb 1), B) when the contralesional leading forelimb (limb 1) is placed farther away from the front of the obstacle, it steps on the obstacle (unsuccessful crossing). The ipsilesional trailed forelimb (limb 2) crosses over obstacle normally whereas the contralesional leading hindlimb (limb 3) either steps on the obstacle or, crosses over obstacle normally with or without an extrastep before crossing (bottom panel), C) when pre-obstacle distance of the contralesional leading forelimb is not different from pre-lesion values, this limb performs obstacle crossing normally (successful crossing). In this situation, the trailed forelimb (limb 2) is placed further behind the obstacle. D) Pre-lesion limb trajectory for a representative rat, E and F) pre-obstacle distances of the forelimbs (E) and the hindlimbs (F) in situation in which the contralesional forelimb badly performs obstacle crossing. \* different from BL (before lesion) values ( $P < 0.025$ ). Values of pre- and post-obstacle distances (cm) are mean  $\pm$  SD, in B and C, values correspond to those measured at day 60 post-lesion. doi:10.1371/journal.pone.0007616.g006

study reveals persistent changes in the basic locomotor pattern and obstacle avoidance performance after lesion of the striatum in rat.

Within the first week following malonate administration, lesioned rats did initiate treadmill locomotion but were unable to adapt limbs motion with the speed of the treadmill belt, thus resulting in treadmill running incapacity. This suggests that the striatal lesion has compromised the interaction of the three components involved in the neural control of locomotion including CPGs, sensory feedback, and descending supraspinal control. Despite the lack of direct link between CPGs and the striatum, CPGs activity may be indirectly dependent on striatal output. The striatum contains GABAergic neurons that inhibit the SN pars reticulata [19], a brain stem area recently demonstrated to exert tonic inhibition of the mesencephalic locomotor region (MLR) [20], which contains the reticulospinal neurons projecting on CPGs. Therefore, the striatal lesion may produce an abnormal MLR inhibition, thus resulting in a delayed production of locomotion [21] as well as troubles of the rhythmic alternations of limbs [20]. Besides, regarding the sensory processing ability of striatal neurons [22], changes in the sensory control of locomotion may contribute to the observed deficit. Consistent with this mechanism, the motor responses to tactile and proprioceptive stimuli on the contralateral limbs are transiently lost after a striatal lesion [14,23].

Whatever the mechanisms involved in the treadmill running incapacity after a striatal lesion, all rats regained their ability to regularly run on the treadmill from day 7 post-lesion, suggesting that the intact neuronal circuitry can rapidly compensate for the lesioned striatum when the striatum is engaged in the production of the basic locomotor pattern. However, the neuroplasticity of locomotor control mechanisms did not allow a full recovery of the initial locomotor pattern as evidenced by the persistent increase in the stance phase duration and in the stride length of the contralesional forelimb and hindlimb, respectively. These data argue that the integrity of the striatum is required for the structure and the timing of the basic locomotor pattern as suggested by a recent study that specifically examined the relationship between lesion location and gait asymmetry in ambulatory chronic stroke patients [24]. The authors report that lesion to putamen is evident 60% to 80% more frequently in the asymmetrical patients compared to the symmetrical patients. Further studies are needed to elucidate how the striatum contributes to the basic locomotor pattern knowing that hypermetria of the contralesional hindlimb is also observed after unilateral pyramidal tract section [25] but not after lesion of the somatosensory cortex [26] in the rat.

During stereotyped locomotion, lesioned rats showed abnormal posture as evidenced by the persistent lateral tilting of their body

towards the side opposite to the lesion as well as the overflexion of their contralesional limbs. These data are in agreement with the emergent theory that the output nuclei of the basal ganglia (the SN pars reticulata, the globus pallidus, the ventral pallidum) keep the brainstem areas that control posture under tonic inhibition [27–29]. However, pathological asymmetry of postural muscle tone regulation is not necessarily the cause of the shift of the body. The shift may be alternatively an attempt to align the body with a vertical reference which should be erroneously perceived to be tilted from true earth vertical in lesioned rats. Evidence that the striatum filters information that originates within the parietal cortex, a structure that has a critical role in the perception of the verticality [30] supports this hypothesis. Interestingly, the shift of the body is towards the contralesional side in stroke patients with a striatal lesion [31], but towards the ipsilesional side in hemiparkinsonian rats [32]. Accordingly, lesions of the striatum and striatal dopamine depletion both produce abnormal posture, yet through different mechanisms.

Obstacle avoidance tasks provide an adequate paradigm to explore the possibility to deal with environmental constraints by the voluntary modification of the basic locomotor pattern. To date, information on obstacle avoidance in human and animals (cats only) with a central lesion are scarce. In addition, available studies focussed on the role of the cerebral cortex and the cerebellum. It was demonstrated that the cerebellum and the motor cortex both contribute to adequate paw placement and limb trajectory [33,34] and that the posterior parietal cortex is rather involved in planning gait modification [35]. The new finding of the present study is that the integrity of the striatum is required to successful obstacle avoidance (as a second subtask added to locomotion), and that intact neuronal circuitry cannot spontaneously compensate for the lesioned striatum when the structure is engaged in challenged locomotion. Our results show that limbs contralateral to the striatal lesion badly perform obstacle crossing from day 4 to 60 post-lesion in the situation in which the contralesional limb is the first to encounter obstacle. The limbs step on the obstacle and remain for varying durations on the obstacle rather than to overcome obstacle without touching it. An asymmetrical deficit in limbs force production appears to be not involved in deficit because contralesional limbs normally crossed over obstacle when they were the second to encounter the obstacle. Alternatively, impaired performance may be related to persistent hemispacial neglect. Actually, the head of lesioned rats was orientated towards the side of the lesion (see also [36] similarly to that observed in hemiparkinsonian animals [37–39] and stroke patients (“Prévost’s” sign). This abnormal head orientation leads to the neglect of information on the contralesional side [40,41]. Because visual input is critical to successful obstacle avoidance with the leading limbs [42], the hemispacial neglect of the right side may therefore explain why only the right limbs stepped on the obstacle after lesion of the left striatum. However, the hindlimb that is moved in the absence of direct visual input also badly performs obstacle crossing, suggesting that mechanisms other than hemispacial neglect also contribute to the impaired performance. Of note, impaired performance in obstacle avoidance is observed even in stroke patients without hemispacial neglect [43]. With an effort to identify the causes of unsuccessful crossings, we have measured the position of the leading forelimb with respect to the obstacle as well as its trajectory as measured by the maximal elevation of limbs during the crossing swing. The results clearly show that unsuccessful crossing is associated with increased pre-obstacle distance and not with inappropriate limb trajectory.

These data suggest an important role of the striatum in the planning rather than execution of the voluntary modification of

locomotion. The striatum is thought to select which motor programs should be called into action through multiple cortico-striato-pallido-thalamo-cortical loops. However, the hypothesis that striatal lesion-associated impaired obstacle avoidance solely reflects disconnection between the striatum and the cortical areas is unlikely. Indeed, in cats with lesions of the motor or the parietal cortex, the contralesional limbs badly performed obstacle crossing when they are the leading or the trailed limbs [44–46], and hemiplegic stroke patients with unilateral cortical lesion exhibit impaired ability to avoid obstacle regardless of whether the avoidance manoeuvre is led by the affected or unaffected leg [47]. Moreover, as patients with PD perform as well as aged matched controls [12] in obstacle avoidance tasks, the disconnection between the striatum and the SN pars compacta cannot either be involved in unsuccessful obstacle crossing observed after lesion of the striatum.

Malonate is considered as a selective neurotoxin. Nevertheless, since the corticospinal fibres course through the striatum in rats, it is relevant to ask whether some aspects of the observed deficits are attributable to impaired structural or functional integrity of these fibres. Against the existence of structural damage is the normal appearance of the fibres after lesion induced by malonate or the other neurotoxin quinolinic acid [48,49]. However, this does not mean that functionality of the fibres is not impaired. Functionality of the corticospinal tract has never been investigated after malonate lesions but is spared after quinolinic lesions [50]. Regarding the similarities between malonate and quinolinic lesions with respect to histological characterization [51], it is tempting to speculate that functionality of the corticospinal pathway is normal after malonate lesions, and that deficit after malonate lesions is not due to changes in corticospinal outflow. In accordance with this hypothesis, walking performance is not associated with the extent of lesion overlap with the corticospinal tract in stroke patients [52], and differences exist between deficit induced by lesion of the corticospinal tract and that induced by lesion of the striatum. Stereotyped locomotion is possible as soon as the first day following lesion to the corticospinal tract and most impairments in kinematics and ground reaction forces recover rapidly within the first week after operation [25,53]. In contrast, treadmill running is impossible during the first three days after malonate, and locomotor behaviour is impaired persistently after malonate. In addition, the contralesional forelimb which badly performs obstacle crossing after striatal lesion (our results) was reported to cross over obstacle normally after pyramidal lesions [45]. Nevertheless, further studies are needed to prove that deficit after malonate is not due in part to damage of the corticospinal fibres.

In conclusion, our results argue that the striatum of one hemisphere controls kinematics of contralateral limbs during stereotyped locomotion and plays a prominent role in the selection of the right motor program so that these limbs successfully cross over obstacle. They also suggest that the intact neuronal circuitry cannot spontaneously compensate for the lesioned striatum, at least when the (dorsal) striatum is fully lesioned. Techniques and data described here are likely to be useful for a better comprehension of the neural pathways involved in the regulation of stereotyped and challenged locomotion, and for the guidance of new therapeutic interventions in pathologies associated with impaired gait.

## Materials and Methods

### Animals

Experiments were carried out on Wistar adult male rats (Depré, Saint-Doulchard, France) with age of 13 weeks. All procedures were approved by the ethical committee of the Université de Bourgogne and were conducted according to guidelines of the



French department of agriculture (licence n° 21CAE101). Animals kept in ventilated, humidity and temperature-controlled rooms with a 12/12-h light/dark cycle received food and water *ad libitum*. To reduce the animal's stress level, the same operator performed all steps of the experiments.

### Selection of animals

Rats were selected according to their capacity of running regularly on a horizontal treadmill (Bioseb, Vitrolles, France) with the speed of the treadmill belt fixed at 25 cm/s. A 3 min-long running session (first without obstacles and then with obstacles attached to the belt) was given twice a day for seven days. On the first day, mild intensities of foot shocks were used as negative reinforcement to improve performance. Rats that failed to run in a regular way on the treadmill (contact of the forelimbs with the front wall of the treadmill, frequent immobility or gallop) at the end of the selection period were excluded. It is noteworthy that obstacle clearance was not a difficulty for any of the rats.

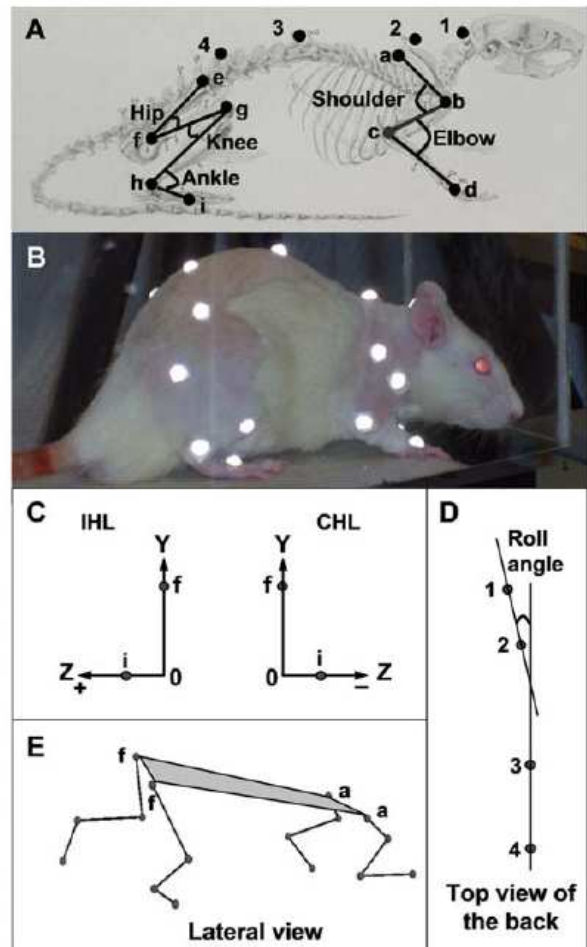
### Induction of the lesion

A lesion confined to the caudoputamen was induced by the direct injection of the mitochondrial toxin malonate (disodium salt, Sigma, Saint Quentin Fallavier, France) into the left striatum. Briefly, rats were anaesthetized with chloral hydrate (400 mg/kg, i.p.) and positioned in a stereotaxic frame. Injection of malonate (pH 7.4) was performed into the left striatum via a cannula inserted at the following coordinates relative to bregma: AP: 0.5 mm, Lat: 3.5 mm, V: 6 mm from the skull (Paxinos & Watsons' atlas). Injection of malonate (3  $\mu$ mol) was carried out over 3 min at a rate of 1  $\mu$ L/min. According to this dosage, the lesion measured at day 1 after malonate poisoning affects the whole caudoputamen [14,54]. It can be noticed here that the malonate lesion is a pannecrotic lesion and has revealed striking similarities to the lesion induced by ischemic stroke with respect to histological characterization [51].

### Kinematics recordings

The 3D kinematics data were collected using the VICON MX-13 optical motion capture system (Vicon, Oxford, Great Britain) consisting of 6 high-speed digital cameras placed at approximately 0.7 m from the treadmill. Three cameras were placed facing the rat's left side and three other cameras facing the rat's right side, perpendicular to the direction of the movement, thus allowing the simultaneous recording of the two hemi-bodies. Data were collected at a sampling rate of 200 Hz. The image dimension was 1280 $\times$ 1024 pixels. The magnification of the cameras was calibrated to cover the 45 cm length of the treadmill apparatus.

After anaesthesia (chloral hydrate, 400 mg/kg, i.p.) the limbs and the back were shaved and tattooed in order to locate the bony processes as previously described in details [15]. The area around the tattoo marks was regularly shaved and re-touched with permanent ink as soon as tattoo fading was observed. For this step, anaesthesia of animals that were now confident with the experimenter was not required. Twenty two infrared-reflective hemispherical markers (BTS Bioengineering, Cod FMK0005, Milano, Italy) with a diameter of 6 mm were placed over the following anatomical landmarks (see Fig.7A, B): the scapula (marker a), the upper (shoulder marker b) and lower (elbow marker c) humerus epiphysis, the metacarpophalangeal (MTC) joint (marker d), the iliac crest (marker e), the great trochanter (hip marker f), the knee (marker g), the internal malleolus (ankle marker h) and the fifth metatarsophalangeal (MTP) joint (marker i). Four markers (markers 1, 2, 3 and 4) were also placed on the back from the neck to the tail at regular distances. Finally, two markers were



**Figure 7. Position of the reflective markers and kinematics parameters in rats.** A and B) five markers were placed on each hindlimb, four markers on each forelimb and four markers (1 to 4) on the back, C) the paw placement of the ipsilesional and contralesional hindlimb (IHL, CHL) in the frontal plane was assessed from the position at toe off of the MCP marker (marker i) on the Z-axis (mediolateral) with respect to the Y-axis (vertical) that passed through the hip marker (marker f), D) the horizontal head-on-trunk position was assessed from the roll angle, i.e. the angle between the straight line passing through the dorsal markers 1 and 2 and that passing through the dorsal markers 3 and 4, E) the lateral tilt of the body was assessed from the angle between the plane (in grey) passing through the two hip markers (f) and the two shoulder markers (a) and the horizontal plane of the laboratory (not indicated).

doi:10.1371/journal.pone.0007616.g007

placed on the base of each of the two obstacles. Markers were fixed on rat and obstacles with a double face adhesive tape.

The kinematic data were collected with the speed of the treadmill belt fixed at 25 cm/s, a speed that is within the range of speed of rat's overground locomotion [55]. Stereotyped locomotion was first assessed in a 1-min long session (3 $\times$ 20 sec). Then, two obstacles (3 cm high, 1.2 cm wide) separated by 45 cm were attached to the treadmill belt and data were again recorded in a 3-min long session (3 $\times$ 1 min). Soft tissue movement around the knee (skin slippage) is a source of error when estimating joint kinematics of hindlimbs in rats from markers placed on the surface of the body overlying joints [56]. Therefore, mean distance between the

hip marker and the knee marker or between the knee marker and the ankle marker were measured before and after lesion to the striatum. In the present study, locomotion without obstacle attached to the treadmill belt is referred to as stereotyped locomotion whereas locomotion with obstacles attached to the belt to as challenged locomotion.

### Numerical analysis

The step cycle was split into two parts, the stance and the swing phase. The stance phase was defined as the part of the cycle that begins as soon as the foot contacts the treadmill belt and terminates when the foot starts its forward movement (i.e. when the velocity of the MTP markers was higher than a threshold fixed at 5% of its maximal velocity). The swing phase was considered to begin at the onset of forward movement and to end when the foot strikes the treadmill belt. Using a MATLAB program (Math-Works, Natick, USA), we measured the following locomotor-related parameters:

- stance and swing phases duration, and stride duration (time in milliseconds between two successive foot contacts of the same limb),
- temporal symmetry ratio (TSR) of gait, a salient index of gait dysfunction in human stroke [57] was calculated for each of the locomotor cycles using the following equation:

$$\text{TSR} = \frac{\text{contralateral swing duration/stance duration}}{\text{ipsilateral swing duration/stance duration}}$$

- stride length was computed as the Euclidian distance (mm) of the more distal markers (MTP for the hindlimbs, MTC for the forelimbs) between the beginning of the swing phase and the next contact with the treadmill belt. The reference frame was fixed to the hip marker,
- interlimb coordination. We calculated the homologous, homolateral and diagonal coupling from the time of the paw contact of a given limb with respect to the step cycle of the limb of the same girdle, of the same side, and of the diagonal limb, respectively,
- maximal (Max) and minimal (Min) values of joint angles during the stance and the swing phases,
- paw placement of the more distal marker of limbs at toe off in the frontal plan. For the hindlimb (see Fig.7C), this parameter corresponds to the position of the MCP marker (marker i) on the Z-axis (mediolateral) with respect to the Y-axis (vertical) that passes through the hip marker (marker f). For the forelimbs, it corresponds to the position of the MTP marker on the Z-axis with respect to the Y-axis that passes through the shoulder,
- horizontal head-on-trunk position. This parameter was assessed from the measurement of the roll angle, i.e. the angle between the straight line passing through the dorsal markers 1 and 2 and that passing through the dorsal markers 3 and 4 (see Fig.7D). A positive angle indicates a deviation of the head towards the right side,
- lateral tilt of the body. This parameter was assessed from the measurement of the lateral tilted angle, i.e. the angle between the horizontal plane of the laboratory and the plane passing through the two hip markers and the two shoulder markers (see Fig.7E). A positive angular value indicates a tilt toward the right side.

We also measured the following obstacle avoidance-related parameters:

- pre-obstacle distance: the distance between the obstacle and the tip of the paw just before the crossing swing,
- post-obstacle distance: the distance between the obstacle and the tip of the paw just at crossing swing ending,
- time to avoid obstacle, i.e. the duration of successful crossing swings (from the toe-off before obstacle to the paw contact after obstacle),
- the maximal height of the more distal marker during the crossing swing.

The parameters of stereotyped locomotion were calculated for 15 step cycles with at least four regular and consecutive step cycles during each trial in order to eliminate deviant curves [58]. The parameters used for assessing obstacle avoidance were calculated for 25 obstacle crossings with at least four consecutive crossings.

### Histological study

The lesion volume and the amount of histologically intact residual brain tissue were measured at the end of the experiment. After anaesthesia (chloral hydrate, 400 mg/kg, i.p.), rats were subjected to a transcardial perfusion with saline followed by a perfusion with paraformaldehyde (4% in phosphate buffer). Then, the brains were removed, postfixed for 30 min in paraformaldehyde, submerged for 36 h in 20% sucrose at 4°C, and frozen in isopentane (−40°C). Coronal sections (20 μm, 200 μm apart, and starting +2.2 mm to bregma and extending back to −3.6 mm to bregma) were collected on SuperFrost slides and stained with Cresyl violet (0.4%). Histological measurements were performed on sections using an image analyzing system (Scion Image, NIH, Bethesda, MD, USA). The areas of the lesion, the cavitations within parenchyma, the ventricles and the entire hemispheres were measured by contour tracing these regions on the computer screen. Corresponding volumes were calculated as the product of the sum of the areas and the distance between sections. Tissue loss induced by malonate poisoning corresponded to the difference in the amount of histologically intact residual tissue between the lesioned and the unlesioned hemispheres.

### Statistical analysis

Data are expressed as mean±SD. Statistics were performed using the 9.0 version of SYSTAT (Systat Software, Inc, Chicago, USA). Friedman's non parametric test was used to detect a global difference between kinematic recordings. If the P value was below 0.5, we compared data collected at days 7 and 60 post-lesion with those collected before lesion using Wilcoxon's test two times with Bonferroni's procedure. Such a small set of planned comparisons should increase only slightly the type I error risk as compared to more numerous planned comparisons. If these comparisons were both significant (P<0.025), it was concluded that lesions produced persistent impairment in kinematics. If only the comparison at day 7 post-lesion was significant (P<0.025), the impairment was suggested to regress over time. If only the comparison at day 60 post-lesion was significant (P<0.025), a delayed kinematic impairment was suggested.

### Acknowledgments

We thank doctor Philippe d'Athis for his help in statistical analysis of data.

### Author Contributions

Conceived and designed the experiments: TP CM. Performed the experiments: OP DL. Analyzed the data: OP DL TP CM. Contributed reagents/materials/analysis tools: TP CM. Wrote the paper: CM.



## References

- Rossignol S, Dubuc R, Gossard JP (2006) Dynamic sensorimotor interactions in locomotion. *Physiol Rev* 86: 89–154.
- Takakusaki K (2008) Forebrain control of locomotor behaviors. *Brain Res Rev* 57: 192–198.
- Alexander GE, Crutcher MD, DeLong MR (1990) Basal ganglia-thalamocortical circuits: parallel substrates for motor, oculomotor, “prefrontal” and “limbic” functions. *Prog Brain Res* 85: 119–146.
- Bhatia KP, Marsden CD (1994) The behavioural and motor consequences of focal lesions of the basal ganglia in man. *Brain* 117 (Pt 4): 859–876.
- Benecke R, Rothwell JC, Dick JP, Day BL, Marsden CD (1987) Disturbance of sequential movements in patients with Parkinson's disease. *Brain* 110 (Pt 2): 361–379.
- DeLong MR (1990) Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends Neurosci* 13: 281–285.
- Brown LL, Schneider JS, Lidsky TI (1997) Sensory and cognitive functions of the basal ganglia. *Curr Opin Neurobiol* 7: 157–163.
- Seitz RJ, Roland PE (1992) Learning of Sequential Finger Movements in Man: A Combined Kinematic and Positron Emission Tomography (PET) Study. *Eur J Neurosci* 4: 154–65.
- Middleton FA, Strick PL (2000) Basal ganglia and cerebellar loops: motor and cognitive circuits. *Brain Res Brain Res Rev* 31: 236–250.
- Shi LH, Luo F, Woodward DJ, Chang JY (2004) Neural responses in multiple basal ganglia regions during spontaneous and treadmill locomotion tasks in rats. *Exp Brain Res* 157: 303–314.
- Wagner J, Stephan T, Kalla R, Bruckmann H, Strupp M, et al. (2008) Mind the bend: cerebral activations associated with mental imagery of walking along a curved path. *Exp Brain Res* 191: 247–55.
- Dietz V, Michel J (2008) Locomotion in Parkinson's disease: neuronal coupling of upper and lower limbs. *Brain* 131: 3421–31.
- Bezard E, Gross CE, Brochie JM (2003) Presymptomatic compensation in Parkinson's disease is not dopamine-mediated. *Trends Neurosci* 26: 215–221.
- Millerot-Serruot E, Chausset A, Mossiat C, Prigent-Tessier A, Bertrand N, et al. (2007) Effect of early decrease in the lesion size on late brain tissue loss, synaptophysin expression and functionality after a focal brain lesion in rats. *Neurochem Int* 50: 328–35.
- Thota AK, Watson SC, Knapp E, Thompson B, Jung R (2005) Neuromechanical control of locomotion in the rat. *J Neurotrauma* 22: 442–65.
- Garnier C, Falempin M, Canu MH (2008) A 3D analysis of fore- and hindlimb motion during locomotion: comparison of overground and ladder walking in rats. *Behav Brain Res* 186: 57–65.
- Courtine G, Song B, Roy RR, Zhong H, Herrmann JE, et al. (2008) Recovery of supraspinal control of stepping via indirect propriospinal relay connections after spinal cord injury. *Nat Med* 14: 69–74.
- Couto PA, Filipe VM, Magalhães LG, Pereira JE, Costa LM, et al. (2008) A comparison of two-dimensional and three-dimensional techniques for the determination of hindlimb kinematics during treadmill locomotion in rats following spinal cord injury. *J Neurosci Methods* 173: 193–200.
- Deniau JM, Menetrey A, Charpier S (1996) The lamellar organization of the rat substantia nigra pars reticulata: segregated patterns of striatal afferents and relationship to the topography of corticostriatal projections. *Neuroscience* 73: 761–81.
- Takakusaki K, Habaguchi T, Ohtinata-Sugimoto J, Saitoh K, Sakamoto T (2003) Basal ganglia efferents to the brainstem centers controlling postural muscle tone and locomotion: a new concept for understanding motor disorders in basal ganglia dysfunction. *Neuroscience* 119: 293–308.
- García-Rill E (1986) The basal ganglia and the locomotor regions. *Brain Res* 396: 47–63.
- Brown LL (1992) Somatotopic organization in rat striatum: evidence for a combinatorial map. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89: 7403–7.
- Marshall JF, Berrios N, Sawyer S (1980) Neostriatal dopamine and sensory inattention. *J Comp Physiol Psychol* 94: 833–846.
- Alexander LD, Black SE, Patterson KK, Gao F, Danells CJ, et al. (2009) Association between gait asymmetry and brain lesion location in stroke patients. *Stroke* 40: 537–44.
- Metz GA, Dietz V, Schwab ME, van de Meent H (1998) The effects of unilateral pyramidal tract section on hindlimb motor performance in the rat. *Behav Brain Res* 96: 37–46.
- Wang Y, Bontempi B, Hong SM, Mehta K, Weinstein PR, et al. (2008) A comprehensive analysis of gait impairment after experimental stroke and the therapeutic effect of environmental enrichment in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 28: 1936–50.
- Grillner S, Hegglin J, Menard A, Saitoh K, Wikstrom MA (2005) Mechanisms for selection of basic motor programs—roles for the striatum and pallidum. *Trends Neurosci* 28: 364–70.
- Hikosaka O (2007) GABAergic output of the basal ganglia. *Prog Brain Res* 160: 209–226.
- Takakusaki K (2009) [Motor control by the basal ganglia]. *Rinsho Shinkeigaku* 49: 325–334.
- Perennou DA, Mazibrada G, Chauvineau V, Greenwood R, Rothwell J, et al. (2008) Lateropulsion, pushing and verticality perception in hemisphere stroke: a causal relationship? *Brain* 131: 2401–13.
- Lafosse C, Kerckhofs E, Troch M, Santens P, Vandenbusche E (2004) Gravitational misperception of the postural vertical after right hemisphere damage. *Neuroreport* 15: 887–891.
- Miklyava EI, Martens DJ, Whishaw IQ (1995) Impairments and compensatory adjustments in spontaneous movement after unilateral dopamine depletion in rats. *Brain Res* 681: 23–40.
- Armstrong DM, Marple-Horvat DE (1996) Role of the cerebellum and motor cortex in the regulation of visually controlled locomotion. *Can J Physiol Pharmacol* 74: 443–455.
- Drew T, Andujar JE, Lajoie K, Yakovenko S (2008) Cortical mechanisms involved in visuomotor coordination during precision walking. *Brain Res Rev* 57: 199–211.
- Lajoie K, Drew T (2007) Lesions of area 5 of the posterior parietal cortex in the cat produce errors in the accuracy of paw placement during visually guided locomotion. *J Neurophysiol* 97: 2339–54.
- Hebb MO, Robertson HA (1999) Synergistic influences of the striatum and the globus pallidus on postural and locomotor control. *Neuroscience* 90: 413–421.
- Schallert T, Upchurch M, Wilcox RE, Vaughn DM (1983) Posture-independent sensorimotor analysis of inter-hemispheric receptor asymmetries in neostriatum. *Pharmacol Biochem Behav* 18: 753–759.
- Henderson JM, Stanic D, Tomas D, Patch J, Horne MK, et al. (2005) Postural changes after lesions of the substantia nigra pars reticulata in hemiparkinsonian monkeys. *Behav Brain Res* 160: 267–276.
- Da Cunha C, Wietzikoski EC, Ferro MM, Martinez GR, Vital MA, et al. (2008) Hemiparkinsonian rats rotate toward the side with the weaker dopaminergic neurotransmission. *Behav Brain Res* 189: 364–372.
- Miyashita N, Hikosaka O, Kato M (1995) Visual hemineglect induced by unilateral striatal dopamine deficiency in monkeys. *Neuroreport* 6: 1257–60.
- Fruhmann Berger M, Pross RD, Ilg UJ, Karnath HO (2006) Deviation of eyes and head in acute cerebral stroke. *BMC Neurol* 6: 23.
- Sparrow WA, Shinkfield Alison J, Chow S, Begg RK (1996) Characteristics of gait in stepping over obstacles. *Human Movement Science* 15: 605–622.
- Said CM, Goldie PA, Padua AE, Sparrow WA, Martin KE (1999) Obstacle crossing in subjects with stroke. *Arch Phys Med Rehabil* 80: 1054–9.
- Drew T, Jiang W, Kably B, Lavoie S (1996) Role of the motor cortex in the control of visually triggered gait modifications. *Can J Physiol Pharmacol* 74: 426–42.
- Drew T, Jiang W, Widajewicz W (2002) Contributions of the motor cortex to the control of the hindlimbs during locomotion in the cat. *Brain Res Brain Res Rev* 40: 178–91.
- Lajoie K, Drew T (2007) Lesions of area 5 of the posterior parietal cortex in the cat produce errors in the accuracy of paw placement during visually guided locomotion. *J Neurophysiol* 97: 2339–2354.
- Den Otter AR, Geurts AC, de Haart M, Mulder T, Duysens J (2005) Step characteristics during obstacle avoidance in hemiplegic stroke. *Exp Brain Res* 161: 180–92.
- Schwarz R, Whetsell WO, Jr., Mangano RM (1983) Quinolinic acid: an endogenous metabolite that produces axon-sparing lesions in rat brain. *Science* 219: 316–318.
- Greene JG, Porter RH, Eller RV, Greenamyre JT (1993) Inhibition of succinate dehydrogenase by malonic acid produces an “excitotoxic” lesion in rat striatum. *J Neurochem* 61: 1151–1154.
- Karl JM, Sacrey LA, McDonald RJ, Whishaw IQ (2008) Intact intracortical microstimulation (ICMS) representations of rostral and caudal forelimb areas in rats with quinolinic acid lesions of the medial or lateral caudate-putamen in an animal model of Huntington's disease. *Brain Res Bull* 77: 42–48.
- Greene JG, Greenamyre JT (1996) Manipulation of membrane potential modulates malonate-induced striatal excitotoxicity in vivo. *J Neurochem* 66: 637–43.
- Dawes H, Enzinger C, Johansen-Berg H, Bogdanovic M, Guy C, et al. (2008) Walking performance and its recovery in chronic stroke in relation to extent of lesion overlap with the descending motor tract. *Exp Brain Res* 186: 325–333.
- Muir GD, Whishaw IQ (1999) Complete locomotor recovery following corticospinal tract lesions: measurement of ground reaction forces during overground locomotion in rats. *Behav Brain Res* 103: 45–53.
- Demougeot C, Garnier P, Mossiat C, Bertrand N, Giroud M, et al. (2001) N-Acetylaspartate, a marker of both cellular dysfunction and neuronal loss: its relevance to studies of acute brain injury. *J Neurochem* 77: 408–15.
- Clarke KA, Parker AJ (1986) A quantitative study of normal locomotion in the rat. *Physiol Behav* 38: 345–51.
- Filipe VM, Pereira JE, Costa LM, Mauricio AC, Couto PA, et al. (2006) Effect of skin movement on the analysis of hindlimb kinematics during treadmill locomotion in rats. *J Neurosci Methods* 153: 55–61.
- Patterson KK, Parafianowicz I, Danells CJ, Closson V, Verrier MC, et al. (2008) Gait asymmetry in community-ambulating stroke survivors. *Arch Phys Med Rehabil* 89: 304–10.
- Duhamel A, Bourriez JL, Devos P, Krystkowiak P, Destee A, et al. (2004) Statistical tools for clinical gait analysis. *Gait Posture* 20: 204–12.

### **III) TROISIEME ETUDE. Effets de la lésion du cortex cérébral sur la locomotion**

#### 1) Objectif

L'objectif de l'étude est de quantifier chez le rat l'impact de la lésion du cortex moteur, à l'origine du faisceau corticospinal, sur la fonction locomotrice qu'il s'agisse de la locomotion sur terrain plat qui implique essentiellement les CPG ou le franchissement d'obstacle qui implique un contrôle supraspinal de l'activité des CPG.

#### 2) Induction de la lésion

La lésion a été induite par un modèle d'ischémie cérébrale d'origine photo thrombotique. L'ischémie conduit à un infarctus du cortex moteur, c'est-à-dire à la destruction de tous les types cellulaires (neurones et cellules gliales). Le laboratoire a précédemment montré que la lésion affectait les aires motrices représentatives des pattes antérieures et postérieures

#### 3) Protocole expérimental

Chez un même rat, la locomotion a été enregistrée lors d'une course sur tapis roulant (25 cm/s) d'abord sans obstacle puis en présence de deux obstacles fixés sur le tapis. Les paramètres mesurés sont identiques à ceux décrits dans notre deuxième étude. Ils ont été collectés les trois jours qui précèdent et les 3 jours qui suivent l'induction de la lésion (trois, deux et un jours avant lésion) et après induction de la lésion. Les données sont exprimées par la moyenne affectée de son écart type. Les statistiques ont été réalisées à partir de la version 9.0 du logiciel SYSTAT (Systat Software, Inc, Chicago, USA). Le test non paramétrique de Friedman a été utilisé afin de détecter une différence globale entre les données pré-lésionnelles et les données post-lésionnelles. En cas d'existence d'une différence, l'analyse statistique est poursuivie par un test de Wilcoxon suivi de la procédure de Bonferroni. La différence est jugée significative si  $P < 0.05$ .



#### 4) Résultats

Parmi les six rats inclus dans l'expérience, deux sont exclus à l'issue de la période de sélection et quatre sont soumis à la lésion corticale. Parmi les rats lésés, un rat supplémentaire a été exclu car il enlevait fréquemment les marqueurs placés sur ses pattes antérieures. Aussi, les paramètres locomoteurs ont été mesurés avant et après lésion que chez seulement 3 rats. Comme aucune différence n'a été observée entre les trois mesures faites avant lésion, les paramètres pré-lésionnels ont été regroupés et la moyenne obtenue a été comparée aux valeurs obtenues après lésion. Le poids corporel juste avant la lésion est de  $368 \pm 18$  g. Il est respectivement de  $350 \pm 22$  grammes,  $353 \pm 20$  et  $361 \pm 18$  aux temps un, deux et trois jours après lésion. Dès le lendemain de la lésion, tous les rats sont aptes à la course sur le tapis roulant et franchissent correctement l'obstacle. Nous avons vérifié que les trois rats présentaient bien une lésion du cortex moteur (hémisphère droit).

##### a) Effets de la lésion sur la locomotion stéréotypée

#### **Paramètres de durée et de longueur**

Avant lésion, la durée du cycle locomoteur (Figure 1A) des pattes antérieures est de  $533 \pm 35$  ms pour l'hémicorps gauche et de  $532 \pm 49$  ms pour l'hémicorps droit. Pour les pattes postérieures, ces valeurs sont respectivement de  $536 \pm 14$  ms et  $534 \pm 14$  ms. La durée de la phase d'appui est de  $289 \pm 34$  ms pour l'hémicorps gauche et de  $300 \pm 48$  ms pour l'hémicorps droit en ce qui concerne les pattes antérieures. Pour les pattes postérieures, la durée est respectivement de  $411 \pm 16$  ms et de  $404 \pm 15$  ms. La durée de la phase d'oscillation est de  $244 \pm 36$  ms pour l'hémicorps gauche et de  $232 \pm 51$  ms pour l'hémicorps droit en ce qui concerne les pattes antérieures. Pour les pattes postérieures, elle est respectivement de  $126 \pm 12$  ms et de  $130 \pm 13$  ms. La lésion n'affecte aucun des paramètres temporels.

Avant lésion, la longueur du cycle locomoteur (Figure 1B) des pattes antérieures est de  $71 \pm 3$  mm pour l'hémicorps gauche et de  $71 \pm 4$  mm pour l'hémicorps droit. Pour les pattes postérieures, ces valeurs sont respectivement de  $82 \pm 2$  mm et  $80 \pm 4$  mm. La lésion est sans effet sur ce paramètre.

Le tableau 1 montre que le couplage homologue, homolatéral et diagonal entre les pattes, qui est respectivement de  $\approx 50\%$ ,  $35\%$  et  $80\%$  avant lésion, n'est pas affecté par la lésion.

### **Valeurs des angles articulaires**

Les angles articulaires des pattes contralatérales (Figure 2) comme ceux des pattes ipsilatérales (non montrés) à la lésion ne sont pas modifiés par la lésion.

### **Orientation de la tête et du corps**

Avant lésion, la valeur moyenne de l'angle formé par la tête et le tronc (Figure 3A) est proche de  $0^\circ$  ( $-0,8 \pm 1,7^\circ$ ), ce qui indique que la tête des animaux est dans le prolongement du tronc. Après lésion, ces valeurs restent proches de  $0^\circ$ .

La lésion est également sans effet sur l'inclinaison latérale du corps (Figure 3B). Ainsi, la valeur de l'angle formé par un plan passant par les ceintures scapulaires et pelviennes et le plan horizontal du laboratoire est de  $-0,9 \pm 4,2^\circ$  avant lésion et reste proche de  $0^\circ$  après lésion.

#### b) Effets de la lésion sur la locomotion dirigée

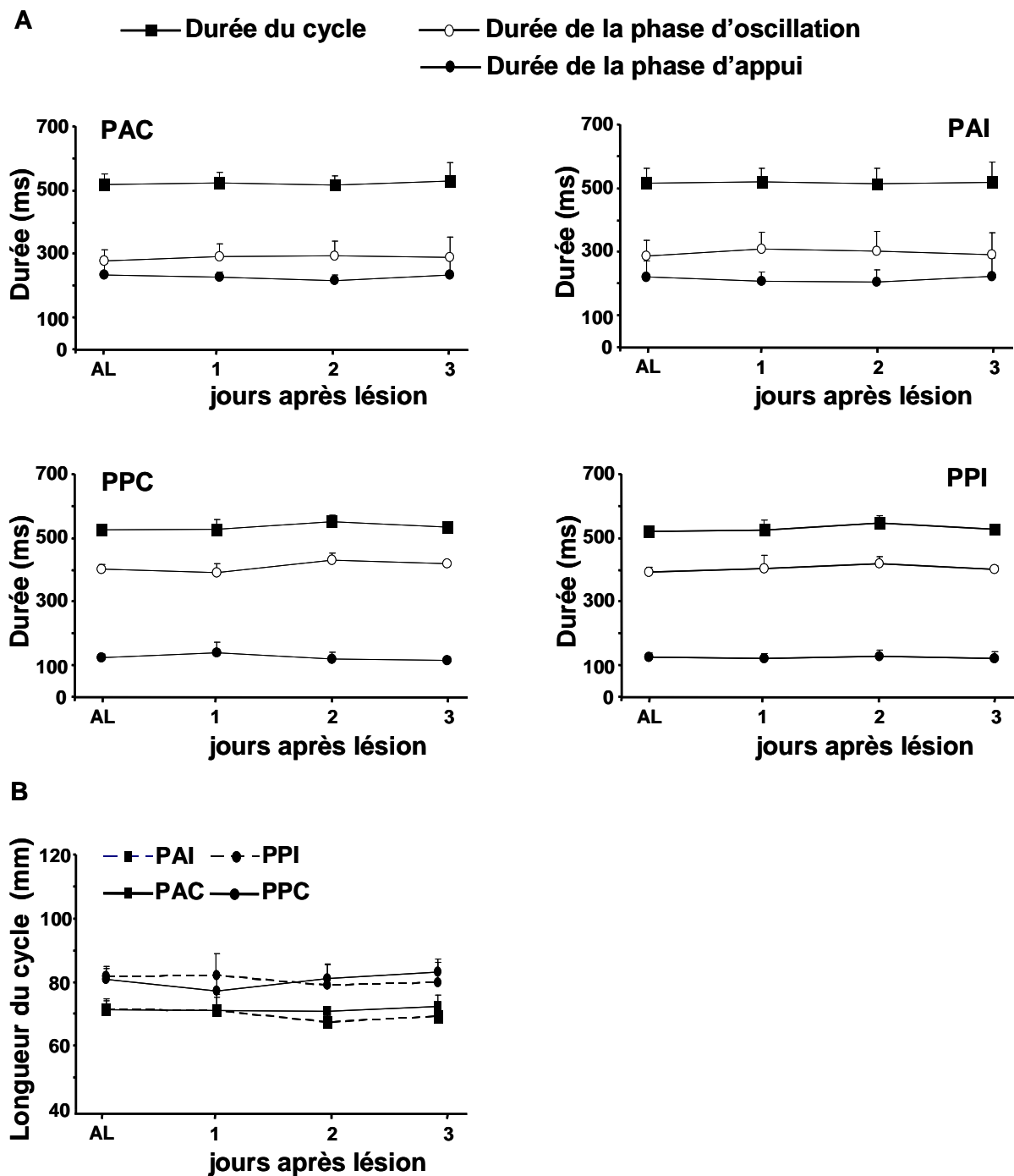
Tous les rats franchissent correctement l'obstacle. La position des pattes par rapport à l'obstacle, la hauteur maximale du marqueur le plus distal et le temps mis par chaque patte pour franchir l'obstacle ont été calculés lorsque la patte contralatérale à la lésion est, soit la première, soit la seconde à franchir l'obstacle. Aucun des paramètres n'a été modifié par la lésion, que la patte conduisant le mouvement soit contralatérale ou ipsilatérale à la lésion. Ainsi nous avons décidé de présenter les valeurs obtenues lorsque la patte contralatérale à la lésion est la première à franchir l'obstacle.

### **Pré et post-obstacle distance.**

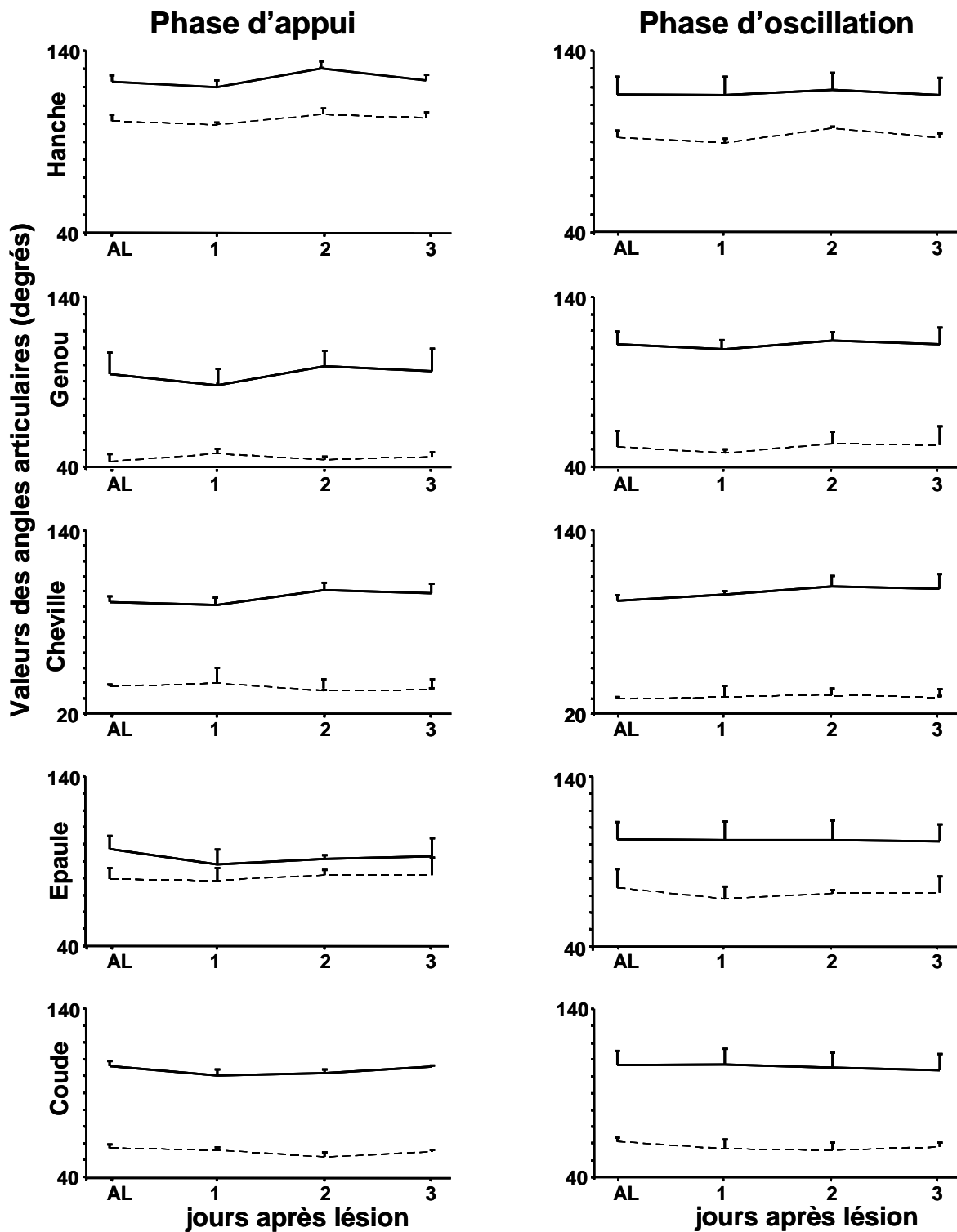
Les résultats sont regroupés dans la Figure 4. Avant lésion, les valeurs de pré et post-obstacle distance pour la patte antérieure conduisant le mouvement sont respectivement de  $4,2 \pm 1$  et  $6,1 \pm 0,8$  cm. Elles sont de  $1,8 \pm 0,4$  et  $9,3 \pm 1,3$  cm pour la patte antérieure qui suit. Concernant les pattes postérieures, les valeurs de pré et post-obstacle distance sont respectivement de  $7,9 \pm 0,9$  et  $5,9 \pm 0,6$  cm pour la patte conduisant la manœuvre et de  $3,5 \pm 0,6$  et  $10,1 \pm 1$  cm pour l'autre patte. La lésion ne modifie pas le positionnement des pattes ni devant, ni derrière l'obstacle.

**Hauteur maximale des pattes et temps mis pour franchir l'obstacle**

Avant lésion (tableau 2), la valeur de hauteur maximale des pattes pour la patte antérieure conduisant le mouvement est de  $36,4 \pm 2,1$  mm et de  $32,3 \pm 1,9$  mm pour l'autre patte antérieure. Ces mêmes valeurs pour les pattes postérieures sont respectivement de  $47,1 \pm 1,3$  et  $48,6 \pm 2,3$  mm. Avant lésion, la valeur du temps mis pour franchir l'obstacle pour la patte antérieure conduisant le mouvement est de  $227 \pm 38$  ms et de  $179 \pm 17$  ms pour l'autre patte antérieure. Ces mêmes valeurs pour les pattes postérieures sont respectivement de  $188 \pm 17$  et  $175 \pm 13$  ms. La lésion ne modifie aucun des paramètres étudiés.



**Figure 1 : Effet de la lésion sur les paramètres locomoteurs de durée et de longueur.** A) durée du cycle locomoteur, de la phase d'appui et de la phase d'oscillation, B) longueur du cycle locomoteur. Les paramètres ont été mesurés avant lésion (AL) et aux jours 1, 2 et 3 qui suivent la lésion, pour les pattes antérieures ipsilatérales et controlatérales (PAI, PAC) et pour les pattes postérieures ipsilatérales et controlatérales (PPI, PPC) à la lésion. Les valeurs sont représentées par la moyenne affectée de son écart type.



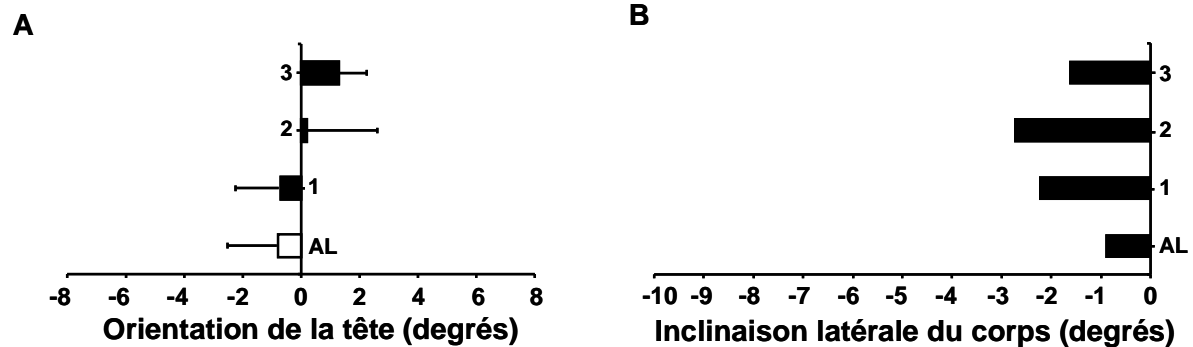
**Figure 2: Effet de la lésion sur les valeurs des angles articulaires des pattes controlatérales à la lésion.** Les courbes pleines et en pointillées correspondent respectivement aux valeurs maximales et minimales des angles articulaires. Les paramètres ont été mesurés durant les phases d'appui et d'oscillation, avant lésion (AL) et aux jours 1, 2 et 3 qui suivent la lésion. Les valeurs sont représentées par la moyenne affectée de son écart type.

**Tableau 1: Coordination entre les pattes**

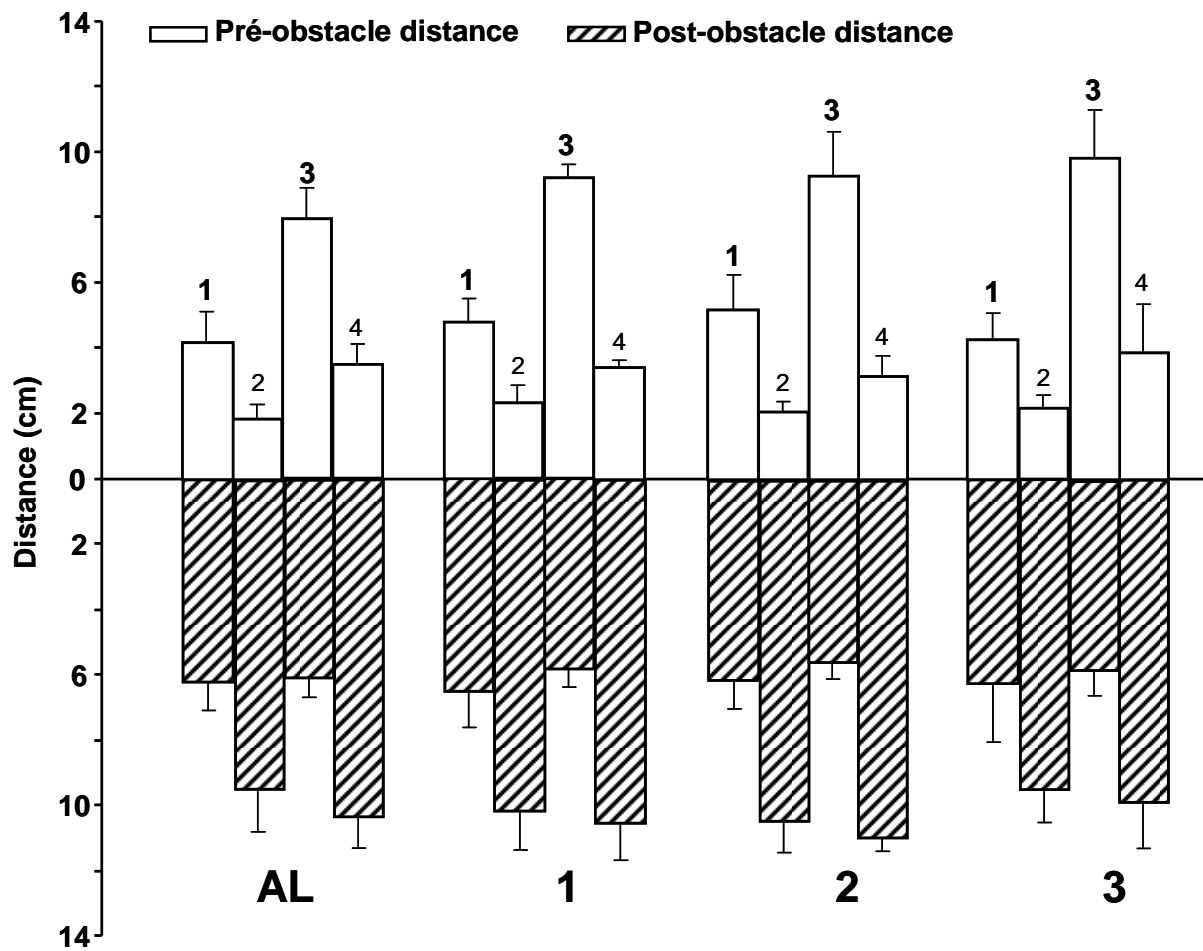
	AL	1	2	3
<b>Couplage Homologue</b>				
PPD vs PPG	0.49 ± 0.06	0.48 ± 0.03	0.48 ± 0.01	0.50 ± 0.01
PAD vs PAG	0.49 ± 0.01	0.50 ± 0.00	0.50 ± 0.00	0.49 ± 0.00
<b>Couplage Homolatéral</b>				
PAG vs PPG	0.37 ± 0.05	0.41 ± 0.02	0.41 ± 0.02	0.36 ± 0.07
PAD vs PPD	0.36 ± 0.05	0.38 ± 0.03	0.38 ± 0.09	0.38 ± 0.07
<b>Couplage Diagonal</b>				
PAG vs PPD	0.83 ± 0.04	0.87 ± 0.02	0.82 ± 0.06	0.86 ± 0.06
PAD vs PAG	0.81 ± 0.04	0.81 ± 0.01	0.83 ± 0.03	0.84 ± 0.09

La lésion a été induite au niveau de l'hémisphère droit. La coordination entre les pattes a été mesurée avant lésion (AL) et aux jours 1, 2 et 3 qui suivent la lésion.

PPD=Patte Postérieure Droite, PPG= Patte Postérieure Gauche,  
PAD= Patte Antérieure Droite, PAG= Patte Antérieure Gauche



**Figure 3: Effet de la lésion sur l'orientation de la tête et du corps.** A) position horizontale de la tête par rapport au tronc, B) inclinaison latérale du corps. Les valeurs positives indiquent une déviation vers le côté ipsilatéral et les valeurs négatives vers le côté controlatéral à la lésion. Les barres videntes représentent les valeurs avant lésion et les pleines, les valeurs après lésion (aux jours 1, 2 et 3). Les valeurs sont représentées par la moyenne affectée de son écart type.



**Figure 4: Effet de la lésion sur les paramètres relatifs à l'évitement de l'obstacle ; Distance pré et post-obstacle.** Les distances sont montrées lorsque la patte antérieure controlatérale à la lésion conduit le franchissement de l'obstacle (1). La patte antérieure ipsilatérale à la lésion franchit l'obstacle en deuxième (2), et ensuite suivent les pattes postérieures contro et ipsilatérales (respectivement 3 et 4). Les paramètres ont été mesurés, avant lésion (AL) et aux jours 1, 2 et 3 qui suivent la lésion. Les valeurs sont représentées par la moyenne affectée de son écart type.

**Tableau 2. Hauteur maximale des pattes lors du franchissement d'obstacle (mm)**

	<b>PA conduit</b>	<b>PA suit</b>	<b>PP conduit</b>	<b>PP suit</b>
<b>AL</b>	<b>36.4 ± 2.1</b>	<b>32.3 ± 1.9</b>	<b>47.1 ± 1.3</b>	<b>48.6 ± 2.3</b>
<b>1</b>	<b>36.3 ± 1.3</b>	<b>32.9 ± 1.6</b>	<b>47.4 ± 4.3</b>	<b>47.4 ± 1.7</b>
<b>2</b>	<b>35.4 ± 3.4</b>	<b>32.6 ± 4.3</b>	<b>48.2 ± 0.7</b>	<b>46.7 ± 2.2</b>
<b>3</b>	<b>35.6 ± 2.3</b>	<b>33.5 ± 2.7</b>	<b>46.2 ± 2.2</b>	<b>47.2 ± 2.2</b>

**Temps mis pour franchir l'obstacle (ms)**

	<b>PA conduit</b>	<b>PA suit</b>	<b>PP conduit</b>	<b>PP suit</b>
<b>AL</b>	<b>227 ± 38</b>	<b>179 ± 17</b>	<b>188 ± 17</b>	<b>175 ± 13</b>
<b>1</b>	<b>259 ± 62</b>	<b>191 ± 13</b>	<b>191 ± 13</b>	<b>183 ± 9</b>
<b>2</b>	<b>233 ± 32</b>	<b>188 ± 25</b>	<b>191 ± 22</b>	<b>188 ± 25</b>
<b>3</b>	<b>215 ± 30</b>	<b>177 ± 29</b>	<b>197 ± 13</b>	<b>180 ± 15</b>

La lésion a été induite au niveau de l'hémisphère droit. Les paramètres ci-dessus ont été mesurés avant lésion (AL) et aux jours 1, 2 et 3 qui suivent la lésion. PA= Patte Antérieure , PP=Patte Postérieure



## 5) Discussion

Nos résultats montrent que l'infarctus du cortex moteur n'a aucun impact ni sur la locomotion stéréotypée ni sur la performance à franchir un obstacle. Certes, on peut critiquer dans notre étude le fait qu'elle n'inclut que trois animaux. Cependant, les paramètres locomoteurs obtenus avant lésion sont tout à fait comparables à ceux de notre précédente étude qui incluait sept animaux. Par ailleurs, l'écart type des valeurs obtenues après lésion est faible. Pour ces raisons, bien que peu élevé, le nombre d'animaux semble suffisant pour conclure. De plus, on peut rappeler ici que les études s'intéressant au passage d'obstacles chez le chat n'incluent souvent que deux à quatre animaux.

Il existe un certain nombre de travaux cliniques consacrés à l'impact de l'AVC (accident vasculaire cérébral) sur la fonction locomotrice dont l'étude fait appel à différents outils. Parmi ceux-ci, on peut citer des échelles cliniques simples, la vitesse de déplacement sur dix mètres, la distance parcourue en six minutes, des études électromyographiques, des études biomécaniques incluant l'imagerie du mouvement et les plate-formes de force. Les résultats (Lamontagne et coll, 2007 pour revue) s'accordent à montrer qu'après un AVC, les malades présentent une marche dont la vitesse, la cadence, la longueur du pas et l'excursion des angles articulaires sont réduites. Les patients présentent également une asymétrie des variables temporelles, spatiales, cinématiques et leur marche est associée à un coût métabolique et une énergie mécanique plus élevée. Quelques études, toutes issues du même laboratoire, ont même été consacrées à l'effet de l'AVC sur l'aptitude des patients à franchir un obstacle placé sur le sol. Said et coll (1999) montrent qu'environ 50% des patients touchent l'obstacle ou nécessitent une aide extérieure pour franchir l'obstacle indépendamment de sa hauteur (1, 4 ou 8 cm) ou de son épaisseur (1, 4 ou 8 cm). Plus tard, les auteurs montrent, sans toutefois différencier la jambe parétique, que lors du franchissement de l'obstacle, le pied est plus élevé et la distance post-obstacle moindre chez les malades que chez les contrôles (Said et coll, 2001). Plus récemment, les auteurs montrent qu'il existe une différence entre la jambe qui conduit et celle qui suit la manoeuvre d'évitement (Said et coll, 2005). Plus précisément, la jambe parétique est placée plus près de l'obstacle et s'élève moins haut lorsqu'elle conduit, mais ces anomalies sont dues à la réduction de la vitesse de marche qui caractérise l'AVC. En fait, lorsque la vitesse est normalisée, la seule différence observée entre patients et contrôles est une réduction de la distance post-obstacle pour les deux jambes, qu'elles conduisent ou suivent le franchissement.

Enfin, dans leur dernière étude, Said et coll (2008) constatent que la position des centres de masse et de pression est altérée chez les patients victimes d'un AVC et discutent sans véritablement donner de réponse quant à l'origine des anomalies (troubles de l'équilibre induits par la lésion ou compensation pour augmenter la stabilité ou les deux ?). Le plus grand reproche concernant les études de la locomotion chez les victimes d'un AVC est que les patients inclus dans les cohortes sont très différents en termes de localisation et d'étendue de la lésion. Aussi, il est difficile de conclure sur les voies nerveuses impliquées dans le déficit et la récupération de la locomotion après un AVC. On peut tout de même citer Alexander et coll (2009), qui montrent que le risque d'asymétrie temporelle de la marche est plus élevé en cas d'infarctus incluant le striatum postérolatéral, ainsi que Dawes et coll (2008), qui révèlent que la performance à la marche (vitesse, endurance, paramètres spatiotemporels) ainsi que la réponse au reconditionnement (tapis roulant avec harnais) sont indépendantes de l'étendue de la lésion du tractus corticospinal.

L'utilisation des modèles animaux d'infarctus cérébraux, dont la localisation et l'étendue de l'infarctus peuvent être documentés chez chacun des animaux, est particulièrement adaptée à l'identification des voies nerveuses impliquées dans le déficit et la récupération de la fonction locomotrice observés chez les patients victimes d'un AVC. De façon surprenante, la seule étude sur le sujet a été réalisée chez le rat (Wang et coll, 2008). Les auteurs montrent, à l'aide du Catwalk, que l'infarctus du cortex pariétal (aire somatosensitive) ne modifie ni la vitesse, ni la longueur du pas, ni la durée des phases d'appui et d'oscillation, mais qu'il induit en revanche une réduction de la pression exercée par les pattes contralatérales à la lésion et de leur surface de contact avec le sol, ainsi qu'une augmentation du temps passé en double appui. Dans notre étude, aucun des paramètres locomoteurs mesurés n'a été modifié par l'infarctus qui affecte le cortex moteur de l'un des hémisphères. Ces données suggèrent

- soit que le cortex moteur n'est pas indispensable à la locomotion chez le rat, qu'elle se réalise en présence ou en l'absence d'obstacle.
- soit que certains neurones pyramidaux (cellules à l'origine du faisceau corticospinal) ont été épargnés par la lésion et qu'un nombre même limité de neurones corticospinaux suffit à une locomotion normale.

Nos résultats obtenus lors de la locomotion stéréotypée sont en accord avec ceux obtenus chez le chat (Drew et coll, 2002) et l'homme (Dawes et coll, 2008) montrant que le faisceau corticospinal n'est pas nécessaire à la locomotion sur terrain plat. En revanche, nos résultats concernant la locomotion dirigée sont différents de ceux rapportés chez le chat. En effet, alors que le rat franchit correctement les obstacles, le chat heurte l'obstacle après aspiration du cortex moteur ou section du cordon dorsolatéral, que l'obstacle soit ou non placé sur un tapis roulant (Jiang et Drew, 1996 ; Drew et coll, 2002). Le heurt n'est pas dû à une élévation inappropriée de la patte mais à la dorsiflexion de la cheville. Comment expliquer la différence entre les deux espèces ? Une première possibilité est à relier à la différence anatomique existant entre le rat et le chat. En effet, contrairement au chat qui est un digitigrade et qui fléchit les doigts lors du passage de l'obstacle, le rat est un plantigrade. En faveur de cette hypothèse, chez l'homme qui est un plantigrade, la majorité des patients hémiplésiques (plus de 80%) avec un infarctus cortical est capable de franchir un obstacle fixé à un tapis roulant (Den Otter, 2005). De plus, après un AVC (toute localisation confondue de la lésion), la seule différence observée entre malades et sujets contrôles, une fois la vitesse normalisée, est une réduction de la distance post-obstacle du pied (Said et coll, 2005). En seconde possibilité, la lésion du cortex moteur est d'origine ischémique chez le rat alors qu'elle consiste en une aspiration localisée du cortex moteur chez le chat. Dans le premier cas mais pas dans le second, des neurones corticospinaux ont pu survivre à la lésion et assurer le contrôle de la musculature distale, avec l'aide du faisceau corticospinal non croisé. Une dernière possibilité est que chez le rat le faisceau rubrospinal a pu se substituer au faisceau corticospinal comme précédemment suggéré par Kennedy et coll (1990).

Le laboratoire a précédemment montré que la lésion du cortex moteur induit un déficit sensitif et moteur de façon précoce mais transitoire, les animaux n'étant pas différents des rats contrôles dès la fin de la première semaine suivant l'induction de la lésion (Millerot-Serrurot et coll, 2007). Sur le plan sensitif, les animaux lésés présentent une héminégligence cutanée et une anomalie des réflexes proprioceptifs des pattes contralatérales à la lésion. Sur le plan moteur, ils sont incapables de traverser normalement une poutre étroite et surélevée. Différentes anomalies sont observées : l'animal tombe de la poutre ou reste immobile sur la poutre - la patte postérieure contralatérale à la lésion n'est pas utilisée pour le déplacement - également présence de faux pas avec les pattes avant ou arrière contralatérales à la lésion. Ces données suggèrent donc que la lésion n'est pas compatible avec une locomotion

volontaire qui requiert un contrôle étroit de l'équilibre. Pourtant la présente étude montre que ni les paramètres locomoteurs mesurés lors d'une course sur tapis roulant, ni la performance à franchir un obstacle fixé à la piste du tapis roulant, qui pourtant requiert un contrôle de l'équilibre, ne sont affectés par la lésion. Ces données nous amènent à formuler deux hypothèses ; la première est que la stimulation sensitive induite par le déroulement du tapis roulant ou encore le caractère imposé de la course sur tapis roulant pourrait masquer le déficit locomoteur. En accord avec cette hypothèse, il est bien connu que la lésion médullaire totale est compatible avec la génération d'une locomotion à la condition que l'animal soit placé sur un tapis roulant (Rossignol et coll, 2002 ; Leblond et coll, 2003). La seconde hypothèse est que le déficit locomoteur est révélé par le test de la poutre mais pas par la locomotion avec obstacle, car les voies qui contrôlent l'équilibre sont plus sollicitées pour le test de la poutre.

# **CONCLUSIONS et PERSPECTIVES**

Dans notre étude, nous avons utilisé le système optoélectronique VICON pour quantifier les paramètres locomoteurs de chacune des pattes du rat lors d'une course sur tapis roulant muni ou pas d'obstacle. Sur le plan technique, notre expérience révèle qu'une étape délicate est le repérage des sites cutanés sur lesquels seront posés les marqueurs. Cette étape est réalisée chez l'animal anesthésié et toute la prudence s'impose pour que la peau se retrouve effectivement tatouée en regard des reliefs osseux articulaires quand l'animal éveillé sera sur ses quatre pattes. Par ailleurs, chez le rat comme chez le chat ou la souris, le glissement de la peau au niveau des articulations est une source d'erreurs lorsque les angles articulaires sont calculés à partir de la position réelle du marqueur du genou. Cependant, nous avons montré que, pour une patte donnée, la distance entre les marqueurs condyle supérieur et inférieur de l'humérus et entre les marqueurs condyle inférieur de l'humérus et cheville n'évoluait pas de façon notable pendant les cycles locomoteurs, que la course soit ou non avec obstacles, suggérant que le glissement de la peau ne pose pas vraiment de problème dans l'interprétation des résultats. Actuellement très peu de laboratoires travaillent sur la cinématique de la locomotion chez le rongeur, probablement parce que l'imagerie du mouvement nécessite du matériel coûteux, une compétence ciblée de l'expérimentateur et consomme beaucoup de temps. Une avancée technologique dans le domaine serait d'ailleurs la possibilité de reconstruire le mouvement, non pas à partir de marqueurs, mais à partir de la reconnaissance des formes. Des expériences pilotes de notre laboratoire conduites avec la société Eyenetics suggèrent que cela est tout à fait possible.

Notre travail est le premier à décrire la stratégie utilisée par le rat pour franchir un obstacle, une tâche locomotrice qui nécessite une modification du pattern locomoteur de base, un bon placement des pattes devant l'obstacle avant qu'elles ne le franchissent, une élévation adéquate de leur l'extrémité distale et leur bon repositionnement après le franchissement. Dans notre étude, la hauteur de l'obstacle a été fixée à 3 cm, une hauteur importante au regard de la longueur des pattes (environ 7 cm) et la largeur de l'obstacle à 1,2 cm. Avec une telle hauteur d'obstacle, nous montrons que l'élévation des ceintures contribue de façon majeure à l'élévation de l'extrémité distale des pattes au dessus de l'obstacle. Il serait intéressant d'évaluer dans quelle mesure une telle contribution des ceintures persiste lorsque l'obstacle est moins haut. Par ailleurs, nous avons choisi de fixer les obstacles à la piste d'un tapis roulant. L'intérêt est triple : le premier est que le volume d'enregistrement est restreint car le rat ne se déplace pas. Le second est que la fréquence des cycles locomoteurs est imposée par la vitesse du tapis et de ce fait, reproductible d'un animal à l'autre. Le troisième intérêt est que la course

imposée sur tapis roulant limite les possibilités du rat à retirer les marqueurs avec ses dents. Cependant, l'utilisation du tapis présente des inconvénients : a) un certain nombre de rats (20 à 30%) est incapable d'effectuer une course régulière sur le tapis même après une certaine période d'habituation, b) le mouvement du tapis peut représenter un stimulus tactile capable de contrecarrer les effets propres de la lésion sur l'activité locomotrice, c) la course n'est pas volontaire mais imposée à l'animal. Nous pensons qu'il est possible d'étudier le passage d'obstacle lors d'un déplacement volontaire de l'animal. Les obstacles pourraient être placés sur une planche surélevée dont l'une des extrémités serait dotée d'une boîte sombre afin d'inciter le déplacement de l'animal. On peut préciser ici que la traversée d'une échelle horizontale est le paradigme expérimental le plus utilisé pour évaluer les déficits de la locomotion dirigée chez le rat. Cependant, ce type de tâche, à l'opposé du franchissement d'obstacles, n'est pas utilisé en clinique. De plus, lors de la traversée de l'échelle, l'animal garde une progression par bipèdes diagonaux avec posé successif de l'antérieur puis du postérieur, ce qui n'est pas le cas lors du passage d'obstacle qui est associé au passage de chacune des pattes antérieures puis chacune des pattes postérieures, les pattes conduisant la manoeuvre appartenant au même hémicorps. Aussi, le modèle de passage d'obstacles semble particulièrement adapté à l'étude des neurones commissuraux et des connections proprioceptives qui assurent la coordination entre les deux côtés de la moelle épinière et entre les pattes antérieures et postérieures.

Notre travail fournit également pour la première fois une étude détaillée de la locomotion après une lésion du système nerveux central chez le rat. En effet, les études disponibles ont toutes été réalisées chez le chat, si l'on excepte une étude récente conduite chez la souris avec une lésion de la moelle épinière (Courtine et coll, 2008). Un point original de notre travail est qu'il a exploré l'effet des lésions sur la locomotion stéréotypée d'une part et sur le franchissement d'obstacles d'autre part. La locomotion a d'abord été étudiée avant et après lésion unilatérale du striatum (administration locale de malonate, une neurotoxine). Les résultats montrent que la lésion striatale conduit à un déficit des deux formes de locomotion. De façon importante, le déficit est d'emblée maximal et se maintient au même niveau pendant les deux mois post-lésion. Ces données démontrent clairement que les voies nerveuses épargnées par la lésion ne peuvent pas compenser en cas de lésion striatale. Dit autrement, l'intégrité du striatum est nécessaire à la fonction locomotrice car tout se passe comme si les neurones striataux contenaient des programmes locomoteurs spécifiques. Le fait que le déficit locomoteur ne s'améliore pas après lésion totale du striatum laisse présager l'absence

d'efficacité des thérapeutiques ayant pour cible la plasticité neuronale. En accord avec cette idée, chez les rats hémi parkinsoniens, ni la performance à traverser une échelle horizontale ni l'asymétrie de la marche détectée par une plate-forme n'a été améliorée par une rééducation consistant en une course sur tapis roulant de 40 min/j pendant trente jours (Poulton et Muir, 2005). Il est prévu d'étudier au laboratoire l'effet d'une lésion partielle du striatum sur les deux formes de locomotion. Si une régression spontanée du déficit était observée, cela signifierait que les neurones striataux survivants peuvent se réorganiser sur le plan fonctionnel, et qu'une rééducation précoce ou une stratégie pharmacologique stimulant la neuroplasticité pourrait retarder le déficit locomoteur associé à un dysfonctionnement du striatum. La locomotion a ensuite été étudiée avant et après lésion du cortex moteur (occlusion locale des micro vaisseaux). Les résultats montrent que les deux formes de locomotion (avant et sans obstacle) sont réalisées sans aucune anomalie dès le lendemain (premier jour d'analyse) de l'induction de la lésion, du moins chez les trois rats inclus dans l'étude. Le laboratoire envisage de compléter l'étude: augmenter le nombre d'animaux, prolonger l'enregistrement après induction de la lésion, réaliser une étude histologique détaillée afin d'évaluer la survie éventuelle de certains neurones pyramidaux. En effet, on ne peut pas exclure qu'un nombre même limité de fibres corticospinales intactes suffise à préserver la fonction locomotrice. En faveur de cette hypothèse, la locomotion comme la déglutition et la respiration sont des fonctions indispensables à la survie des animaux et à ce titre, elles doivent se maintenir en dépit d'atteintes même sévères du cerveau.

Quoiqu'il en soit du résultat de nos futures études, la démonstration que l'effet de la lésion du cerveau sur la locomotion est du tout (lésion striatale) ou rien (lésion corticale) nous a déçue. Ce résultat remet en cause notre hypothèse de départ, selon laquelle l'étude de la locomotion sur tapis roulant par imagerie du mouvement représente un paradigme expérimental approprié pour quantifier le déficit sensorimoteur induit par la lésion corticale. Il suggère également que le déficit induit par la lésion complète du striatum, qui ne s'améliore pas de façon spontanée avec le temps, sera insensible à la thérapeutique. Cette déception est heureusement amoindrie par notre satisfaction d'avoir mis au point au laboratoire un modèle de locomotion dirigée chez le rat (passage d'obstacle) qui offre l'opportunité de décortiquer les voies nerveuses impliquées dans la modification volontaire du pattern locomoteur de base.



# **BIBLIOGRAPHIE**

Alexander LD, Black SE, Patterson KK, Gao F, Danells CJ, McIlroy WE (2009) Association between gait asymmetry and brain lesion location in stroke patients. *Stroke* 40:537-544.

Amende I, Kale A, McCue S, Glazier S, Morgan JP, Hampton TG (2005) Gait dynamics in mouse models of Parkinson's disease and Huntington's disease. *J Neuroeng Rehabil* 2:20.

Antal M, Sholomenko GN, Moschovakis AK, Storm-Mathisen J, Heizmann CW, Hunziker W (1992) The termination pattern and postsynaptic targets of rubrospinal fibers in the rat spinal cord: a light and electron microscopic study. *J Comp Neurol* 325:22-37.

Aravamuthan BR, McNab JA, Miller KL, Rushworth M, Jenkinson N, Stein JF, Aziz TZ (2009) Cortical and subcortical connections within the pedunculo-pontine nucleus of the primate *Macaca mulatta* determined using probabilistic diffusion tractography. *J Clin Neurosci* 16:413-420.

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

Armstrong DM (1988) The supraspinal control of mammalian locomotion. *J Physiol* 405:1-37.

Armstrong DM, Drew T (1984) Discharges of pyramidal tract and other motor cortical neurones during locomotion in the cat. *J Physiol* 346:471-495.

Ballermann M, Fouad K (2006) Spontaneous locomotor recovery in spinal cord injured rats is accompanied by anatomical plasticity of reticulospinal fibers. *Eur J Neurosci* 23:1988-1996.

Basso DM, Beattie MS, Bresnahan JC (1995) A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. *J Neurotrauma* 12:1-21.

Beloozerova IN, Sirota MG (1986) [Activity of neurons of the motor-sensory cortex of the cat during natural walking on the rungs of a horizontal ladder]. *Neirofiziologiya* 18:543-545.

Beloozerova IN, Sirota MG (1993) The role of the motor cortex in the control of accuracy of locomotor movements in the cat. *J Physiol* 461:1-25.

Bilney B, Morris ME, Churchyard A, Chiu E, Georgiou-Karistianis N (2005) Evidence for a disorder of locomotor timing in Huntington's disease. *Mov Disord* 20:51-57.

Boquillon M, Boquillon JP, Bralet J (1992) Photochemically induced, graded cerebral infarction in the mouse by laser irradiation evolution of brain edema. *J Pharmacol Toxicol Methods* 27:1-6.

Bouet V, Borel L, Harlay F, Gahery Y, Lacour M (2004) Kinematics of treadmill locomotion in rats conceived, born, and reared in a hypergravity field (2 g). Adaptation to 1 g. *Behav Brain Res* 150:207-216.

Bouet V, Boulouard M, Toutain J, Divoux D, Bernaudin M, Schumann-Bard P, Freret T (2009) The adhesive removal test: a sensitive method to assess sensorimotor deficits in mice. *Nat Protoc* 4:1560-1564.

Bretzner F, Drew T (2005) Contribution of the motor cortex to the structure and the timing of hindlimb locomotion in the cat: a microstimulation study. *J Neurophysiol* 94:657-672.

Brosamle C, Schwab ME (1997) Cells of origin, course, and termination patterns of the ventral, uncrossed component of the mature rat corticospinal tract. *J Comp Neurol* 386:293-303.

Broton JG, Nikolic Z, Suys S, Calancie B (1996) Kinematic analysis of limb position during quadrupedal locomotion in rats. *J Neurotrauma* 13:409-416.

Brown LT (1974) Rubrospinal projections in the rat. *J Comp Neurol* 154:169-187.

Brown TG, Sherrington CS (1912) The rule of reflex response in the limb reflexes of the mammal and its exceptions. *J Physiol* 44:125-130.

Brustein E, Rossignol S (1998) Recovery of locomotion after ventral and ventrolateral spinal lesions in the cat. I. Deficits and adaptive mechanisms. *J Neurophysiol* 80:1245-1267.

Buschges A (2005) Sensory control and organization of neural networks mediating coordination of multisegmental organs for locomotion. *J Neurophysiol* 93:1127-1135.

Butt SJ, Kiehn O (2003) Functional identification of interneurons responsible for left-right coordination of hindlimbs in mammals. *Neuron* 38:953-963.

Canu MH, Garnier C (2009) A 3D analysis of fore- and hindlimb motion during overground and ladder walking: comparison of control and unloaded rats. *Exp Neurol* 218:98-108.

Chang JY, Shi LH, Luo F, Woodward DJ (2006) Neural responses in multiple basal ganglia regions following unilateral dopamine depletion in behaving rats performing a treadmill locomotion task. *Exp Brain Res* 172:193-207.

Collazos-Castro JE, Lopez-Dolado E, Nieto-Sampedro M (2006) Locomotor deficits and adaptive mechanisms after thoracic spinal cord contusion in the adult rat. *J Neurotrauma* 23:1-17.

Conway BA, Hultborn H, Kiehn O (1987) Proprioceptive input resets central locomotor rhythm in the spinal cat. *Exp Brain Res* 68:643-656.

Courtine G, Song B, Roy RR, Zhong H, Herrmann JE, Ao Y, Qi J, Edgerton VR, Sofroniew MV (2008) Recovery of supraspinal control of stepping via indirect propriospinal relay connections after spinal cord injury. *Nat Med* 14:69-74.

Couto PA, Filipe VM, Magalhaes LG, Pereira JE, Costa LM, Melo-Pinto P, Bulas-Cruz J, Mauricio AC, Geuna S, Varejao AS (2008) A comparison of two-dimensional and three-dimensional techniques for the determination of hindlimb kinematics during treadmill locomotion in rats following spinal cord injury. *J Neurosci Methods* 173:193-200.

Da Cunha C, Wietzikoski EC, Ferro MM, Martinez GR, Vital MA, Hipolide D, Tufik S, Canteras NS (2008) Hemiparkinsonian rats rotate toward the side with the weaker dopaminergic neurotransmission. *Behav Brain Res* 189:364-372.

Dawes H, Enzinger C, Johansen-Berg H, Bogdanovic M, Guy C, Collett J, Izadi H, Stagg C, Wade D, Matthews PM (2008) Walking performance and its recovery in chronic stroke in relation to extent of lesion overlap with the descending motor tract. *Exp Brain Res* 186:325-333.

de Medinaceli L, Freed WJ, Wyatt RJ (1982) An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. *Exp Neurol* 77:634-643.

Delval A, Krystkowiak P, Blatt JL, Delliaux M, Destee A, Derambure P, Defebvre L (2008) [Evolution of locomotion disorders in Huntington's disease]. *Neurophysiol Clin* 38:117-125.

Demougeot C, Garnier P, Mossiat C, Bertrand N, Giroud M, Beley A, Marie C (2001) N-Acetylaspartate, a marker of both cellular dysfunction and neuronal loss: its relevance to studies of acute brain injury. *J Neurochem* 77:408-415.

Den Otter AR, Geurts AC, de Haart M, Mulder T, Duysens J (2005) Step characteristics during obstacle avoidance in hemiplegic stroke. *Exp Brain Res* 161:180-192.

Den Otter, A.R., Geurts, A.C., de Haart, M., Mulder, T. & Duysens, J. 2005. Step characteristics during obstacle avoidance in hemiplegic stroke. *Exp Brain Res*. 161, 180-192.

Deniau JM, Menetrey A, Charpier S (1996) The lamellar organization of the rat substantia nigra pars reticulata: segregated patterns of striatal afferents and relationship to the topography of corticostriatal projections. *Neuroscience* 73:761-781.

Dietz V (1995) Locomotor training in paraplegic patients. *Ann Neurol* 38:965.

Dietz V (2002) Proprioception and locomotor disorders. *Nat Rev Neurosci* 3:781-790.

Dietz V (2003) Spinal cord pattern generators for locomotion. *Clin Neurophysiol* 114:1379-1389.

Dietz V, Nakazawa K, Wirz M, Erni T (1999) Level of spinal cord lesion determines locomotor activity in spinal man. *Exp Brain Res* 128:405-409.

Dietz V, Michel J (2008) Locomotion in Parkinson's disease: neuronal coupling of upper and lower limbs. *Brain* 131:3421-3431.

Drew T (1993) Motor cortical activity during voluntary gait modifications in the cat. I. Cells related to the forelimbs. *J Neurophysiol* 70:179-199.

Drew T, Rossignol S (1984) Phase-dependent responses evoked in limb muscles by stimulation of medullary reticular formation during locomotion in thalamic cats. *J Neurophysiol* 52:653-675.

Drew T, Rossignol S (1990) Functional organization within the medullary reticular formation of intact unanesthetized cat. I. Movements evoked by microstimulation. *J Neurophysiol* 64:767-781.

Drew T, Rossignol S (1990) Functional organization within the medullary reticular formation of intact unanesthetized cat. II. Electromyographic activity evoked by microstimulation. *J Neurophysiol* 64:782-795.

Drew T, Jiang W, Widajewicz W (2002) Contributions of the motor cortex to the control of the hindlimbs during locomotion in the cat. *Brain Res Brain Res Rev* 40:178-191.

Drew T, Prentice S, Schepens B (2004) Cortical and brainstem control of locomotion. *Prog Brain Res* 143:251-261.

Drew T, Andujar JE, Lajoie K, Yakovenko S (2008) Cortical mechanisms involved in visuomotor coordination during precision walking. *Brain Res Rev* 57:199-211.

Duysens J, Pearson KG (1980) Inhibition of flexor burst generation by loading ankle extensor muscles in walking cats. *Brain Res* 187:321-332.

Eidelberg E, Yu J (1981) Effects of corticospinal lesions upon treadmill locomotion by cats. *Exp Brain Res* 43:101-103.

Faull RL, Carman JB (1968) Ascending projections of the substantia nigra in the rat. *J Comp Neurol* 132:73-92.

Feekes JA, Cassell MD (2006) The vascular supply of the functional compartments of the human striatum. *Brain* 129:2189-2201.

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

Filipe VM, Pereira JE, Costa LM, Mauricio AC, Couto PA, Melo-Pinto P, Varejao AS (2006) Effect of skin movement on the analysis of hindlimb kinematics during treadmill locomotion in rats. *J Neurosci Methods* 153:55-61.

Freret T, Bouet V, Leconte C, Roussel S, Chazalviel L, Divoux D, Schumann-Bard P, Boulouard M (2009) Behavioral deficits after distal focal cerebral ischemia in mice: Usefulness of adhesive removal test. *Behav Neurosci* 123:224-230.

Friel KM, Drew T, Martin JH (2007) Differential activity-dependent development of corticospinal control of movement and final limb position during visually guided locomotion. *J Neurophysiol* 97:3396-3406.

Garcia-Campany L, Stam FJ, Goulding M From circuits to behaviour: motor networks in vertebrates. *Curr Opin Neurobiol* 20:116-125.

Garcia-Rill E (1986) The basal ganglia and the locomotor regions. *Brain Res* 396:47-63.

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

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

Garnier C, Falempin M, Canu MH (2008) A 3D analysis of fore- and hindlimb motion during locomotion: comparison of overground and ladder walking in rats. *Behav Brain Res* 186:57-65.

Gimenez y Ribotta M, Orsal D, Feraboli-Lohnherr D, Privat A, Provencher J, Rossignol S (1998) Kinematic analysis of recovered locomotor movements of the hindlimbs in paraplegic rats transplanted with monoaminergic embryonic neurons. *Ann N Y Acad Sci* 860:521-523.

Goodale MA, Murison (1975) The effects of lesions of the superior colliculus on locomotion orientation and the orienting reflex in the rat. *Brain Res* 88:243-261.

Goulding M (2009) Circuits controlling vertebrate locomotion: moving in a new direction. *Nat Rev Neurosci* 10:507-518.

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

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

Grillner S, Rossignol S (1978) On the initiation of the swing phase of locomotion in chronic spinal cats. *Brain Res* 146:269-277.

Grillner S, McClellan A, Perret C (1981) Entrainment of the spinal pattern generators for swimming by mechano-sensitive elements in the lamprey spinal cord in vitro. *Brain Res* 217:380-386.

Grillner S, Wallen P (1985) Central pattern generators for locomotion, with special reference to vertebrates. *Annu Rev Neurosci* 8:233-261.



Grillner S, Wallen P (1985) The ionic mechanisms underlying N-methyl-D-aspartate receptor-induced, tetrodotoxin-resistant membrane potential oscillations in lamprey neurons active during locomotion. *Neurosci Lett* 60:289-294

Grillner S, Hellgren J, Menard A, Saitoh K, Wikstrom MA (2005) Mechanisms for selection of basic motor programs--roles for the striatum and pallidum. *Trends Neurosci* 28:364-370.

Haelewyn B, Freret T, Pacary E, Schumann-Bard P, Boulouard M, Bernaudin M, Bouet V (2007) Long-term evaluation of sensorimotor and mnemonic behaviour following striatal NMDA-induced unilateral excitotoxic lesion in the mouse. *Behav Brain Res* 178:235-243.

Jiang W, Drew T (1996) Effects of bilateral lesions of the dorsolateral funiculi and dorsal columns at the level of the low thoracic spinal cord on the control of locomotion in the adult cat. I. Treadmill walking. *J Neurophysiol* 76:849-866.

Kably B, Drew T (1998a) Corticoreticular pathways in the cat. I. Projection patterns and collaterization. *J Neurophysiol* 80:389-405.

Kably B, Drew T (1998b) Corticoreticular pathways in the cat. II. Discharge activity of neurons in area 4 during voluntary gait modifications. *J Neurophysiol* 80:406-424.

Kennedy PR (1990) Corticospinal, rubrospinal and rubro-olivary projections: a unifying hypothesis. *Trends Neurosci* 13:474-479.

Kiehn O (2006) Locomotor circuits in the mammalian spinal cord. *Annu Rev Neurosci* 29:279-306.

Kojima J, Yamaji Y, Matsumura M, Nambu A, Inase M, Tokuno H, Takada M, Imai H (1997) Excitotoxic lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus produce contralateral hemiparkinsonism in the monkey. *Neurosci Lett* 226:111-114.

Kuchler M, Fouad K, Weinmann O, Schwab ME, Raineteau O (2002) Red nucleus projections to distinct motor neuron pools in the rat spinal cord. *J Comp Neurol* 448:349-359.

Kurz MJ, Pothakos K, Jamaluddin S, Scott-Pandorf M, Arellano C, Lau YS (2007) A chronic mouse model of Parkinson's disease has a reduced gait pattern certainty. *Neurosci Lett* 429:39-42.

Lamontagne A, Stephenson JL, Fung J (2007) Physiological evaluation of gait disturbances post stroke. *Clin Neurophysiol* 118:717-729.

Lavoie S, Drew T (2002) Discharge characteristics of neurons in the red nucleus during voluntary gait modifications: a comparison with the motor cortex. *J Neurophysiol* 88:1791-1814.

Leblond H, L'Esperance M, Orsal D, Rossignol S (2003) Treadmill locomotion in the intact and spinal mouse. *J Neurosci* 23:11411-11419.

Lemon RN (2008) Descending pathways in motor control. *Annu Rev Neurosci* 31:195-218.

Li XG, Florence SL, Kaas JH (1990) Areal distributions of cortical neurons projecting to different levels of the caudal brain stem and spinal cord in rats. *Somatosens Mot Res* 7:315-335.

Matesz C, Kulik A, Bacskai T (2002) Ascending and descending projections of the lateral vestibular nucleus in the frog *Rana esculenta*. *J Comp Neurol* 444:115-128.

Matsuyama K, Drew T (2000a) Vestibulospinal and reticulospinal neuronal activity during locomotion in the intact cat. I. Walking on a level surface. *J Neurophysiol* 84:2237-2256.

Matsuyama K, Drew T (2000b) Vestibulospinal and reticulospinal neuronal activity during locomotion in the intact cat. II. Walking on an inclined plane. *J Neurophysiol* 84:2257-2276.

Matsuyama K, Mori F, Nakajima K, Drew T, Aoki M, Mori S (2004) Locomotor role of the corticoreticular-reticulospinal-spinal interneuronal system. *Prog Brain Res* 143:239-249.

McEwen ML, Stehouwer DJ (2001) Kinematic analyses of air-stepping of neonatal rats after mid-thoracic spinal cord compression. *J Neurotrauma* 18:1383-1397.

McGeorge AJ, Faull RL (1989) The organization of the projection from the cerebral cortex to the striatum in the rat. *Neuroscience* 29:503-537.

Metz GA, Dietz V, Schwab ME, van de Meent H (1998) The effects of unilateral pyramidal tract section on hindlimb motor performance in the rat. *Behav Brain Res* 96:37-46.

Metz GA, Merkler D, Dietz V, Schwab ME, Fouad K (2000) Efficient testing of motor function in spinal cord injured rats. *Brain Res* 883:165-177.

Metz GA, Whishaw IQ (2002) Cortical and subcortical lesions impair skilled walking in the ladder rung walking test: a new task to evaluate fore- and hindlimb stepping, placing, and coordination. *J Neurosci Methods* 115:169-179.

Metz GA, Tse A, Ballermann M, Smith LK, Fouad K (2005) The unilateral 6-OHDA rat model of Parkinson's disease revisited: an electromyographic and behavioural analysis. *Eur J Neurosci* 22:735-744.

Middleton FA, Strick PL (2000) Basal ganglia and cerebellar loops: motor and cognitive circuits. *Brain Res Brain Res Rev* 31:236-250.

Miklyaeva EI, Castaneda E, Whishaw IQ (1994) Skilled reaching deficits in unilateral dopamine-depleted rats: impairments in movement and posture and compensatory adjustments. *J Neurosci* 14:7148-7158.

Miklyaeva EI, Martens DJ, Whishaw IQ (1995) Impairments and compensatory adjustments in spontaneous movement after unilateral dopamine depletion in rats. *Brain Res* 681:23-40.

Miller MW (1987) The origin of corticospinal projection neurons in rat. *Exp Brain Res* 67:339-351.

Millerot-Serrurot E, Chausset A, Mossiat C, Prigent-Tessier A, Bertrand N, Garnier P, Beley A, Marie C (2007) Effect of early decrease in the lesion size on late brain tissue loss, synaptophysin expression and functionality after a focal brain lesion in rats. *Neurochem Int* 50:328-335.

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

Mori S, Ueda S, Yamada H, takino T and Sano Y (1985) Immunohistochemical demonstration of serotonin nerve fibers in the corpus striatum of the rat, cat and monkey. *Anat Embryol* 173:1-5.

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

Muir GD, Whishaw IQ (1999) Complete locomotor recovery following corticospinal tract lesions: measurement of ground reaction forces during overground locomotion in rats. *Behav Brain Res* 103:45-53.

Muir GD, Whishaw IQ (2000) Red nucleus lesions impair overground locomotion in rats: a kinetic analysis. *Eur J Neurosci* 12:1113-1122.

Nashner LM, Forssberg H (1986) Phase-dependent organization of postural adjustments associated with arm movements while walking. *J Neurophysiol* 55:1382-1394.

Newman DB, Liu RP (1987) Nuclear origins of brainstem reticulocortical systems in the rat. *Am J Anat* 178:279-299.

Ohlsson AL, Johansson BB (1995) Environment influences functional outcome of cerebral infarction in rats. *Stroke* 26:644-649.

Orlovsky GN (1972) Activity of vestibulospinal neurons during locomotion. *Brain Res* 46:85-98.

Orlovsky GN (1972b) Role of afferent activity in the generation of stepping movements. *Neurophysiology* 4:304-310.

Orlovsky GN, Deliagina TG, Wallen P (1992) Vestibular control of swimming in lamprey. I. Responses of reticulospinal neurons to roll and pitch. *Exp Brain Res* 90:479-488.

Pahapill PA, Lozano AM (2000) The pedunculopontine nucleus and Parkinson's disease. *Brain* 123 ( Pt 9):1767-1783.

Parent A (1990) Extrinsic connections of the basal ganglia. *Trends Neurosci* 13:254-258.

Parker SM, Sinnamon HM (1983) Forward locomotion elicited by electrical stimulation in the diencephalon and mesencephalon of the awake rat. *Physiol Behav* 31:581-587.

Pereira JE, Cabrita AM, Filipe VM, Bulas-Cruz J, Couto PA, Melo-Pinto P, Costa LM, Geuna S, Mauricio AC, Varejao AS (2006) A comparison analysis of hindlimb kinematics during overground and treadmill locomotion in rats. *Behav Brain Res* 172:212-218.

Petruska JC, Ichiyama RM, Jindrich DL, Crown ED, Tansey KE, Roy RR, Edgerton VR, Mendell LM (2007) Changes in motoneuron properties and synaptic inputs related to step training after spinal cord transection in rats. *J Neurosci* 27:4460-4471.

Postuma RB, Dagher A (2006) Basal ganglia functional connectivity based on a meta-analysis of 126 positron emission tomography and functional magnetic resonance imaging publications. *Cereb Cortex* 16:1508-1521.

Poulton NP, Muir GD (2005) Treadmill training ameliorates dopamine loss but not behavioral deficits in hemi-parkinsonian rats. *Exp Neurol* 193:181-197.

Prentice SD, Drew T (2001) Contributions of the reticulospinal system to the postural adjustments occurring during voluntary gait modifications. *J Neurophysiol* 85:679-698.

Rossignol S, Bouyer L, Barthelemy D, Langlet C, Leblond H (2002) Recovery of locomotion in the cat following spinal cord lesions. *Brain Res Brain Res Rev* 40:257-266.

Rossignol S, Dubuc R, Gossard JP (2006) Dynamic sensorimotor interactions in locomotion. *Physiol Rev* 86:89-154.

Said CM, Goldie PA, Patla AE, Sparrow WA, Martin KE (1999) Obstacle crossing in subjects with stroke. *Arch Phys Med Rehabil* 80:1054-1059.

Said, C.M., Goldie, P.A., Patla, A.E. & Sparrow, W.A. (2001) Effect of stroke on step characteristics of obstacle crossing. *Arch Phys Med Rehabil.* 82, 1712-1719.

Said, C.M., Goldie, P.A., Culham, E., Sparrow, W.A., Patla, A.E. & Morris, M.E. (2005) Control of lead and trail limbs during obstacle crossing following stroke. *Phys Ther.* 85, 413-427.

Said CM, Goldie PA, Patla AE, Culham E, Sparrow WA, Morris ME (2008) Balance during obstacle crossing following stroke. *Gait Posture* 27:23-30.

Satoh K (1979) The origin of reticulospinal fibers in the rat: a HRP study. *J Hirnforsch* 20:313-322.

Schwanzel-Fukuda M, Morrell JI, Pfaff DW (1984) Localization of forebrain neurons which project directly to the medulla and spinal cord of the rat by retrograde tracing with wheat germ agglutinin. *J Comp Neurol* 226:1-20.

Shi LH, Luo F, Woodward DJ, Chang JY (2004) Neural responses in multiple basal ganglia regions during spontaneous and treadmill locomotion tasks in rats. *Exp Brain Res* 157:303-314.

Shik ML, Orlovsky GN (1976) Neurophysiology of locomotor automatism. *Physiol Rev* 56:465-501.

Skinner RD, Kinjo N, Ishikawa Y, Biedermann JA, Garcia-Rill E (1990) Locomotor projections from the pedunculopontine nucleus to the medioventral medulla. *Neuroreport* 1:207-210.

Takakusaki K, Habaguchi T, Ohtinata-Sugimoto J, Saitoh K, Sakamoto T (2003) Basal ganglia efferents to the brainstem centers controlling postural muscle tone and locomotion: a

new concept for understanding motor disorders in basal ganglia dysfunction. *Neuroscience* 119:293-308.

Thelen E, Bradshaw G, Ward JA (1981) Spontaneous kicking in month-old infants: manifestation of a human central locomotor program. *Behav Neural Biol* 32:45-53.

Thota A, Carlson S, Jung R (2001) Recovery of locomotor function after treadmill training of incomplete spinal cord injured rats. *Biomed Sci Instrum* 37:63-67.

Thota AK, Watson SC, Knapp E, Thompson B, Jung R (2005) Neuromechanical control of locomotion in the rat. *J Neurotrauma* 22:442-465.

Van Hoecke M, Prigent-Tessier A, Bertrand N, Prevotat L, Marie C, Beley A (2005) Apoptotic cell death progression after photothrombotic focal cerebral ischaemia: effects of the lipophilic iron chelator 2,2'-dipyridyl. *Eur J Neurosci* 22:1045-1056.

Varejao AS, Melo-Pinto P, Meek MF, Filipe VM, Bulas-Cruz J (2004) Methods for the experimental functional assessment of rat sciatic nerve regeneration. *Neurol Res* 26:186-194.

Varejao AS, Filipe VM (2007) Contribution of cutaneous inputs from the hindpaw to the control of locomotion in rats. *Behav Brain Res* 176:193-201.

Veening JG, Cornelissen FM, Lieven PA (1980) The topical organization of the afferents to the caudatoputamen of the rat. A horseradish peroxidase study. *Neuroscience* 5:1253-1268.

Vlamings R, Visser-Vandewalle V, Koopmans G, Joosten EA, Kozan R, Kaplan S, Steinbusch HW, Temel Y (2007) High frequency stimulation of the subthalamic nucleus improves speed of locomotion but impairs forelimb movement in Parkinsonian rats. *Neuroscience* 148:815-823.

Wagner J, Stephan T, Kalla R, Bruckmann H, Strupp M, Brandt T, Jahn K (2008) Mind the bend: cerebral activations associated with mental imagery of walking along a curved path. *Exp Brain Res* 191:247-255.

Wang Y, Bontempi B, Hong SM, Mehta K, Weinstein PR, Abrams GM, Liu J (2008) A comprehensive analysis of gait impairment after experimental stroke and the therapeutic effect of environmental enrichment in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 28:1936-1950.

Watson BD, Dietrich WD, Busto R, Wachtel MS, Ginsberg MD (1985) Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis. *Ann Neurol* 17:497-504.

Webb AA, Muir GD (2003) Unilateral dorsal column and rubrospinal tract injuries affect overground locomotion in the unrestrained rat. *Eur J Neurosci* 18:412-422.

Whishaw IQ, Coles BL, Pellis SM, Miklyaeva EI (1997) Impairments and compensation in mouth and limb use in free feeding after unilateral dopamine depletions in a rat analog of human Parkinson's disease. *Behav Brain Res* 84:167-177.

Whishaw, I.Q. & Metz, G.A. 2002. Absence of impairments or recovery mediated by the uncrossed pyramidal tract in the rat versus enduring deficits produced by the crossed pyramidal tract. *Behav Brain Res*. 134, 323-336.

Widajewicz W, Kably B, Drew T (1994) Motor cortical activity during voluntary gait modifications in the cat. II. Cells related to the hindlimbs. *J Neurophysiol* 72:2070-2089.

Yu J, Eidelberg E (1981) Effects of vestibulospinal lesions upon locomotor function in cats. *Brain Res* 220:179-183.

Zhu LL, Lindenberg R, Alexander MP, Schlaug G (2010) Lesion load of the corticospinal tract predicts motor impairment in chronic stroke. *Stroke* 41:910-915.



## **Titre : Locomotion et franchissements d'obstacles après lésion cérébrale. Etude cinématique chez le rat**

### **Résumé**

Les tests couramment utilisés pour évaluer le déficit sensori-moteur induit par une lésion du cerveau chez le rat posent problèmes en termes de sensibilité, d'objectivité et de quantification. Nous avons émis l'hypothèse selon laquelle l'analyse 3D de la cinématique de la locomotion constitue un paradigme expérimental approprié pour quantifier un tel déficit. Aussi, la locomotion a été étudiée lors d'une course sur tapis roulant (25 cm/s) muni ou pas d'obstacles (deux obstacles de 3cm de haut et 1,2 cm de large) à l'aide du système optoélectronique VICON. Le mouvement des quatre pattes a été simultanément enregistré avant et après induction d'une lésion unilatérale soit du striatum (mort d'origine métabolique des neurones striataux) soit du cortex cérébral (infarctus du cortex moteur) chez le rat adulte. Le laboratoire a précédemment montré que ces deux modèles de lésion conduisaient à une anomalie plus ou moins durable de la traversée d'une poutre étroite et surélevée, test classiquement utilisé pour évaluer la locomotion du rat. La première étude décrit pour la première fois la stratégie utilisée par le rat pour franchir un obstacle. Elle révèle que le franchissement s'accompagne d'une rupture complète du pattern locomoteur de base et que l'élévation des ceintures contribue de façon notable au passage de chacune des pattes au-dessus de l'obstacle. La seconde étude montre que la lésion du striatum s'accompagne d'un déficit locomoteur durable lors des deux modalités de course, l'anomalie portant sélectivement sur les pattes contralatérales à la lésion. Plus précisément, ces pattes présentent une flexion exagérée pendant la phase d'appui dont la durée est augmentée. Par ailleurs, lorsque la patte antérieure opposée à la lésion conduit la manœuvre de franchissement, elle prend fréquemment appui sur l'obstacle suite à une initiation trop précoce de son élévation. Dans ce cas, la patte postérieure homolatérale franchit ou non correctement l'obstacle. L'ensemble de ces résultats suggère l'implication du striatum dans la programmation des mouvements guidés par la vue. La dernière expérience montre qu'aucune des modalités de locomotion n'est affectée par la lésion corticale, suggérant que le faisceau corticospinal n'est indispensable ni à la locomotion ni à son adaptation à l'environnement. En conclusion, notre travail montre que nos modalités d'enregistrement de la locomotion sont appropriées pour quantifier le déficit fonctionnel induit par une lésion du striatum, mais pas celui induit par une lésion du cortex moteur. Il serait intéressant de répéter les expériences lors d'une course volontaire, de manière à s'affranchir de la stimulation sensitive générée par le déroulement du tapis sous les pattes et d'étudier la réversibilité du déficit en cas de lésion partielle du striatum.

### **Mots clés**

**Locomotion, Cinématique, Lésion cérébrale, rat, passage d'obstacle**