HAL
open science

Propriétés électrophysiologiques intrinsèques des neurones vestibulaires centraux en conditions physiologiques et physiopathologiques

Mathieu Beraneck

To cite this version:

Mathieu Beraneck. Propriétés électrophysiologiques intrinsèques des neurones vestibulaires centraux en conditions physiologiques et physiopathologiques. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2004. Français. NNT : . tel-00007257

HAL Id: tel-00007257

https://theses.hal.science/tel-00007257v1

Submitted on 29 Oct 2004

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 PARIS 6 - PIERRE ET MARIE CURIE

U.F.R des Sciences de la Vie

École Doctorale 3C « Cerveau, Cognition, Comportement »

THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE PARIS 6

Discipline

NEUROSCIENCES

Présentée par

M. BERANECK Mathieu

PROPRIETES ELECTROPHYSIOLOGIQUES INTRINSEQUES DES NEURONES VESTIBULAIRES CENTRAUX EN CONDITIONS PHYSIOLOGIQUES ET PHYSIOPATHOLOGIQUES

Thèse dirigée par M. VIDAL Pierre-Paul

Soutenue le 28 septembre 2004

Rapporteurs :

M. DIERINGER Norbert

M. VINAY Laurent

Examinateurs :

Mme. TRITSCH Danièle

M. NAGY Frédéric

M. VIDAL Pierre-Paul

A mes parents, à Myriam,

Et nox facta est

Depuis quatre mille ans il tombait dans l'abîme

Il n'avait pas encor pu saisir une cime,
Ni lever une fois son front démesuré.
Il s'enfonçait dans l'ombre et la brume, effaré,
Seul, et derrière lui, dans les nuits éternelles,
Tombaient plus lentement les plumes de ses ailes.
Il tombait foudroyé, morne silencieux,
Triste, la bouche ouverte et les pieds vers les cieux,
L'horreur du gouffre empreinte à sa face livide.
Il cria: - Mort! - les poings tendus vers l'ombre vide.
Ce mot plus tard fut homme et s'appela Caïn.
Il tombait. Tout à coup un roc heurta sa main;
Il l'étreignit, ainsi qu'un mort étreint sa tombe,
Et s'arrêta.
Quelqu'un, d'en haut, lui cria: - Tombe!
Les soleils s'éteindront autour de toi, maudit! -
Et la voix dans l'horreur immense se perdit.
(…)
Or, près des cieux, au bord du gouffre où rien ne change,
Une plume échappée à l'aile de l'archange
Etait restée, et pure et blanche, frissonnait.
L'ange au front de qui l'aube éblouissante naît,
La vit, la prit, et dit, l'oeil, sur le ciel sublime:
- Seigneur, faut-il qu'elle aille, elle aussi, dans l'abîme? -
Il leva la main, Lui par la vie absorbé,
Et dit: - Ne jetez pas ce qui n'est pas tombé.
(…)

Victor Hugo. La fin de Satan. Hors de la terre I (1860)

Remerciements

Ma première pensée va à ma famille, mes parents, et Myriam qui m'ont aidé à mener à bien cette thèse. Merci pour tout ce que vous me donnez depuis si longtemps. Je voudrais leur associer Jérôme Lafont, mon éternel binôme, qui a été irremplaçable tout au long de mes études de Biologie.

Je tiens à remercier ici les membres du Laboratoire de Neurobiologie des Réseaux Sensorimoteurs. Je voudrais leur dire à tous combien j'ai eu plaisir à faire partie de ce groupe depuis mon arrivée il y a cinq ans. J'ai eu l'occasion pendant cette période de rencontrer des personnes intéressantes, attentionnées, et très professionnelles.

J'ai trouvé au sein de ce laboratoire l'occasion de rencontres internationales. Je voudrais saluer mes amis et collègues Tamas Patko et Atsuhiko Uno. Ce dernier a pris une part importante dans le bon déroulement de ma thèse. J'espère avoir encore de nombreuses occasions de les retrouver.

Je voudrais profiter de cette occasion pour exprimer ma gratitude à Catherine de Waele qui a si bien pris en charge mes sensations vertigineuses, m'évitant ainsi de devenir mon propre sujet d'étude.

J'aimerais remercier particulièrement Lyndell Eleore pour sa constante bonne humeur, ainsi qu'Antonio Campos-Torres, qui ont su plusieurs fois m'aider quand cela était nécessaire. Je remercie également Antonio pour nos discussions scientifiques enrichissantes et pour ses conseils avisés concernant les interactions neurones-glie.

Je dois également souligner le soutien incomparable apporté par Erwin Idoux qui a, par son travail et sa gentillesse, énormément contribué à mon bien-être dans le laboratoire. Je voudrais également le remercier pour son aide quant à la rédaction et la relecture de ce manuscrit.

Au cours de ma seconde année de thèse, j'ai effectué un stage de six mois au sein du Département de Physiologie de l'université Ludwing-Maximilian de Munich. Je voudrais remercier Norbert Dieringer, Martin Roheregger, et Sandra Pfanzelt et Hans Straka pour l'accueil qu'ils m'ont réservé là-bas. Je tiens également à remercier M. Dieringer pour avoir accepté de juger ce travail en tant que rapporteur. J'aimerais avoir une pensée pour Lucia Schindler qui m'a aidé lors de mon installation à Munich et nous a malheureusement quittés.

Ce stage a été rendu possible et supervisé par Hans que je dois remercier pour tous les bénéfices que j'ai retirés de cette collaboration, mais aussi pour ses conseils avisés, ses encouragements, et ses nombreuses aides tant dans ma formation doctorale, que dans la poursuite de ma carrière et dans la rédaction de ce manuscrit.

J'ai pu, parallèlement à cette thèse, assurer quelques fonctions d'enseignement. Martin Oheim à l'ESPCI, et tout particulièrement Frédéric Charbonnier à l'université d'Evry, m'ont fait l'honneur de m'accorder leur confiance, et ont guidé mon initiation à ce métier. J'ai eu énormément de plaisir à interagir avec eux à ces occasions.

Je voudrais remercier M. Vinay pour avoir accepté d'être rapporteur de mon travail, ainsi que M. Nagy et Mme Tritsch qui ont accepté de participer au jury.

Cette thèse a notamment été rendue possible grâce au soutien de la C*ommission Européenne*, qui a permis mon stage à Munich dans le cadre du programme d'échange « Marie-Curie » (QLK5-CT-2000-60087). Ma dernière année de thèse a été financée par une bourse de fin de thèse de la *Fondation pour la Recherche Médicale* (FDT 20030627138).

Je suis extrêmement reconnaissant à M. Vidal d'avoir supervisé mon parcours au sein du L.N.R.S. J'apprécie tout particulièrement son implication dans le devenir de ses étudiants, son enthousiasme prononcé pour les expériences, et de manière plus générale, son optimisme. Si j'ai eu tant de plaisir à évoluer dans ce laboratoire, cela est sans aucun doute lié à la gestion humaine qui y est appliquée par son directeur.

Enfin, je voudrais saluer les deux personnes qui ont occupé un rôle central dans le déroulement de ma thèse : messieurs Lee Moore et Nicolas Vibert. Je tenais à souligner l'importance que leur présence conjointe a eue pour moi, de par leur très grande complémentarité scientifique et humaine. Je suis très fier d'avoir travaillé sous leur direction.

Lee a toujours su trouver les mots d'encouragement quand cela était nécessaire. Il a veillé aussi bien à la qualité théorique et méthodologique de mon travail qu'à mon développement personnel. Sa présence m'a souvent permis de continuer à aller de l'avant. Je voudrais lui témoigner ici ma plus sincère gratitude.

Certaines rencontres ont cette particularité de changer radicalement un parcours. Ma rencontre avec Nicolas est de celles-là, car sans lui je n'aurais sans doute jamais débuté une thèse. J'ai conscience du risque personnel, de la somme de travail et de soucis que le fait

d'encadrer mon doctorat a représenté pour lui. Je lui suis très reconnaissant d'avoir dépensé autant d'énergie à me former scientifiquement en me montrant la rigueur et la discipline que réclament les études expérimentales. Je tiens à le remercier pour sa patience et sa diplomatie, pour ses nombreuses attentions et ses quelques colères. Merci, Nicolas, pour y avoir cru et m'avoir permis d'y croire.

RESUME

Nous nous sommes attachés à étudier les propriétés électrophysiologiques intrinsèques des neurones vestibulaires centraux. Notre objectif était de déterminer les propriétés fonctionnelles de différentes populations de neurones enregistrés au sein d'un même noyau. Plus précisément, deux types cellulaires ont été décrits au sein du noyau vestibulaire médian (NVM) à partir de la forme de leurs potentiels d'action : il s'agit des neurones de type A et B. Afin de comprendre la pertinence physiologique de cette classification, nous avons comparé les propriétés intrinsèques de groupes de neurones enregistrés dans différentes conditions au sein des noyaux vestibulaires centraux. Nous avons (1) étudié le comportement des neurones du NVM en conditions contrôles. (2) Nous avons étudié la plasticité post-lésionelle des propriétés intrinsèques de ces neurones. (3) Par la suite, nous avons comparé les neurones du NVM et du noyau vestibulaire latéral (NVL) en conditions normales. (4) Finalement nous avons comparé les propriétés des neurones vestibulaires enregistrés chez le cobaye à celles des neurones enregistrés chez la grenouille. Nos études de la plasticité à long terme des propriétés électrophysiologiques des neurones vestibulaires médians au cours de la compensation vestibulaire (1) et (2) nous ont permis de montrer que la labyrinthectomie unilatérale affecte différemment les neurones vestibulaires situés de part et d'autre du tronc cérébral. Les neurones ipsilatéraux à la lésion développent des propriétés de décharge plus toniques qu'en contrôle, alors que les neurones contralatéraux à la lésion développent des propriétés de décharge plus phasiques. D'un point de vue fonctionnel, certaines des modifications observées favoriseront la compensation comportementale des déficits induits par la labyrinthectomie unilatérale, mais d'autres rendront au contraire certaines réponses définitivement impossibles. Puis, en (3), l'extension de nos études aux neurones de Deiters du NVL chez le cobaye a montré comment la fonction particulière des cellules d'un noyau peut déterminer l'expression de leurs conductances. Finalement, en (4), la comparaison des propriétés des neurones vestibulaires centraux de deux espèces nous a permis de proposer une organisation des voies centrales vestibulaires en voies fréquentielles complémentaires de traitement des informations sensorielles. Au sein de chaque espèce, nous retrouvons la même distinction fonctionnelle entre les neurones toniques à réponses plutôt linéaires et les neurones phasiques pourvus de non-linéarités importantes, suggérant une conservation de l'organisation de base du système vestibulaire chez les Vertébrés. L'ensemble de mes résultats peut être interprété dans le cadre d'une coadaptation des propriétés intrinsèques et des entrées synaptiques reçues par les neurones.

SUMMARY

The rationale of this thesis is to investigate both the resting and the dynamical properties of central vestibular neurons. A principal objective of this work is to determine the functional properties of different populations of neurons within a particular nucleus. In particular, two neuronal groups in the medial vestibular nucleus (MVN), type A and type B, having different action potential profiles, were investigated to evaluate their resting and dynamical properties. In order to address these issues, we compared different central vestibular neurons recorded under several experimental conditions. Namely, we studied (1) the behaviour of normal MVN neurons, (2) the plasticity of the intrinsic properties of MVN neurons after lesions, (3) the properties of vestibular neurons located in the lateral nucleus, and finally (4) the characterictics of vestibular neurons in another species, the frog. For (1) and (2), long term studies of the plasticity of MVN neurons intrinsic properties following unilateral labyrinthectomy showed that the lesion differentially affects ipsi and contralesional neurons. Ipsilesional MVN neurons developed more tonic discharge properties while contralesional MVN neurons evolved towards more phasic discharge properties. From a functional point of view, some of these neural modifications might help to restore the deficits triggered by the lesion, whereas others will indefinitly impaire the behaviour. On (3), a comparison of the normal electrophysiological intrinsic properties of MVN neurons and of the giant Deiters' neurons located in the lateral vestibular nuclei recorded in control conditions was performed. This shows that a particular function of neurons appears to be directly correlated with its electrophysiological intrinsic properties. Finally in (4), the properties of guinea-pig and frog central vestibular neurons were compared. Central vestibular pathways are organized in complementary, frequency tuned channels. The neuronal populations constituting those overlapping channels were involved in common motor tasks. These studies suggest that in both frog and guinea-pig, the central vestibular system consists of essentially linear tonic neurons and more nonlinear phasic neurons. Thus it would appear that the basic organization of the vestibular system is conserved throughout Vertebrates. These results are interpreted within the framework of a coadaptation between the intrinsic electrophysiological properties and the synaptic inputs for particular neurons.

Table des matières

PRESENTATION 14

QUELQUES REPERES HISTORIQUES.....17

INTRODUCTION GENERALE 23

A. ANATOMIE MORPHO-FONCTIONNELLE DU SYSTEME VESTIBULAIRE.....24

A.I. LE SYSTEME VESTIBULAIRE PERIPHERIQUE 24

A.I.1. Les récepteurs sensoriels 24

A.I.1.1 Anatomie générale..... 24

A.I.1.2 Les cellules ciliées..... 27

A.I.2. Innervation par les neurones vestibulaires sensoriels 29

A.I.3. Innervation par le système efférent.....31

A.II. NEURONES VESTIBULAIRES SENSORIELS : DONNEES ANATOMIQUES ET ELECTROPHYSIOLOGIQUES 31

A.II.1. Anatomie du nerf vestibulo-cochléaire.....31

A.II.2. Electrophysiologie des neurones vestibulaires sensoriels.....32

A.III. LES NOYAUX VESTIBULAIRES CENTRAUX 34

A.III.1. Anatomie des neurones et des noyaux vestibulaires centraux.....35

A.III.2. Afférences vestibulaires des noyaux vestibulaires centraux.....35

A.III.2. Convergence des fibres sensorielles sur les noyaux vestibulaires centraux 36

A.III.4. Afférences non vestibulaires des noyaux vestibulaires centraux.....39

A.IV. EFFERENCES DES NOYAUX VESTIBULAIRES ET CONTROLE DU REGARD ET DE LA POSTURE.....41

A.IV.1. Anatomie des projections vestibulaires et physiologie des motoneurones 42

A.IV.2. Le réflexe vestibulo-oculaire angulaire horizontal (RVOh) 44

A.IV.2.1. Les phases lentes 46

A.IV.2.2. Intégrateur neuronal..... 47

A.IV.2.3. Les phases rapides 48

B. LES NEURONES VESTIBULAIRES SECONDAIRES.....50

B.I. PROPRIETES ELECTROPHYSIOLOGIQUES DES NEURONES VESTIBULAIRES SECONDAIRES CHEZ L'ANIMAL ADULTE.....50

B.I.1. Données obtenues in vivo 50

B.I.2. Données obtenues in vitro.....56

B.I.2.1. Classification des neurones du noyau vestibulaire médians *in vitro*..... 57

B.I.2.2. Principales conductances exprimées par les neurones vestibulaires secondaires..... 61

B.I.3. Correspondance entre la classification des neurones du noyau vestibulaire médian en type A/type B et leur classification utilisées in vivo.....64

B.II. EMBRYOGENESE ET DEVELOPPEMENT ELECTROPHYSIOLOGIQUE DU SYSTEME VESTIBULAIRE.....66

B.II.1. Embryogenèse du système vestibulaire 66

B.II.2. Maturation des propriétés électrophysiologiques des neurones vestibulaires secondaires 68

B.III. NEUROCHIMIE DES NEURONES VESTIBULAIRES SECONDAIRES 70

B.III.1. Le système glutamatergique..... 71

B.III.2. Le système des acides aminés inhibiteurs, GABA et glycine..... 72

C. LA COMPENSATION VESTIBULAIRE : UN MODELE D'ETUDE DE LA PLASTICITE DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL.....74

C.I. LA NOTION DE PLASTICITE.....74

C.II. SYSTEME VESTIBULAIRE ET PLASTICITE.....75

C.II.1. Les troubles statiques 76

C.II.2. Les troubles dynamiques 78

C.III. MECANISMES CELLULAIRES DE LA COMPENSATION VESTIBULAIRE 78

C.III.1. Electrophysiologie des neurones vestibulaires secondaires au cours de la compensation.....79

C.III.2. Quelles sont les hypothèses qui expliqueraient la récupération d'une décharge spontanée par les neurones vestibulaires déafférentés ?.....81

C.III.2.1.Changements de l'activité des réseaux de neurones..... 81

Influence de la vision 81

Influence de la proprioception et des informations somatosensorielles..... 81

Influence du cervelet 82

L'influence du cortex..... 82

C.III.2.2. Changements des neurones vestibulaires 83

Modifications synaptique 83

Modifications des propriétés intrinsèques des neurones vestibulaires..... 84

C.III.3 Corrélats non-neuronaux de la compensation vestibulaire : l'hypothèse gliale 85

C.III.4 Corrélats moléculaires de la compensation.....86

Expression de neurotrophines et de cytokines..... 86

Phosphorylation des protéines..... 87

C.IV. ASPECTS TEMPORELS DE LA COMPENSATION VESTIBULAIRE 87

C.IV.1 Le phénomène de Bechterew *87*
C.IV.2. La top-down hypothesis *89*
C.IV.2.1. Récupération initiale à l'aide d'autres systèmes sensorimoteurs 89
C.IV.2.2. Changements au niveau des réseaux neuronaux 90

TRAVAUX EXPERIMENTAUX 92

A. ETUDE DES PROPRIETES MEMBRANAIRES DES NEURONES VESTIBULAIRES MEDIANS IPSILATERAUX ENREGISTRES UN MOIS APRES LABYRINTHECTOMIE UNILATERALE : *BERANECK ET COL. 2003* 93

A.1 CONTEXTE SCIENTIFIQUE 93
A.2 BUTS DE L'ETUDE 95
A.3 RESUME EN FRANÇAIS 96
A.4 CONCLUSION 117

B. ETUDE DES PROPRIETES MEMBRANAIRES DES NEURONES VESTIBULAIRES MEDIANS CONTRALATERAUX ENREGISTRES UN MOIS APRES LABYRINTHECTOMIE UNILATERALE : *BERANECK ET COL. 2004* 118

B.1 CONTEXTE SCIENTIFIQUE 118
B.2 BUTS DE L'ETUDE 119
B.3 RESUME EN FRANÇAIS 119
B.4 CONCLUSION 138

C. COMPARAISON DES PROPRIETES DE REPOS ET DES REPONSES DYNAMIQUES DES NEURONES DES NOYAUX VESTIBULAIRES MEDIANS ET LATERAUX ENREGISTRES CHEZ LE COBAYE : *UNO ET COL. 2003* 139

C.1 CONTEXTE SCIENTIFIQUE 139
C.2 BUT DE L'ETUDE 140
C.3 RESUME EN FRANÇAIS 140
C.4 CONCLUSION 157

D. COMPARAISON DES PROPRIETES MEMBRANAIRES INTRINSEQUES DES NEURONES VESTIBULAIRES CENTRAUX CHEZ LA GRENOUILLE ET LE COBAYE : *STRAKA ET COL. 2004* 158

D.1 CONTEXTE SCIENTIFIQUE 158
D.2 BUT DE L'ETUDE.....159
D.3 RESUME.....159
D.4 CONCLUSION 178

DISCUSSION GENERALE.....179

A. PROPOS INTRODUCTIFS 180

A.1 DEMARCHE SCIENTIFIQUE : UNE APPROCHE PHYSIOLOGIQUE 180
A.2 DEMARCHE EXPERIMENTALE : UNE APPROCHE QUANTITATIVE DES PROPRIETES MEMBRANAIRES INTRINSEQUES AVEC LA MODELISATION POUR AMBITION.....180
A.3 DEMARCHE EXPERIMENTALE : LES LIMITES.....182

B. LES PROPRIETES INTRINSEQUES DANS LE CADRE DE LA COMPENSATION VESTIBULAIRE.....185

B.1 LA LABYRINTHECTOMIE UNILATERALE : UN MODELE COMPLEXE DE PLASTICITE POST-LESIONNELLE 185
B.2 LA COMPENSATION VESTIBULAIRE COMME PHENOMENE D'HOMEOSTASIE ET DE PLASTICITE ACTIVITE DEPENDANTE.....186
B.3 LES NEURONES DE TYPE B FACE A LA PERTE DES AFFERENCES VESTIBULAIRES.....189
B.4 HYPOTHESES CONCERNANT LES MECANISMES CELLULAIRES A L'ORIGINE DES CHANGEMENTS DES PROPRIETES INTRINSEQUES 191
B.5 ROLE DES CHANGEMENTS DE PROPRIETES INTRINSEQUES DANS LA COMPENSATION VESTIBULAIRE 194

C. AVANCEES CONCERNANT LA PHYSIOLOGIE DU SYSTEME VESTIBULAIRE 199

C1. CONCEPTS DE VOIES DE TRAITEMENT DES INFORMATIONS SENSORIELLES 199
C2. LES PROPRIETES INTRINSEQUES DYNAMIQUES DES NEURONES VESTIBULAIRES DE GRENOUILLE SUGGERENT L'EXISTENCE DE VOIES FREQUENTIELLES SUPERPOSEES DE TRAITEMENT DES INFORMATIONS DANS LES NOYAUX VESTIBULAIRES CENTRAUX 200

C3. EQUIVALENCE FONCTIONNELLE ET COMPARAISON DES NEURONES VESTIBULAIRES DE COBAYE ET DE GRENOUILLE....202

D. LES PROPRIETES INTRINSEQUES AU SEIN DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL....205

D.1. LES PROPRIETES INTRINSEQUES RENCONTREES DANS LES NEURONES VESTIBULAIRES SONT PRESENTES DANS D'AUTRES NEURONES DU TRONC CEREBRAL....205

D.2. EVOLUTION COMPAREE DES PROPRIETES INTRINSEQUES ENREGISTREES AU REPOS ET DES REPONSES DYNAMIQUES DES NEURONES....207

D.3. COADAPTATION DES PROPRIETES INTRINSEQUES ET DES ENTREES SYNAPTIQUES D'UN NEURONE....208

E. PERSPECTIVES....215

E.1 IMPLICATIONS CLINIQUES : VERS UNE PRESERVATION DES PROPRIETES INTRINSEQUES DES NEURONES VESTIBULAIRES ?....215

E.2 EXPERIENCES *IN VIVO* : IDENTIFICATION DES NEURONES DE TYPE A ET DE TYPE B ; EVOLUTION DES PROPRIETES DES AFFERENCES VESTIBULAIRES CONTRALATERALES A LA LESION....216

E.2.1. Identification des neurones de type A et B in vivo. Application de nos données issues de la modélisation....216

E.2.2. Evolution des afférences contralatérales à la lésion....218

E.3. EXPERIENCES ET TECHNIQUES D'ETUDES *IN VITRO*....219

E.3.1. Vérification expérimentale de nos résultats : l'intérêt de la labyrinthectomie bilatérale....219

E.3.2. Préparations permettant d'étudier l'intégration synaptique....219

E.3.3. Le rôle du calcium intracellulaire dans la différenciation des neurones de type A et B....220

CONCLUSION....222

ANNEXES....224

BIBLIOGRAPHIE....231

Présentation

Mon champ de recherche est celui des Neurosciences Intégratives, dont le but est de comprendre les processus neuronaux qui permettent le codage de l'information dans le cerveau en activité.

Mon sujet de recherche est centré sur l'étude électrophysiologique des propriétés membranaires intrinsèques des neurones vestibulaires centraux chez les Vertébrés. Le Laboratoire de Neurobiologie des Réseaux Sensorimoteurs (L.N.R.S), au sein duquel j'ai effectué mes travaux de thèse, s'intéresse en effet aux transformations sensorimotrices à l'origine des stabilisations du regard et de la posture. Le système vestibulaire reçoit des afférences sensorielles variées (vestibulaires, visuelles, proprioceptives, cérébelleuses, corticales), que les neurones vestibulaires centraux du tronc cérébral intègrent pour produire des réponses motrices adaptées (synergies vestibulo-oculaires et vestibulo-spinales).

Au cours des 15 dernières années, les études réalisées *in vitro*, se sont concentrées sur les neurones vestibulaires localisés dans le noyau vestibulaire médian. Ces études ont conduit chez les Rongeurs à la description de deux types cellulaires, les neurones de type A et les neurones de type B, à partir de leurs « signatures » électrophysiologiques respectives, notamment de la forme de leurs potentiels d'action. Cette distinction ne correspond cependant à aucune autre décrite jusque là *in vivo*. D'un point de vue anatomique, les connectivités des deux types de neurones sont identiques, ils reçoivent les mêmes afférences et se projettent sur les mêmes cibles. Au moment de mon entrée en thèse, le laboratoire travaillait à la distinction fonctionnelle des neurones de type A et de type B enregistrés chez le cobaye, et plus particulièrement sur leurs implications respectives dans la dynamique des synergies d'origine vestibulaire. Quelle est l'origine de la différence entre les neurones de type A et les neurones de type B et quelle est la pertinence physiologique de cette différence ? Qu'est-ce que cette différence révèle concernant l'organisation du système vestibulaire chez les Vertébrés ? Afin de répondre à ces questions, nous avons effectué différentes comparaisons au sein des neurones vestibulaires centraux :

1) Une première série d'expériences a consisté à comparer les propriétés des neurones vestibulaires médians de type A et de type B en conditions normale et pathologique,

plus précisément après lésion des organes vestibulaires périphériques (labyrinthectomie unilatérale). L'étude de la plasticité neurale permet d'appréhender la flexibilité dont fait preuve le système nerveux central face à des changements durables. La plasticité post-lésionnelle du système vestibulaire est un modèle d'étude de la plasticité du système nerveux central largement utilisé. Quelle conséquence a cette déafférentation fonctionnelle sur les propriétés intrinsèques des neurones vestibulaires médians ? Ces expériences ont été effectuées sur une préparation de tranches de tronc cérébral de cobayes adultes.

2) Sur cette même préparation, nous avons ensuite décidé de comparer les propriétés intrinsèques des neurones vestibulaires médians à celles des neurones vestibulaires situés au sein du noyau vestibulaire latéral voisin. Les neurones de type A et de type B sont-ils présents dans les autres noyaux vestibulaires ? Si oui, ont-ils les mêmes propriétés intrinsèques ? Cette expérience consiste donc en une comparaison intra spécifique entre structures physiologiquement proches.

3) Enfin, nous avons décidé d'étendre l'étude des propriétés intrinsèques des neurones vestibulaires centraux à une autre espèce : la grenouille. Ces études ont été effectuées sur une préparation de cerveau entier isolé *in vitro* qui offre des avantages expérimentaux importants, comme l'identification fonctionnelle des neurones enregistrés, ou encore un accès électrophysiologique complet à leur connectivité. Cette expérience finale est donc une comparaison des systèmes vestibulaires entre espèces différentes, destinée à étendre le champ de nos observations et à aboutir à un schéma global du rôle des propriétés membranaires intrinsèques des neurones vestibulaires dans la physiologie du système.

Afin d'appréhender complètement les problématiques de ces différents travaux expérimentaux, nous allons tout d'abord présenter les différents acteurs du système vestibulaire, des cellules sensorielles aux motoneurones, en passant par les neurones vestibulaires sensoriels, et bien entendu les neurones vestibulaires centraux, auxquels nous nous intéresserons plus particulièrement (*voir figure 6, p.34*).

Cette introduction générale sera centrée sur les propriétés anatomiques et électrophysiologiques du système vestibulaire, bien que, sans prétendre être exhaustif, il m'ait

semblé important de présenter également quelques données d'ordre historique, embryologique, ou encore de neurochimie des neurones vestibulaires. J'ai tenté de réunir et de synthétiser ici les données issues de différents modèles animaux, en m'intéressant aux principes de base du système vestibulaire, communs à l'ensemble des Vertébrés. La grenouille et le cobaye, animaux que j'ai utilisés au cours de mes expériences, seront cependant plus particulièrement détaillés.

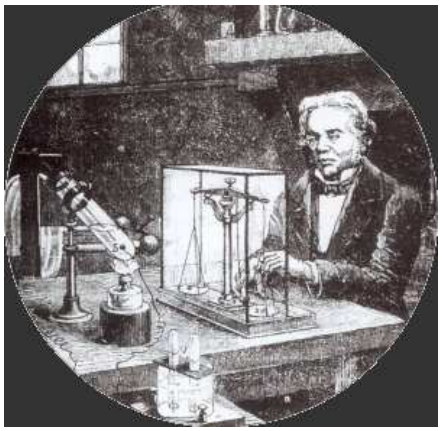
Nous présenterons également dans cette introduction la plasticité neuronale et le modèle de la compensation vestibulaire, sur lequel repose une partie importante de mes travaux ; nous verrons les données qui ont conduit le L.N.R.S à postuler d'éventuelles modifications des propriétés membranaires intrinsèques des neurones vestibulaires secondaires après labyrinthectomie unilatérale.

Après une brève présentation de chacun des travaux expérimentaux réalisés dans le cadre de ma thèse, décrits en détail dans les quatre articles qui ont été publiés, la discussion générale replacera les résultats dans le cadre des recherches actuelles concernant les propriétés intrinsèques membranaires des neurones au sein du SNC. Nous proposerons une interprétation de la physiologie du système vestibulaire basée sur les données présentées ici et étudierons l'hypothèse d'une coadaptation des propriétés intrinsèques et des propriétés synaptiques dans les transformations sensori-motrices au sein du SNC.

Il ne me reste, je pense, qu'à vous souhaiter une excellente lecture…

QUELQUES REPERES HISTORIQUES

Au moment où j'ai débuté cette thèse, je ne pense pas faire exception en avouant que je mesurai mal les origines historiques de mon sujet de recherche. Comme de nombreuses disciplines, la neurobiologie est déjà séculaire, et les premières découvertes anatomiques et physiologiques sur le système vestibulaire sont presque aussi anciennes que cette discipline elle-même. Il m'a semblé intéressant au cours de la rédaction de ce manuscrit de rechercher quelques informations sur ces hommes qui ont découvert, décrit, parfois nommé les structures anatomiques sur lesquelles j'ai travaillé ces dernières années. Chemin faisant, j'ai étendu les recherches aux travaux de quelques pionniers, parfois reconnus par l'attribution d'un prix Nobel. Anatomistes, médecins, neurophysiologistes, neurologues, neurobiologistes, mais aussi physiciens, anthropologues ou philosophes, tous européens, ils préfigurent à mes yeux une certaine idée des Neurosciences.



Le médecin, anatomiste, et physicien italien **Luigi Galvani** (1737-1798) est un des premiers à expérimenter à l'université de Bologne sur « l'électrogénèse », il découvre dès 1786 que l'influx nerveux qui parcourt les nerfs et provoque la contraction musculaire est de nature électrique. Naissance de l'électrophysiologie ?

La première description anatomique des trois canaux semi-circulaires et des deux otolithes situés dans l'oreille interne date de 1789. Nous la devons à l'anatomiste et chirurgien italien **Antonio Scarpa** (1752-1832) qui laissera, entre autres, son nom au ganglion sensoriel vestibulaire du nerf auditif qui regroupe les corps cellulaires des neurones vestibulaires sensoriels. Professeur à Pavie, il est l'auteur d'un traité d'anatomie du système nerveux dans lequel il décrit le trajet des plexus nerveux du thorax.

Le français **Marie-Jean-Pierre Flourens** (1794-1867), élève de Cuvier au Museum, membre de l'Académie des Sciences dès 1828, fut un des pionniers des techniques d'ablation dans l'étude des fonctions cérébrales. Il constate en 1824 chez le pigeon qu'une lésion de l'oreille interne affecte l'équilibre de l'animal, et en conclut que l'oreille n'a pas pour seule fonction l'audition. En 1842, il fait le première description de ce qui sera plus tard nommé « compensation vestibulaire », phénomène consistant en la disparition des syndromes posturaux et oculomoteurs caractéristiques d'une labyrinthectomie unilatérale. Il est reconnu comme un adversaire convaincu de la phrénologie de Gall.

Le 8 janvier 1861, au cours d'une communication à l'Académie impériale de médecine, **Prosper Ménière** (1799-1862), médecin-chef français de l'Institution nationale des sourds-muets, spécialisé dans les affections de l'oreille, décrit l'entité nosologique qui porte aujourd'hui son nom, le *vertige de Ménière*. Il s'agit d'une affection de l'oreille interne caractérisée par des accès subits de vertiges accompagnés d'acouphènes (sensation auditive anormale de type « bourdonnements », « sifflements », « grésillements », « tintements », et qui n'est pas provoquée par un son extérieur), d'une diminution unilatérale de l'acuité auditive et de signes neurovégétatifs.

Le physiologiste tchèque **Johannes Purkinje** (1787-1869), le biologiste allemand **Theodor Schwann** (1810-1882) et le français **Louis Ranvier** (1835-1922) contribuent à la description des fibres nerveuses.

Wladimir Michailovich von Bechterew (1857-1927), neurophysiologiste russe, démontra notamment la commande des fonctions végétatives par la région thalamique et l'existence des centres nerveux qui commandent le système sympathique. Il a décrit en 1883 le phénomène qui porte désormais son nom, le phénomène de Bechterew : suite à une labyrinthectomie unilatérale et à une période de compensation, une lésion supplémentaire du labyrinthe contralatéral induit à nouveau les syndromes posturaux et oculomoteurs caractéristiques. De nombreuses structures portent son nom, parmi lesquelles le noyau vestibulaire supérieur.

Dans un ouvrage publié après sa mort, le jeune médecin allemand **Karl Deiters** (1834-1863) livre l'anatomie de la cellule nerveuse. Elle possède deux types de prolongements : les petites dendrites et le long axone. Jusqu'alors on pensait que le cerveau était composé d'un côté des cellules et de l'autre de fibres, indépendantes les unes des autres.

Son compatriote **Wilhem von Waldeyer** (1836-1921) propose en 1891 d'appeler « neurone » la cellule nerveuse. La connexion entre les cellules est nommée synapse en 1897 par **Sir Charles Scott Sherrington** (1857-1952), neurologue anglais, prix Nobel de médecine et physiologie en 1932.

A la fin du XIXe siècle (entre 1884 et 1894), le suédois **Magnus Gustav Retzius** (1842-1919), anatomiste et anthropologue, décrit la structure cellulaire des épithéliums sensoriels vestibulaires, les organes ampullaires et maculaires, et y distingue notamment les cellules sensorielles des cellules de soutien.

L'anatomiste allemand **Gustave Schawlbe** (1844-1916), titulaire de la chaire d'anatomie de la faculté de médecine de Strasbourg, laissa son nom au noyau vestibulaire médian. Il avança dès 1906 l'idée que l'homme était apparenté aux singes anthropoïdes.

Au début du XXe siècle, le fameux histologiste espagnol **Ramon y Cajal** (1852-1934), qui améliora la coloration au nitrate d'argent de Golgi et fit des investigations systématiques de la structure du cerveau, établit la théorie selon laquelle le neurone est l'unité de base du système nerveux. Ce travail lui valut le Prix Nobel en 1906, partagé avec l'italien **Camillo Golgi** (1843-1926). Il a également décrit la présence de fibres vestibulaires de diamètres plus ou moins importants (*colossale*s ou *fines*), et leur disposition au sein des crêtes ampullaires : les fibres de plus gros diamètre émergent du centre des crêtes, alors que les fibres les plus fines semblent émerger de la périphérie.

En 1910, les travaux de deux physiciens, **Ernst Mach** (1838-1916, également philosophe) et **Hermann Ludwig Ferdinand von Helmholtz** (1821-1894, également physiologiste) permettent de définir le rôle de centrale gravito-inertielle des capteurs vestibulaires : les canaux sont reconnus comme des détecteurs d'accélération angulaire et les otolithes comme des détecteurs d'accélération linéaire.

Robert Bárány, otologiste autrichien (1876-1936) reçut en 1914 le prix Nobel de médecine pour ses travaux sur le nystagmus vestibulaire. L'*épreuve oculaire de Bárány*, destinée à apprécier l'intégrité du labyrinthe, est fondée sur le fait que, normalement, une injection d'eau froide ou chaude dans le conduit auditif externe provoque un nystagmus. Une disparition de cette réponse physiologique signale une lésion du labyrinthe.

Camillo Golgi (1843-1926)

Ramon y Cajal (1852-1934)

Robert Bárány (1876-1936)

INTRODUCTION GENERALE

A. Anatomie morpho-fonctionnelle du système vestibulaire

Afin de comprendre comment les informations issues du labyrinthe de l'oreille interne sont intégrées et utilisées par le système nerveux central pour produire des réponses motrices adaptées, nous allons tout d'abord présenter comment les différentes structures impliquées dans le contrôle du regard et de la posture sont connectées les unes avec les autres chez les Vertébrés. Nous allons détailler l'anatomie morpho-fonctionnelle des éléments impliqués dans la fonction vestibulaire suivant l'ordre physiologique dans lequel ils interviennent et participent aux réflexes d'origine vestibulaires. Nous présenterons tout d'abord quelques notions de la physiologie des éléments qui précèdent directement les neurones vestibulaires secondaires dans le traitement des informations vestibulaires, les organes sensoriels vestibulaires et les afférences qui en sont issues (neurones vestibulaires sensoriels, dits aussi neurones vestibulaires primaires). Nous tâcherons ensuite de décrire l'anatomie des noyaux vestibulaires centraux et de les situer au sein des réseaux de stabilisation du regard et de la posture. Enfin nous nous intéresserons à l'anatomie et à la physiologie des noyaux moteurs impliqués dans les réflexes d'origine vestibulaire, et plus particulièrement aux neurones moteurs (motoneurones) impliqués dans le contrôle du regard.

A.I. Le système vestibulaire périphérique

A.I.1. Les récepteurs sensoriels

A.I.1.1 Anatomie générale

Les récepteurs sensoriels vestibulaires et auditifs sont des organes pairs, symétriques, formant de chaque côté de la tête le labyrinthe de l'oreille interne. Cette structure anatomique comprend le vestibule qui regroupe les organes de l'équilibre ainsi que la cochlée, consacrée à l'audition. Chez les Mammifères, le vestibule est composé des canaux semi-circulaires et des organes otolithiques (saccule et utricule). Ce sont des capteurs sensoriels fonctionnellement

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

spécifiques : les organes otolithiques détectent les accélérations linéaires de la tête et la force gravitationnelle, alors que les canaux semi-circulaires, au nombre de trois, détectent les accélérations angulaires de la tête dans les trois dimensions de l'espace. De chaque côté du corps, le canal horizontal (ou latéral) et les deux canaux verticaux, antérieur et postérieur, sont approximativement orthogonaux entre eux *(cf. figure 1 et 2 ci-dessous)* (Blanks et col. 1975; Curthoys et col. 1975). Chez l'homme, le plan du canal horizontal fait un angle d'environ 30° avec le plan horizontal ; les canaux antérieurs et postérieurs font des angles respectifs d'environ 40 et 50° avec le plan sagittal. Ces valeurs d'angle sont variables d'une espèce à l'autre (*voir Simpson et Graf 1985 pour une discussion de ce point*).

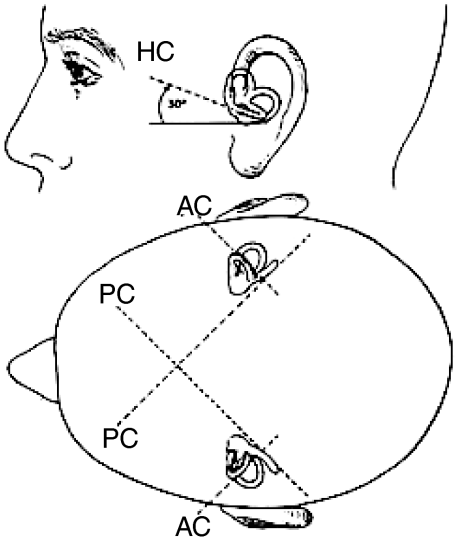


Figure 1 : Représentations schématiques de la localisation et de la disposition des canaux semi-circulaires chez l'homme.

Vue de profil, les canaux horizontaux forment un angle d'environ 30˚ avec le plan horizontal.

Vue de dessus, les canaux antérieurs et postérieurs, orthogonaux, font des angles respectifs d'environ 40 et 50˚ avec le plan sagittal.

HC, canaux semi-circulaires horizontaux
AC, canaux antérieurs; PC, canaux postérieurs

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

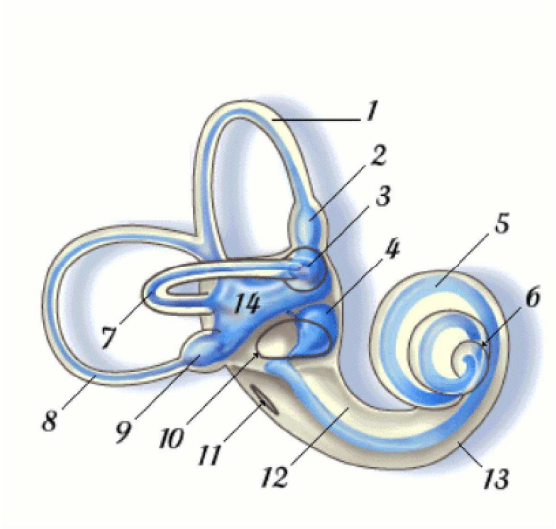


Figure 2 : Vue externe du labyrinthe membraneux.
1. Canal antérieur
2. Ampoule (du canal antérieur)
3. Ampoule (du canal horizontal)
4. Saccule
5. Canal cochléaire
6. Hélicotreme
7. Canal horizontal (latéral)
8. Canal postérieur
9. Ampoule (du canal postérieur)
10. Fenêtre ovale
11. Fenêtre ronde
12. Rampe vestibulaire
13. Rampe tympanique
14. Utricule

Les canaux semi-circulaires et les organes otolithiques comportent un *épithélium sensoriel*, qui réalise la transformation biomécanique d'une accélération de la tête en un signal électrophysiologique. L'épithélium sensoriel des canaux semi-circulaires est appelé *crête ampullaire* et se situe dans un renflement du canal, *l'ampoule*. La crête ampullaire, composée de cellules sensorielles et de cellules de soutien, est surmontée d'une membrane élastique gélatineuse, *la cupule*, qui s'étend sur toute la section de l'ampoule. Quand une accélération angulaire de la tête se produit dans le plan du canal considéré, l'endolymphe se déplace par inertie dans le canal, ce qui provoque une déformation de la cupule.

Les épithéliums sensoriels du saccule et de l'utricule sont appelés *macules*. La macule a une structure similaire à celle de la crête ampullaire et est également constituée de cellules sensorielles et de soutien. Les cellules sensorielles sont surmontées d'une membrane gélatineuse qui comporte des particules cristallines de carbonate de calcium, les *otolithes*. Les forces linéaires qui agissent dans le plan de la macule provoquent un déplacement tangentiel de la membrane otolithique par rapport à l'épithélium sensoriel. On peut se représenter le fonctionnement de ce système en pensant à un passager debout dans un bus qui se tient à une poignée. Lors de la marche normale ou à l'arrêt, il tient debout sans problème, il ne tire donc pas sur la poignée qui reste verticale. Lors d'une accélération, il est entraîné vers l'arrière, il se retient à la poignée qui est donc inclinée vers l'arrière. Les cils des cellules sensorielles sont

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

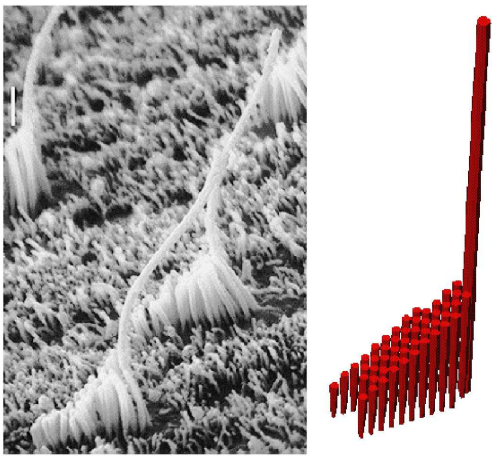
sollicités de la même façon par les otolithes. Les cellules ciliées émettent un signal nerveux en fonction du sens et de l'importance de la courbure de leurs cils (Flock 1977).

A.I.1.2 Les cellules ciliées

Les organes ampullaires et maculaires comprennent deux types de cellules réceptrices : les cellules ciliées de type I et de type II (*figure 3*). Les cellules de type I sont piriformes et entourées d'une terminaison synaptique de fibre sensorielle en calice (fibres sensorielles vestibulaires, dites afférentes car elles transmettent l'information vers les noyaux vestibulaires centraux). Ces cellules sont localisées préférentiellement au sommet des crêtes et au centre des macules. Les cellules de type II sont cylindriques et plusieurs fibres sensorielles vestibulaires et efférentes établissent des contacts synaptiques avec leur soma. Les cellules de type II se répartissent de manière privilégiée à la base des crêtes et à la périphérie des macules (Fernandez et col. 1988). Des boutons synaptiques efférents (innervation en provenance du tronc cérébral et qui contrôle la sensibilité du système) contactent également les cellules ciliées au niveau des synapses afférentes. Ces deux types de cellules sensorielles présentent à leur pôle apical (*figure 3*) jusqu'à 100 stéréocils associés à un unique kinocil. Les stéréocils sont rigides et organisés en rangées décroissantes par rapport au kinocil, qui représente un axe de polarisation de la touffe ciliaire. Au repos, la cellule sensorielle présente une activité spontanée de libération de glutamate qui excite la fibre sensorielle post-synaptique. Le déplacement des stéréocils dans la direction du kinocil provoque une dépolarisation de la cellule sensorielle et une augmentation de la libération de neurotransmetteur, alors qu'un déplacement dans le sens inverse entraîne une hyperpolarisation de la cellule et une diminution de son activité. La cellule sensorielle réalise ainsi la transduction de l'énergie mécanique appliquée à la partie apicale du faisceau de cils en un signal post-synaptique de nature électrique.

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

Figure 3a: la touffe ciliaire
Photographie en microscopie électronique et modélisation d'une touffe ciliaire.
Les stéréocils sont rigides et organisés en rangées décroissantes par rapport au kinocil, qui représente un axe de polarisation de la touffe ciliaire.
La touffe ciliaire mesure une dizaine de µm.



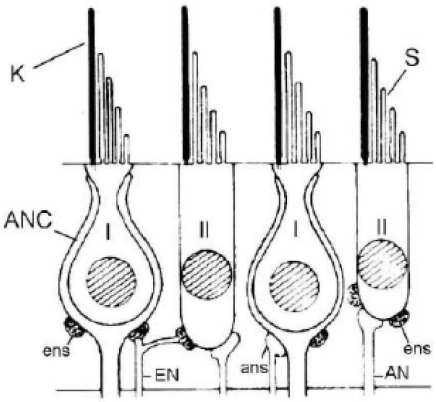


Figure 3b: cellules ciliées de type I et II
Représentation schématique de cellules ciliées de type I et II.
Les cellules de type I sont piriformes et entourées d'une terminaison synaptique de fibre sensorielle en calice (ANC).
Les cellules de type II sont cylindriques. Plusieurs fibres sensorielles afférentes (ans) et efférentes (ens) établissent des contacts synaptiques avec leur soma.
EN: nerf efférent , AN: nerf afférent . K: kinocil,
S: stéréocils

Les canaux semi-circulaires et les otolithes sont sensibles aux accélérations de la tête mais, du fait des propriétés mécaniques de leurs récepteurs, c'est un signal de vitesse qui est transmis aux noyaux vestibulaires par les fibres sensorielles du nerf vestibulaire (Curthoys 1982b; Robinson 1975). Les stimulations naturelles de la tête peuvent atteindre chez l'homme, par exemple pendant une course, des accélérations de l'ordre de 6000°/s^2, des vitesses allant jusqu'à 550°/s et des fréquences de mouvements de la tête comprises entre 0 et 20 Hz (Grossman et col. 1988; Pozzo et col. 1990; Schubert et Minor 2004).

Aucun enregistrement électrophysiologique de cellules ciliées vestibulaires de Mammifères n'a pu être réalisé *in vivo* en raison de l'inaccessibilité des neuroépithéliums vestibulaires. De nombreuses études électrophysiologiques effectuées sur des cellules ciliées vestibulaires isolées de différentes espèces indiquent que les types cellulaires I et II diffèrent par leurs conductances ioniques (Bao et col. 2003; Brichta et col. 2002; Correia et Lang 1990;

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

Eatock et col. 2002; Rennie et Ashmore 1991). Ces différences de conductance, qui sont corrélées avec les différences de morphologie, de localisation au sein des épithéliums, et des différences de sensibilité fréquentielle, suggèrent des rôles physiologiques distincts des cellules ciliées de type I et de type II. Il a été montré chez la grenouille que les cellules ciliées utriculaires, classées en 4 types à partir de critères morphologiques et en fonction de leur localisation au sein de la macule, diffèrent également par leur sensibilité fréquentielle, la dynamique de leurs réponses, et leurs propriétés électrophysiologiques membranaires (Baird 1994a; Baird 1994b; Baird et Lewis 1986; Lewis et Li 1973). Ces cellules ciliées transmettent l'information vestibulaire aux cellules sensorielles vestibulaires qu'elles contactent. Comme nous le verrons, la physiologie de ces fibres sensorielles vestibulaires est corrélée à leur diamètre, et c'est donc suivant ce critère que les schémas d'innervation des cellules ciliées ont été décrits.

A.I.2. Innervation par les neurones vestibulaires sensoriels

Goldberg et col. ont établi ces schémas d'innervation des cellules ciliées de type I et II par les fibres vestibulaires dans les crêtes ampullaires des Mammifères en cherchant à lier la régularité de décharge des fibres afférentes vestibulaires sensorielles à la localisation et à la morphologie de leurs terminaisons au sein des neuroépithéliums (Fernandez et col. 1988; Fernandez et col. 1990; Fernandez et col. 1995; revue dans Goldberg 2000). Les crêtes ampullaires peuvent ainsi être divisées en 3 zones distinctes (*figure 4*):

1. La zone centrale est innervée par des fibres de gros diamètre qui se terminent en calices simples ou complexes autour de cellules sensorielles de type I (une même fibre peut enserrer jusqu'à 3 cellules de type I). Ces terminaisons constituent environ 10% de l'ensemble des fibres.

2. La zone périphérique n'est innervée que par des fibres fines qui forment des terminaisons en bouton, et contactent les cellules sensorielles de type II (une même fibre afférente de diamètre fin peut contacter plusieurs dizaines de cellules de type II) (Highstein et col. 1996). Ces unités constituent 20% du contingent de fibres.

3. La zone intermédiaire est essentiellement innervée par des fibres de diamètre moyen qui se terminent le plus souvent par des terminaisons dimorphiques formées à la fois

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

de calices et de boutons. Ces unités constituent 70% de la totalité des fibres et sont réparties sur l'ensemble de l'épithélium. On constate qu'il existe à ce niveau un continuum (c'est-à-dire de nombreuses variations entre deux valeurs extrêmes) allant de la terminaison en calice unique enserrant une cellule sensorielle de type I à la terminaison constituée de plusieurs dizaines de boutons contactant des cellules de type II, en passant par le type dimorphique calice-bouton.

D'un point de vue électrophysiologique, ces unités sont classées en fonction de la régularité de leur décharge spontanée : les unités à terminaison en calice ont une décharge plutôt irrégulière, alors que les unités à terminaison en bouton sont essentiellement régulières. Les unités dimorphiques ont une régularité de décharge qui dépend de leur localisation sur les crêtes ampullaires, celles situées à la périphérie étant globalement plus irrégulières que celles qui se trouvent au centre.

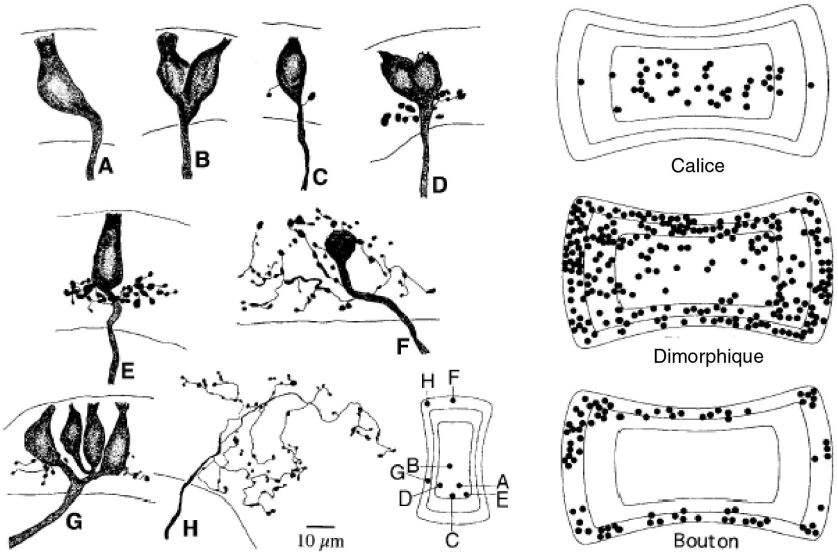


Figure 4: patrons d'innervation dans les crêtes ampullaires des Mammifères, par marquage individuel à la HRP des fibres afférentes. A,B fibres épaisses qui se terminent en calices simples ou complexes. C-G fibres à terminaisons dimorphiques formées à la fois de calices et de boutons. H, fibres fines qui forment des terminaisons en bouton. A droite sont représentés des cartes concentriques des crêtes ampullaires, divisées en zones centrale, intermédiaire, et périphérique. Chaque point correspond à la localisation d'une fibre classée en fonction de critères morphologiques. 70% des fibres ont été classées comme dimorphiques, 20% en calices, et 10% en boutons. Modifiée à partir de Fernández et col. (1988).

En plus de ces fibres vestibulaires afférentes, les cellules ciliées sont également innervées par un « système efférent » qui correspond à une boucle de rétroaction (feedback) en provenance du système nerveux central.

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

A.I.3. Innervation par le système efférent

Les récepteurs sensoriels vestibulaires reçoivent une innervation efférente modulatrice en provenance de neurones dont les corps cellulaires sont localisés dans le tronc cérébral, entre les noyaux moteurs facial et trigéminal, au niveau du sillon bulbo-pontique (Klinke et Galley 1974; Schwarz et col. 1989). Chez les Mammifères, ces neurones se projettent bilatéralement sur les épithéliums vestibulaires (Dechesne et col. 1984). Le nombre et la taille des fibres efférentes sont faibles (Gacek 1960; Gacek 1969) mais leur effet est probablement important du fait de leurs terminaisons très nombreuses et diffuses. Ces neurones présentent une forte concentration en acétylcholinestérase, ce qui laisse supposer qu'ils sont cholinergiques. Le rôle fonctionnel de ce système est très loin d'être élucidé. Il constitue un système de rétrocontrôle qui serait essentiellement excitateur (Marlinski et col. 2004); il pourrait moduler l'activité de décharge des neurones vestibulaires sensoriels, et ce de manière différente selon la régularité des fibres considérées, les fibres irrégulières étant préférentiellement activées (Goldberg et Fernandez 1980; Marlinski et col. 2004; Plotnik et col. 2001).

A.II. Neurones vestibulaires sensoriels : données anatomiques et électrophysiologiques

Les neurones vestibulaires sensoriels, aussi appelés neurones vestibulaires primaires, représentent la première étape du traitement de l'information vestibulaire par le SNC. Activés comme nous venons de le voir par les cellules ciliées, ils se projettent majoritairement sur les noyaux vestibulaires situés au sein du tronc cérébral.

A.II.1. Anatomie du nerf vestibulo-cochléaire

Le nerf vestibulo-cochléaire est également appelé nerf auditif ou nerf acoustique. Il constitue avec son homologue contralatéral la huitième paire de nerfs crâniens. Le nerf vestibulo-cochléaire est un nerf considéré comme essentiellement sensoriel qui comprend deux racines distinctes : la racine vestibulaire véhicule les informations sur l'équilibre, alors que la racine cochléaire véhicule les informations auditives. Il a un trajet totalement intracrânien depuis les récepteurs sensoriels de l'oreille interne jusqu'aux noyaux vestibulaires

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

et cochléaires du tronc cérébral (*voir figure 6, p.34*)(de Waele et Tran Ba Huy 2001). Il est formé des axones des neurones auditifs et vestibulaires sensoriels. Les corps cellulaires des neurones sensoriels vestibulaires sont rassemblés dans le ganglion de Scarpa, leur axone périphérique est directement au contact des cellules sensorielles ciliées, tandis que leur axone central se projette sur les neurones vestibulaires secondaires situés dans les noyaux vestibulaires du tronc cérébral. Les fibres du nerf vestibulaire ont un diamètre qui varie entre 1 et 10µm. Elles se distribuent majoritairement aux trois canaux semi-circulaires, et de manière moins importante aux macules utriculaires et sacculaires. Leur nombre varie peu selon les espèces, allant de 12000 chez la grenouille (Dunn 1978) et le chat (Richter et Spoendlin 1981) à 18000 chez le singe (Honrubia et col. 1987), et 15 à 20000 chez l'homme (Park et col. 2001; Richter 1980).

A.II.2. Electrophysiologie des neurones vestibulaires sensoriels

Activité basale Au repos, les neurones vestibulaires sensoriels déchargent spontanément à une fréquence qui peut atteindre 100 potentiels d'action par seconde chez les Mammifères (Goldberg 2000; Lysakowski et col. 1995). Les fibres du nerf vestibulaire répondent aux accélérations de la tête dans le plan d'activation de l'organe sensoriel dont elles sont issues par une augmentation ou une diminution de leur activité en fonction de la direction du mouvement, ce qui traduit la polarisation des neuroépithéliums ampullaires et maculaires. L'activité de décharge élevée des neurones vestibulaires sensoriels permet donc un codage bidirectionnel des informations traitées par chacun des récepteurs labyrinthiques. Cette activité basale est le résultat de la libération continue de neurotransmetteurs par les cellules sensorielles (Rossi et col. 1994; Xue et col. 2002). Il a en effet été montré que la suppression des organes périphériques supprime définitivement la décharge de repos des neurones vestibulaires sensoriels (Jensen 1983; Sirkin et col. 1984).

Régularité et autres critères Deux types de neurones vestibulaires sensoriels ont été schématiquement distingués en fonction de la régularité de leur décharge spontanée (Goldberg et col. 1987; Highstein et col. 1987b). L'intérêt de cette distinction vient du fait que ces fibres classées électrophysiologiquement comme régulières ou irrégulières diffèrent également par plusieurs autres propriétés physiologiques interdépendantes (*figure 5 ci-dessous*), comme leur diamètre ou la dynamique de leurs réponses : les neurones à décharge

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

régulière sont dans l'ensemble des neurones dont les fibres sont de plus petit diamètre et à vitesse de conduction faible ; les neurones à décharge irrégulière ont des axones de plus grand diamètre et conduisent l'information à des vitesses plus élevées (Baird 1994b; Baird et col. 1988; Baird et Lewis 1986). Finalement, comme nous l'avons déjà évoqué, les neurones réguliers innervent majoritairement la périphérie des champs sensoriels des neuroépithéliums vestibulaires (cellules sensorielles de type II ; terminaisons en boutons) alors que les neurones irréguliers innervent des champs récepteurs de plus petite taille localisés au centre des neuroépithéliums vestibulaires (cellules sensorielles de type I, terminaisons en calice).

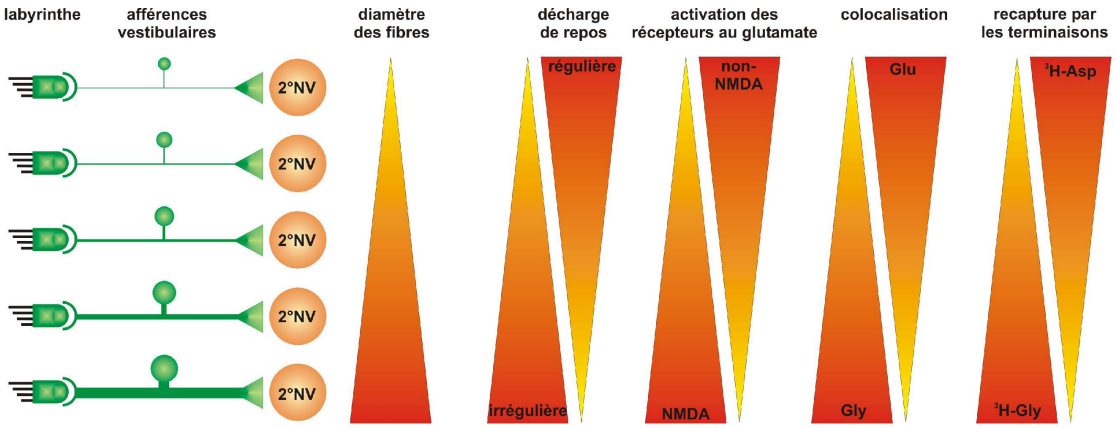


Figure 5: Schéma indiquant les propriétés physiologiques et anatomiques liées au diamètre des afférences vestibulaires. 2˚NV, neurone vestibulaire secondaire; Asp, aspartate; Glu, glutamaye; GLY, glycine.

Utilisation expérimentale de ces différences Les différences de diamètre et d'excitabilité des fibres sensorielles peuvent être utilisées expérimentalement : du fait de leur diamètre plus important, les fibres les plus irrégulières sont plus sensibles à l'application externe de stimulations électriques que les fibres régulières. Les fibres irrégulières peuvent donc être sélectivement « recrutées » à l'aide de stimulations dépolarisantes de faible intensité, ou au contraire sélectivement inhibées par des stimulations hyperpolarisantes (Boyle et col. 1991; Bronte-Stewart et Lisberger 1994; Minor et Goldberg 1991).

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

A.III. Les noyaux vestibulaires centraux

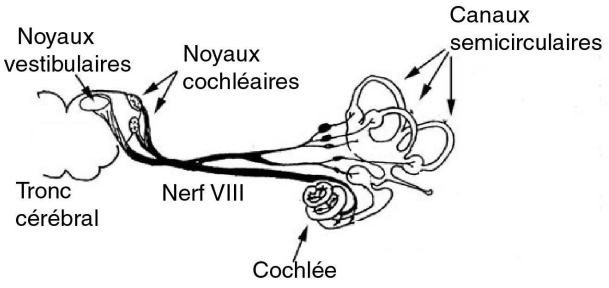


Figure 6a: Anatomie du nerf vestibulo-cochléaire. La racine vestibulaire véhicule les informations sur l'équilibre, alors que la racine cochléaire véhicule les informations auditives.

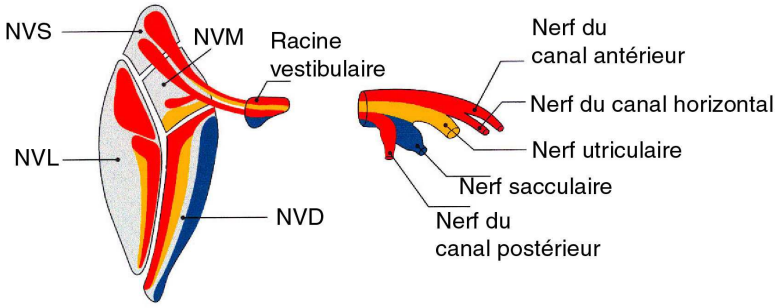
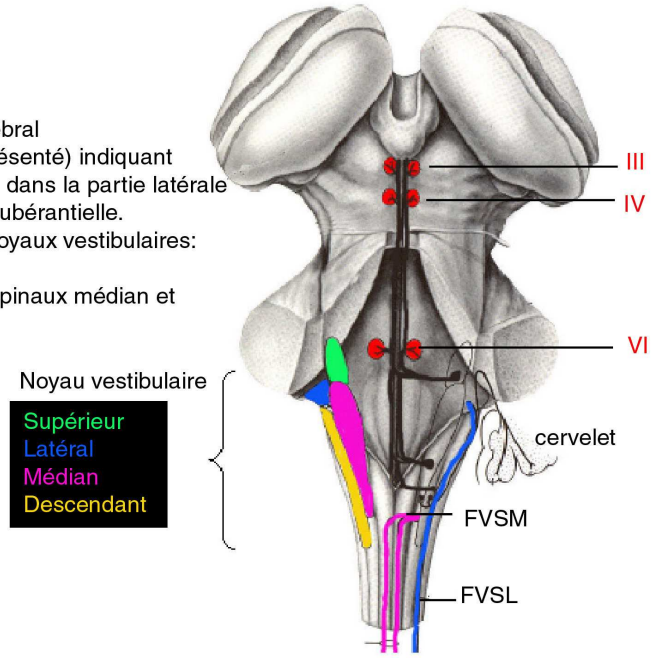


Figure 6b: Distribution des projections des différentes branches du nerf vestibulaire (image de droite) sur les noyaux vestibulaires (représentés à gauche). NVS, Noyau vestibulaire supérieur (ou de Bechterew); NVL, latéral (ou de Deiters); NVM, médian (ou de Schwalbe); NVD, descendant (ou inférieur, ou de Roller)

Figure 6c: vue dorsale du tronc cérébral (noter que le cervelet n'est pas représenté) indiquant la position des noyaux vestibulaires, dans la partie latérale du bulbe et de la jonction bulbo-protubérantielle.
Exemples de voies efférentes des noyaux vestibulaires:
-III, IV, VI: noyau moteurs de l'oeil
-FVSM, FVSL: faisceaux vestibulo-spinaux médian et latéral, respectivement.



Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

A.III.1. Anatomie des neurones et des noyaux vestibulaires centraux

L'ensemble de mes travaux de thèse porte sur les neurones vestibulaires centraux, et notamment les neurones vestibulaires secondaires, qui reçoivent directement les informations transmises par les fibres sensorielles vestibulaires que nous venons de présenter. Ces neurones intègrent des informations sensorielles d'origine visuelle et proprioceptive en plus de celles venues du labyrinthe de l'oreille interne. Nous allons détailler l'anatomie de ces noyaux, ainsi que les connexions qui unissent les différents noyaux vestibulaires entre eux et aux autres structures impliquées dans le contrôle du regard et de la posture.

Les noyaux vestibulaires sont localisés dans la partie dorsale du tronc cérébral, ils s'étendent du bulbe au pont, sous le plancher ventral du 4ème ventricule. Historiquement, les noyaux vestibulaires ont été segmentés par les anatomistes en 4 noyaux distincts (*voir figure 6, page précédente*). La carte des noyaux vestibulaires à laquelle il est généralement fait référence a été établie par Brodal en 1974 à partir d'études réalisées essentiellement chez le chat (Brodal 1974; Ris et col. 1999a; Wilson et Melvill Jones 1979): on distingue les noyaux vestibulaires supérieur (ou de Bechterew, NVS), latéral (ou de Deiters, NVL), médian (ou de Schwalbe, NVM) et descendant (ou inférieur, ou de Roller, NVD). A côté de ces quatre noyaux principaux, de petits groupes de cellules (groupes x, z, f, g, l, et y) reçoivent également des afférences vestibulaires et sont pour la plupart adjacents aux noyaux vestibulaires. Le groupe « y » reçoit exclusivement des projections sacculaires.

A.III.2. Afférences vestibulaires des noyaux vestibulaires centraux

A cette segmentation anatomique correspond une ségrégation fonctionnelle : schématiquement, le noyau supérieur reçoit principalement des afférences canalaires ; le noyau latéral reçoit des afférences monosynaptiques d'origine otolithique, mais également des informations canalaires, surtout verticales ; le noyau médian reçoit des afférences otolithiques et canalaires et est le principal noyau impliqué dans le traitement des informations en provenance du canal horizontal. Le noyau descendant reçoit des afférences otolithiques et canalaires, surtout du canal postérieur. Tous les noyaux vestibulaires reçoivent directement des afférences issues du nerf vestibulaire à l'exception notable de la partie dorsale du noyau vestibulaire latéral (NVL) (Carleton et Carpenter 1984; Korte 1979).

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

Quelles sont les cibles privilégiées des fibres sensorielles vestibulaires régulières et irrégulières ? Les études réalisées chez le chat (Sato et col. 1989) et chez le poisson-crapaud (Toadfish, Mensinger et col. 1997) ont prouvé que les fibres régulières et irrégulières innervent les quatre noyaux vestibulaires de manière équivalente ; seul le noyau latéral pourrait recevoir préférentiellement des fibres irrégulières. A l'échelle cellulaire, Sato et Sasaki ont montré chez le chat que les fibres afférentes irrégulières (donc de diamètre important), contactent plus les neurones vestibulaires secondaires de grand diamètre comparé aux fibres régulières, et que ces contacts synaptiques sont localisés en majorité sur le soma et l'arbre dendritique proximal des neurones. De plus, les fibres de gros diamètre présentent des boutons synaptiques de plus grande taille et 2 à 3 fois plus nombreux que les fibres régulières (Sato et Sasaki 1993).

A.III.2. Convergence des fibres sensorielles sur les noyaux vestibulaires centraux

La question de la ségrégation ou de la convergence des informations canalaires et otolithiques sur les neurones vestibulaires centraux est au cœur de la problématique des transformations sensori-motrices (Simpson et Graf 1985) et du couplage perception-action dans le système vestibulaire. Les études anatomiques et électrophysiologiques se poursuivent afin de définir avec précision les projections des différents organes vestibulaires sur les noyaux vestibulaires centraux. Comme nous l'avons décrit, les composantes linéaires et angulaires des accélérations de la tête sont détectées par des organes périphériques différents, puis transmises *via* les fibres sensorielles afférentes aux noyaux vestibulaires. Il est important de noter que les études anatomiques s'intéressent à la distribution des afférences vestibulaires sur les différents noyaux, mais n'ont généralement pas accès à la convergence de ces afférences sur une cellule particulière, contrairement aux études électrophysiologiques.

Des études électrophysiologiques portant sur la convergence monosynaptique (on parle de convergence monosynaptique quand un neurone vestibulaire reçoit <u>directement</u> des afférences en provenance de différents organes vestibulaires) des informations vestibulaires ont été réalisées par Straka et col. sur la préparation de cerveau entier de grenouille isolé *in vitro*. Cette préparation, sur laquelle j'ai effectué une partie de mes travaux, est en effet particulièrement adaptée à ce type d'études puisqu'elle permet de stimuler indépendamment

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

un ou plusieurs des nerfs issus des différents organes sensoriels vestibulaires et d'enregistrer les potentiels synaptiques reçus par les neurones vestibulaires secondaires. Ces travaux ont tout d'abord porté sur la convergence des entrées monosynaptiques issues des canaux semi-circulaires (Goto et col. 2001; Straka et col. 1997). Ces études ont montré que près de 90% des neurones vestibulaires secondaires reçoivent des entrées monosynaptiques qui proviennent d'un seul canal ipsilatéral (*voir figure 7 ci-dessous*). Ceci montre que le vecteur spatial du signal afférent, donné par l'arrangement dans l'espace des canaux semi-circulaires à l'intérieur du labyrinthe, est largement conservé au niveau des neurones vestibulaires secondaires. Une organisation similaire a été observée chez le pigeon (Wilson et Felpel 1972a; Wilson et Felpel 1972b) et le chat (Kasahara et Uchino 1974; Sans et col. 1972).

La convergence monosynaptique des entrées sensorielles d'origine otolithique a ensuite été caractérisée. Chez les Anoures, le saccule a une fonction auditive alors que l'utricule et un sixième organe sensoriel (la lagena) sont, comme chez la majorité des Vertébrés (les Mammifères font exception), sensibles aux accélérations linéaires horizontales (utricule) et verticales (lagena). Ces travaux ont montré que l'entrée monosynaptique sensorielle de la plupart des neurones vestibulaires secondaires provenait d'un seul organe otolithique à la fois, et que la convergence monosynaptique de ces signaux était rare (généralement inférieure à 10%). De la même façon, une faible convergence entre les signaux afférents utriculaires et sacculaires a été trouvée chez le chat (Kushiro et col. 2000).

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

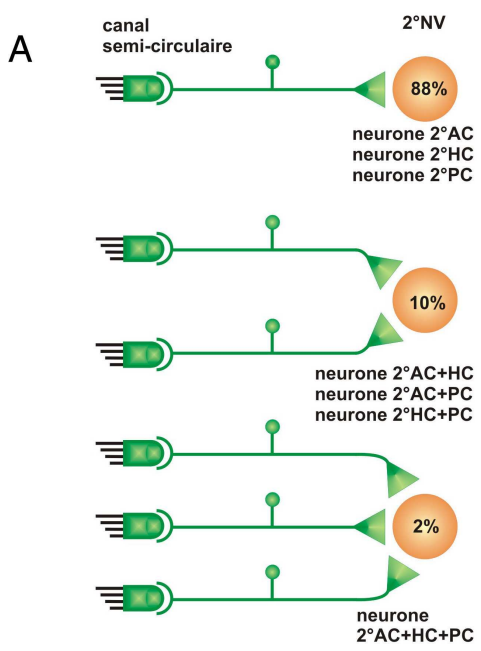


Figure 7a: Schéma de convergence des afférences issus des canaux semi-circulaires sur les neurones vestibulaires secondaires, 2°NV; AC, canal antérieur; HC, canal postérieur; PC, canal postérieur.

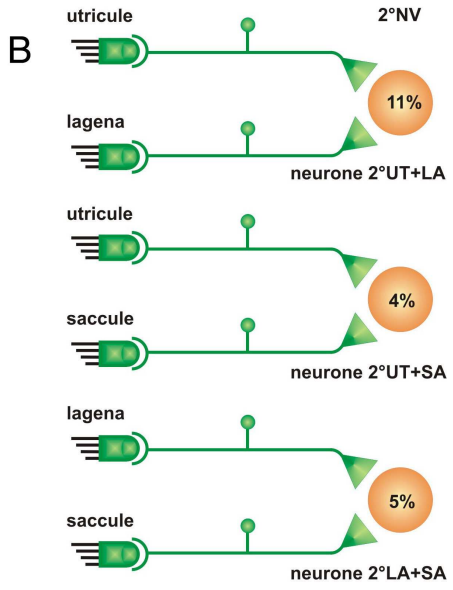


Figure 7b: Schéma de convergence des afférences d'origine otholithiques sur les neurones vestibulaires secondaires (2°NV); LA, Lagena;SA, saccule; UT, utricule.

Modifiée à partir de Straka et Dieringer 2004.

Enfin, la convergence monosynaptique entre informations canalaires et otolithiques a également été caractérisée sur le cerveau isolé de grenouille. Contrairement aux entrées canalaires d'une part, et otolithiques d'autre part, qui présentent entre elles un faible niveau de convergence, un nombre substantiel de neurones vestibulaires secondaires reçoit une entrée sensorielle monosynaptique otolithique (du nerf utriculaire ou du nerf de la lagena) combinée à une entrée monosynaptique d'un des canaux semicirculaires. Cette forme de convergence correspond à la co-activation de cellules ciliées qui possèdent la même sensibilité directionnelle dans des secteurs distincts de la macule utriculaire ou lagénaire et dans la cupule d'un canal semi-circulaire défini (Angelaki 1993; Dickman et Angelaki 2002; Rohregger et Dieringer 2002). Ainsi au cours de mouvements passifs horizontaux de la tête, on assiste à une convergence des signaux utriculaires et canalaires issus du canal horizontal sur les mêmes neurones vestibulaires secondaires. Au cours de mouvements dans le plan vertical, on constate une convergence entre les signaux issus de la lagena et des canaux verticaux (antérieur et postérieur). Des études électrophysiologiques récentes chez le chat

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

donnent des résultats qualitativement similaires (Sato et col. 2000; Zakir et col. 2000) même si des différences quantitatives existent (Zhang et col. 2001). Chez le chat, la convergence des informations otolithiques pourrait être plus répandue que chez la grenouille, tandis que la convergence d'informations canalaires et otholitiques semble moins fréquente et moins stéréospécifique (Uchino 2001).

Newlands et Perachio (2003) ont comparé les convergences des afférences canalaires et otolithiques obtenues à partir de différentes techniques de marquages intra-axonal chez la gerbille aux résultats d'autres groupes qui ont réalisé des études comparables chez le singe (Naito et col. 1995) ou le pigeon (Dickman et Fang 1996). Chez ces trois espèces, les convergences des projections anatomiques canalaires sont importantes sur les noyaux médians et supérieurs. Ces auteurs soulignent que l'organisation des projections vestibulaires au niveau central semble particulièrement conservée chez les amniotes et est très largement comparable entre les différents Vertébrés. Les différences leur semblent mineures et pourraient souvent être attribuées à des questions d'ordre technique.

Finalement, en plus de ces afférences d'origine vestibulaire qui constituent la principale source excitatrice reçue par les neurones vestibulaires secondaires, de nombreuses autres structures, que nous allons maintenant détailler, sont impliquées dans le contrôle du regard et de la posture et envoient des informations aux neurones vestibulaires secondaires.

A.III.4. Afférences non vestibulaires des noyaux vestibulaires centraux

Les neurones des noyaux vestibulaires reçoivent en effet de nombreuses informations non vestibulaires, d'origines sensorielles ou non : afférences commissurales provenant des noyaux vestibulaires contralatéraux, afférences visuelles et proprioceptives, afférences cérébelleuses, ou encore afférences corticales. Ils reçoivent également une copie efférente de l'ordre moteur envoyé aux muscles extra-oculaires (Cullen et col. 1993; Cullen et McCrea 1993) et aussi de la commande des muscles du cou contrôlant les mouvements de la tête (Cullen et Roy 2004; Roy et Cullen 2004). Bien au-delà d'un rôle de simples relais au sein d'un arc réflexe, les neurones vestibulaires centraux apparaissent comme de véritables centres d'intégration sensorimotrice. Une partie de mes travaux de thèse s'intéresse aux changements de propriétés électrophysiologiques membranaires des neurones vestibulaires situés dans le noyau vestibulaire médian contralatéral à une labyrinthectomie effectuée un mois auparavant.

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

Ces neurones contralatéraux sont probablement affectés par la lésion *via* les fibres commissurales reliant les noyaux vestibulaires de part et d'autre du tronc cérébral, et/ou le cervelet. A ce titre, il m'a semblé intéressant de détailler ce système commissural, ainsi que les liens entre les noyaux vestibulaires et le cervelet.

Les relations commissurales entre les noyaux vestibulaires situés de part et d'autres de la ligne médiane sont particulièrement marquées pour le noyau vestibulaire médian (NVM) et le noyau vestibulaire supérieur (NVS) (Epema et col. 1988; Gacek 1978; Ito et col. 1985; Newlands et col. 1989). Elles sont en revanche quasiment absentes pour le NVL (Epema et col. 1988; Uchino et col. 2001). Les fibres commissurales peuvent relier des noyaux vestibulaires homologues ou non : ainsi le NVM situé d'un côté du tronc cérébral envoie des projections vers le NVM, le noyau vestibulaire descendant (NVD) et le NVS contralatéraux (Barmack 2003). Chez les Mammifères, ce système est décrit comme majoritairement, mais non exclusivement, inhibiteur (Babalian et col. 1997; Highstein et col. 1987a). Classiquement, on décrit la projection excitatrice de neurones vestibulaires secondaires activés par un mouvement de la tête vers le côté où se situe leurs somas sur des interneurones inhibiteur locaux du noyau contralatéral qui ensuitent inhibent les neurones vestibulaires secondaires contralatéraux. Toutefois, d'autres schémas ont été envisagés, comme la projection directe de neurones secondaires inhibiteurs sur les neurones vestibulaires contralatéraux.

Une partie du cervelet est impliquée dans le contrôle de l'activité des noyaux vestibulaires, il s'agit du vestibulo-cervelet. Il est composé de parties des hémisphères cérébelleux (flocculus, paraflocculus) et du vermis (nodulus, uvula). Différents rôles fonctionnels ont été attribués aux structures qui forment le cervelet vestibulaire (Wilson et Melvill Jones 1979): le flocculus modulerait principalement les propriétés dynamiques (gain, phase) du réflexe vestibulo-oculaire tandis que le nodulus et l'uvula influenceraient plutôt les réflexes vestibulo-colliques (qui stabilisent la tête dans l'espace) et vestibulo-spinaux (qui stabilisent le tronc et les membres et permettent le contrôle postural). Cohen et col. (Cohen et col. 1992) ont montré qu'une lésion des flocculi altérait l'adaptation du gain du réflexe vestibulo-oculaire (recalibrage du gain suite à un changement perceptif, comme par exemple un changement perceptif visuel lors du port de prismes), mais pas son habituation (diminution du gain suite à la répétition d'un stimulus), alors qu'une lésion de l'ensemble nodulus-uvula empêchait l'habituation mais pas l'adaptation. Le vermis du vestibulo-cervelet se projette

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

massivement sur le NVL. Les principales afférences cérébelleuses des neurones du NVM sont des projections ipsilatérales en provenance du flocculus et de l'uvula. Notons qu'une minorité de neurones du NVM est la cible d'une inhibition directe par les cellules de Purkinje du floculus ipsilateral (Babalian et Vidal 2000). Ces neurones vestibulaires secondaires sont appelés FTN (pour Floccular Target Neurons, neurones-cibles du flocculus).

Les noyaux vestibulaires reçoivent également des afférences proprioceptives qui proviennent essentiellement de la moelle épinière. Des auteurs (Mehler et Rubertone 1986) ont proposé de distinguer un système spino-vestibulaire ascendant médian qui provient de la moelle cervicale et est surtout en relation avec le NVM, d'un système ascendant latéral provenant des étages thoraciques et lombaires et qui impliquerait plus spécifiquement le NVD et le NVL. Ces projections peuvent être directes, ou se faire *via* des collatérales d'axones des faisceaux spino-cerebelleux. (Lacour et Borel 1993).

Enfin, les noyaux vestibulaires reçoivent des afférences d'origine visuelle qui transmettent des signaux issus du glissement du monde visuel sur la rétine. Ces signaux sont relayés par de nombreuses structures, parmi lesquelles le système optique accessoire, l'olive inférieure et le cervelet, le noyau reticularis tegmentis ponti (NRTP) et/ou le noyau prepositus hypoglossi (Lacour et Borel 1993).

L'ensemble de ces informations afférentes, vestibulaires ou non, convergent donc sur les neurones vestibulaires secondaires qui vont les intégrer pour produire une réponse motrice adaptée. Nous allons maintenant détailler les efférences des noyaux vestibulaires, et plus particulièrement les projections des différents noyaux vestibulaires sur les noyaux moteurs impliqués dans les réflexes d'origine vestibulaire.

A.IV. Efférences des noyaux vestibulaires et contrôle du regard et de la posture

Parmi les synergies de stabilisation d'origine vestibulaire, on distingue les réflexes vestibulo-oculaire et vestibulo-spinal. Le réflexe vestibulo-spinal permet d'activer les muscles du cou et les muscles responsables du contrôle postural afin de maintenir l'équilibre du corps et de la tête dans l'espace. Le réflexe vestibulo-oculaire est à l'origine des mouvements des

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

yeux permettant de stabiliser le monde visuel sur la rétine au cours de mouvements de la tête. Ces réflexes, ou synergies, sont particulièrement étudiés car ils constituent un système sensori-moteur dont les entrées (mouvements de la tête) et les sorties (mouvements des yeux, rotations du cou et mouvements du corps) sont précisément quantifiables. La physiologie du réflexe vestibulo-oculaire est particulièrement bien décrite et l'anatomie des muscles qui permettent les mouvements oculaires dans toutes les directions est bien connue, ce qui fournit un modèle tridimensionnel idéal du couplage entre perception sensorielle et action motrice.

A.IV.1. Anatomie des projections vestibulaires et physiologie des motoneurones

Une classification des neurones vestibulaires secondaires a été proposée sur des bases morphologiques, en fonction de leurs aires de projection spinale ou oculomotrice (Graf et Ezure 1986). En effet, les neurones vestibulaires centraux se projettent mono ou polysynaptiquement sur les motoneurones spinaux à différents étages de la moelle épinière, mais aussi sur les motoneurones oculomoteurs, et sur plusieurs aires du cortex cérébral *via* le thalamus. De plus il existe d'importantes projections vers le cervelet (Vermis antérieur et postérieur ; flocculus), qui viennent notamment des neurones du NVM. (Barmack 2003).

On décrit classiquement les systèmes vestibulo-spinal et vestibulo-oculomoteur comme deux entités distinctes, bien qu'il soit clairement établi que certains neurones vestibulaires secondaires sont impliqués simultanément dans ces deux systèmes (neurones vestibulo-oculo-spinaux) (Berthoz 1989; McCrea et col. 1980; Straka et col. 2004). Les neurones vestibulaires agissent au sein de ces deux systèmes *via* des projections excitatrices et inhibitrices. (Vidal et Benazet 1993; Wilson et col. 1995)

Le système vestibulo-spinal participe aux réactions d'équilibration de la tête et du corps dans l'espace. Il est constitué de trois faisceaux : les faisceaux vestibulo-spinaux latéral (FVSL), médian (FVSM) et caudal (FVSC) (Wilson et col. 1995).

-Le FVSL est constitué exclusivement des axones de neurones du NVL. Il est strictement unilatéral et ses projections lombaires (neurones à axones longs) et cervicales (neurones à axones courts) sont organisées de façon somatotopique selon un gradient dorso-ventral : les neurones à axones longs sont situés préférentiellement en position dorsale et ceux à axones courts en position ventrale. Le FVSL exerce des

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

effets facilitateurs sur les motoneurones alpha et gamma des muscles extenseurs impliqués dans le maintien de la posture (Wilson et Melvill Jones 1979).

-Le FVSM est constitué des axones de neurones vestibulaires des noyaux médian, latéral, et descendant. Il est bilatéral et ses projections sont principalement cervicales et thoraciques.

-Finalement, le FVSC est issu majoritairement de neurones du NVD dont les projections sont lombaires. Il est bilatéral. Le noyau vestibulaire supérieur est le seul noyau à n'envoyer aucune projection directe vers la moelle épinière.

Le système vestibulo-oculomoteur permet quant à lui la stabilisation de l'image visuelle sur la rétine pendant les mouvements de la tête. Les réflexes vestibulo-oculaires induisent des mouvements lents compensateurs de l'œil (de directions opposées mais de vitesse équivalente aux mouvements de la tête) et des mouvements rapides de recentrage de l'œil dans l'orbite. Les acteurs moteurs de ce système sont les motoneurones des noyaux oculomoteur (noyau III), trochléaire (noyau IV) et abducens (noyau VI) qui innervent chacun un ou plusieurs (*cf. tableau ci-dessous*) des six muscles extraoculaires (muscles droit supérieur, droit inférieur, latéral, droit interne, petit oblique et grand oblique) (Buttner-Ennever et col. 2001; Schubert et Minor 2004). Notons que le noyau abducens contient également des neurones inter-nucléaires dont les axones croisent la ligne médiane et contactent monosynaptiquement les motoneurones du muscle extra-oculaire droit interne.

	Noyau oculomoteur N III	**Noyau trochléaire N IV**	**Noyau abducens N VI**
Ipsilatéral	Droit inférieur ; Droit interne ; Petit oblique	-	Droit latéral
Contralatéral	Droit supérieur	Grand oblique	Droit interne (neurones inter-nucléaires)

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

L'arc réflexe à trois neurones qui constitue l'ossature du réflexe vestibulo-oculaire (RVO) constitue la voie la plus directe à l'origine des mouvements oculaires qui stabilisent le regard (Baker et col. 1981). Le RVO consiste en une voie réflexe de base très conservée dans l'évolution, complétée par d'autres voies qui lui donnent des capacités adaptatives qui varient d'une espèce à l'autre. La voie réflexe de base est organisée de façon semblable chez les différentes espèces de Vertébrés (Babalian et col. 1997; Baker 1998; Dieringer et col. 1996; Straka et Dieringer 1993). Cet arc réflexe comprend le neurone vestibulaire sensoriel qui transmet les informations issues des mécanorécepteurs des organes vestibulaires, le neurone vestibulaire secondaire qui intègre les différentes informations sensorielles, et le motoneurone oculaire qui reçoit l'ordre moteur qu'il transmet aux fibres musculaires. Une part importante des projections vestibulo-oculaires sont issues des NVS et NVM. Contrairement aux projections vestibulo-spinales, elles ne sont pas organisées en faisceaux.

Les propriétés électrophysiologiques des motoneurones impliqués dans les mouvements de l'œil ont été très étudiées au cours des années 80. Ainsi chez le rat et la grenouille aussi bien *in vivo* que *in vitro* (Dieringer et Precht 1986; Durand 1989; Gueritaud 1988), les motoneurones du noyau abducens peuvent être classés en différents groupes qui diffèrent par la dynamique de leurs réponses. Chez la grenouille par exemple, deux groupes de motoneurones de grande et moyenne taille ont des propriétés phasiques, et sont associés à un groupe de neurones de taille inférieure aux propriétés de décharges toniques (Dieringer et Precht 1986).

Compte tenu de l'importance des travaux effectués *in vivo* concernant le réflexe vestibulo-oculaire dans le plan horizontal, mais également de la place prépondérante des neurones du noyau vestibulaire médian dans les études menées *in vitro*, nous allons présenter ici le détail de ce réflexe considéré comme un bon exemple des réflexes d'origine vestibulaire.

A.IV.2. Le réflexe vestibulo-oculaire angulaire horizontal (RVOh)

Les canaux horizontaux sont principalement connectés aux muscles droit interne et droit latéral qui contrôlent les mouvements horizontaux de l'œil, selon des voies qui ont été bien décrites (Baker et col. 1981; Berthoz 1989; Dieringer et col. 1996; Maeda et col. 1972;

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

Vidal et Benazet 1993). L'étude du RVO est essentiellement caractérisée expérimentalement par l'étude des variations du gain (rapport entrée/sortie, c'est-à-dire le rapport entre le mouvement effectué et la réponse motrice produite, de l'œil dans le cas du RVO, du cou et du tronc dans le cadre des réflexes vestibulo-cervical et vestibulo-spinal. Un gain normal est de valeur égale à 1) et de la phase (la phase est le décalage dans le temps entre les mouvements effectués et la réponse motrice).

Le mouvement oculaire engendré par une rotation de la tête comporte deux phases, qui alternent régulièrement : la phase lente est un déplacement de l'œil de sens opposé à la rotation de la tête, mais de vitesse similaire, qui permet donc la stabilisation du regard; à chaque phase lente succède un déplacement rapide de l'œil dans le sens de la rotation de la tête qui permet sa réorientation rapide dans l'orbite. La succession de ces deux mouvements antagonistes définit le nystagmus vestibulo-oculaire. La description qui suit, issue de Vidal et Benazet (1993) pourra être suivie à l'aide des figures 8 (pour la phase lente) et 9 (pour la phase rapide).

Les neurones vestibulaires secondaires excitateurs (en bleu foncé) et inhibiteurs (en noir) à l'origine du RVOh sont essentiellement situés dans le noyau vestibulaire médian, où ils sont contactés monosynaptiquement par les fibres du nerf vestibulaire ipsilatéral. Les axones des neurones vestibulaires secondaires excitateurs croisent la ligne médiane et se projettent, entre autres, sur :

- les neurones vestibulaires de type II du noyau médian contralatéral, *via* les fibres commissurales (interneurones inhibiteurs T II, en noir);
- les motoneurones extra-oculaires (MN VI, en rouge) et les neurones internucléaires de l'abducens contralatéral;
- les neurones du noyau prepositus hypoglossi (NPH., en bleu clair);
- les neurones de contrôle de la phase rapide (NCP, en rose).

Les axones issus des neurones vestibulaires secondaires inhibiteurs (TI) ne croisent pas la ligne médiane, mais se distribuent ipsilatéralement sur les mêmes structures, de façon symétrique.

Les neurones vestibulaires de type II, activés par les rotations de la tête vers le côté contralatéral à leur corps cellulaire, sont des interneurones inhibiteurs localisés dans le noyau

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

vestibulaire médian où ils sont excités par les fibres commissurales issues du noyau médian contralatéral et par les neurones excitateurs phasiques ipsilateraux. Ils interviennent pendant la phase rapide et inhibent monosynaptiquement les neurones vestibulaires secondaires ipsilatéraux. Les neurones de l'abducens, motoneurones et neurones internucléaires, sont eux à l'origine des mouvements conjugués des yeux en réponse aux stimulations vestibulaires, en permettant simultanément l'abduction de l'œil contralatéral et l'adduction de l'œil ipsilatéral (Delgado-Garcia et col. 1986a; Delgado-Garcia et col. 1986b).

A.IV.2.1. Les phases lentes

Lorsque la tête tourne vers la gauche, l'activation du canal horizontal stimule les afférences sensorielles vestibulaires de ce côté (en vert plein sur la figure 8). Les neurones vestibulaires secondaires du noyau vestibulaire médian gauche (en bleu foncé) sont activés, et sont aussi désinhibés suite à la diminution des décharges des interneurones locaux de type II (en noir pointillé). Du côté droit, les neurones vestibulaires secondaires sont au contraire inhibés (en bleu foncé pointillé) car la décharge des afférences vestibulaires diminue (en vert pointillé), tandis que les interneurones inhibiteurs de type II (en noir) sont activés par les fibres commissurales issues du noyau médian gauche. En conséquence, les motoneurones et les neurones internucléaires de l'abducens droit (en rouge) sont à la fois excités (par les neurones vestibulaires secondaires gauches, en bleu foncé plein) et désinhibés (par l'arrêt de la décharge des neurones vestibulaires secondaires droits, indiqués en bleu foncé pointillé), tandis que ceux de l'abducens gauche (en rouge pointillé) sont simultanément inhibés et disfacilités : les deux globes oculaires tournent alors horizontalement vers la droite, à la même vitesse que la tête qui tourne vers la gauche, et le regard est stabilisé.

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

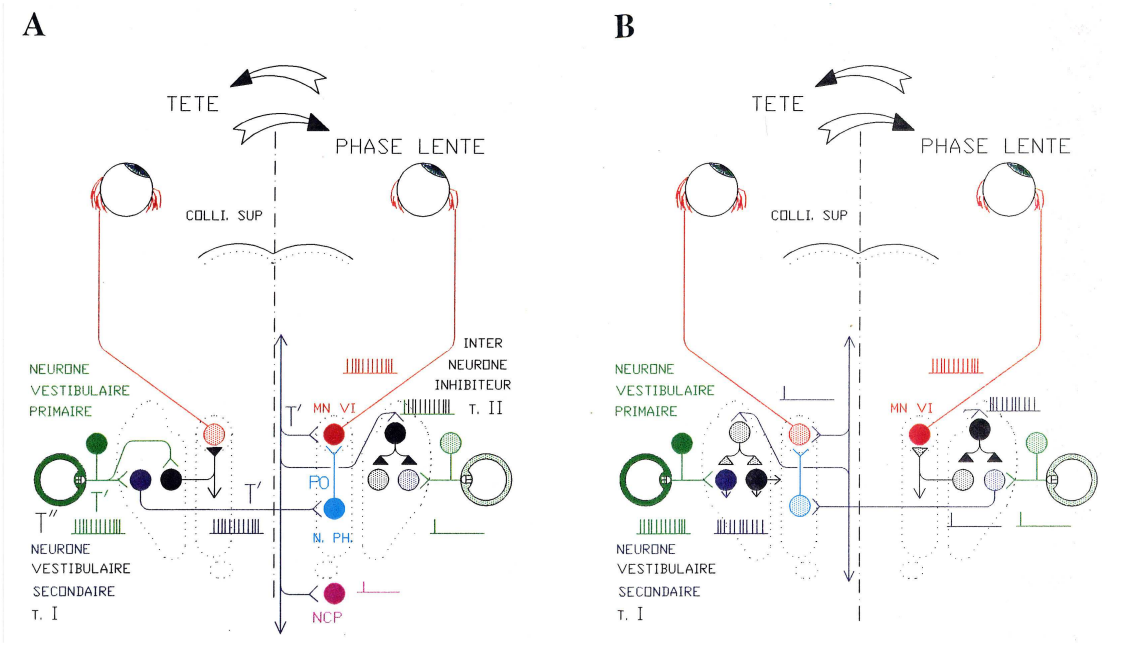


Figure 8: schéma illustrant les différents neurones impliqués dans les phases lentes du réflexe vestibulo-oculaire horizontal. A: Activation par le côté ipsilatéral à la rotation. B: Inhibition simultanée par le côté contralatéral à la rotation. En vert, canaux semi-circulaires et neurone vestibulaire primaire. En bleu, neurone vestibulaire secondaire excitateur. En noir, neurone vestibulaire secondaire inhibiteur.En rouge, motoneurone extra-oculaire du noyau abducens (MN VI). En bleu clair, neurone du noyau prepositus hypoglossi (NPH). En rose, neurone de contrôle de la phase rapide (NCP). Les couleurs pleines indiquent une excitation du neurone, les pointillés une inhibition.

A.IV.2.2. Intégrateur neuronal

Une autre structure, le noyau Prepositus Hypoglossi (PH), joue également un rôle important dans le RVOh. Les neurones de ce noyau projettent bilatéralement sur les noyaux VI. Ils reçoivent des afférences vestibulaires en provenance du NVM (et à un degré moindre du NVD), noyau sur lequel ils se projettent en retour. Pour permettre une compensation correcte du mouvement de la tête, la commande motrice des motoneurones doit contenir à la fois un signal de position et un signal de vitesse. Un signal de vitesse seul ne peut suffire car l'œil subirait une dérive qui le ferait constamment revenir à une position centrale (Robinson 1975). Le signal de position qui permet d'éviter cette dérive est obtenu par intégration, effectuée par un intégrateur neuronal, du signal de vitesse issu des afférences vestibulaires. Cet intégrateur neuronal serait situé dans le noyau PH en ce qui concerne le RVO horizontal, et dans le noyau interstitiel de Cajal pour les mouvements verticaux et de torsion. (Fukushima et Kaneko 1995).

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

A.IV.2.3. Les phases rapides

Au cours de ces phases, une commande motrice va dévier le regard vers le côté de la rotation. On assiste à une succession de phases rapides vers la droite, c'est-à-dire vers le côté de rotation de la tête. Les phases rapides nécessitent bien évidemment l'arrêt des phases lentes.

Au bout d'un certain temps d'activation des neurones vestibulaires secondaires du côté gauche, on observe une bouffée de potentiels d'action dans les neurones contrôleurs de la phase rapide du côté droit (en rose plein), ainsi qu'une levée de l'inhibition exercée par les neurones pauseurs (NP, en noir pointillé). L'activation des neurones excitateurs et inhibiteurs phasiques du côté gauche (en bleu clair et noir, respectivement) provoque alors les événements suivants :

- les neurones de l'abducens droit sont disfacilités (en rouge pointillé), car les neurones vestibulaires secondaires excitateurs gauches (en bleu foncé pointillé) sont inhibés par les interneurones de type II locaux (en noir plein);
- ces mêmes neurones sont hyperpolarisés par les neurones inhibiteurs phasiques gauches (en noir plein), et par l'augmentation de décharge des neurones vestibulaires secondaires inhibiteurs ipsilatéraux (également en noir plein);
- les neurones de l'abducens gauche sont désinhibés (en rouge plein), car la décharge des neurones vestibulaires secondaires inhibiteurs gauches (en noir pointillé) a cessé;
- ces mêmes neurones sont excités par les neurones excitateurs phasiques gauches (en bleu clair plein), et les neurones vestibulaires secondaires excitateurs droits (en bleu foncé plein) qui sont maintenant activés.

De fait, alors que la tête continue à tourner vers la gauche, les globes oculaires tournent horizontalement à grande vitesse dans la même direction, et le regard est réorienté.

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

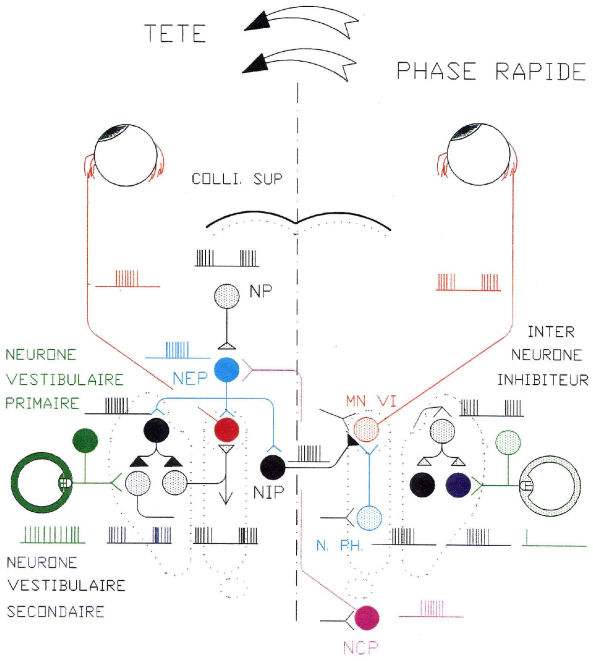


Figure 9: schéma illustrant les différents neurones impliqués dans les phases rapides du réflexe vestibulo-oculaire horizontal. Les couleurs correspondent à celles décrites sur la figure 8, sont impliqués en plus les neurones pauseurs (NP) qui relâchent leur contrôle inhibiteur sur les neurones phasiques (excitateurs, NEP, en bleu clair plein; inhibiteurs, NIP, en noir). Les couleurs pleines indiquent une excitation du neurone, les pointillés une inhibition.

Maintenant que nous connaissons les différents acteurs impliqués dans le traitement des informations vestibulaires, nous allons nous intéresser plus spécifiquement aux neurones vestibulaires secondaires, sur lesquels j'ai réalisé l'ensemble de mes travaux expérimentaux. Nous allons tout d'abord détailler leurs propriétés électrophysiologiques, avant d'évoquer quelques données relatives à leur développement et leurs propriétés neurochimiques.

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001 ; Vidal et Benazet 1993 ; Goldberg 2000.

B. Les neurones vestibulaires secondaires

Nous avons vu que les neurones vestibulaires secondaires sont localisés au sein de 4 noyaux différents situés dans le tronc cérébral. Le rôle physiologique de ces cellules est bien déterminé. Elles participent aux transformations sensorimotrices à l'origine du contrôle du regard et de la posture en intégrant les informations d'origine vestibulaires aux signaux provenant d'autres modalités sensorielles et d'autres structures, ce qui leur permet d'élaborer une représentation interne tridimensionnelle de la position et des mouvements de la tête et du corps dans l'espace. Comme mon travail de thèse repose sur des techniques électrophysiologiques, nous allons voir ici quels ont été les travaux effectués dans ce domaine sur les neurones vestibulaires secondaires. L'approche utilisée au sein du L.N.R.S est résolument intégrative et orientée vers la fonction, et c'est donc tout naturellement que nous allons débuter cette présentation des propriétés électrophysiologiques des neurones vestibulaires secondaires par un aperçu des données obtenues *in vivo*. Nous complèterons cette description électrophysiologique par quelques notions de développement et de neurochimie des neurones vestibulaires secondaires.

B.I. Propriétés électrophysiologiques des neurones vestibulaires secondaires chez l'animal adulte

Les neurones vestibulaires secondaires présentent chez les Mammifères une activité spontanée de décharge de potentiels d'action, même en absence de mouvement de la tête et donc de stimulation vestibulaire (revue dans Darlington et col. 1995). Nous allons voir que les résultats des expériences menées *in vivo* qui classent les neurones en fonction de leurs réponses fonctionnelles dépendent grandement du protocole expérimental utilisé.

B.I.1. Données obtenues *in vivo*

Classification des neurones en fonction de la spécificité spatiale de leurs réponses Les premières études électrophysiologiques *in vivo* ont montré qu'en absence de stimulation, les neurones vestibulaires secondaires forment un continuum entre des cellules qui présentent

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001

une activité de décharge spontanée régulière et d'autres qui présentent une activité spontanée irrégulière (Precht et Shimazu 1965; Ris et col. 1995; Shimazu et Precht 1965). Les enregistrements des neurones vestibulaires réalisés *in vivo* s'attachent à décrire la modulation de l'activité des cellules en réponse à des mouvements orientés dans les 3 plans de l'espace. Ces expériences ont conduit à l'établissement de différentes catégories neuronales en fonction de la spécificité spatiale de leurs réponses à des stimulations canalaires ou otolithiques (ce qui correspond au champ récepteur des neurones sensoriels, et au champ de mouvement des motoneurones), c'est-à-dire en fonction de l'orientation des mouvements qui stimulent les neurones. Quatre types d'unités canalaires ont ainsi été individualisés dans les noyaux vestibulaires en fonction de leurs réponses aux accélérations angulaires dans leur plan d'activation (par exemple : réponse d'un neurone du NVM à une rotation dans le plan horizontal).

-Les neurones de type I sont les plus nombreux, ils sont activés par une rotation de la tête orientée vers le côté de leur soma et inhibés par une rotation contralatérale. Shimazu et Precht ont subdivisé ceux-ci en neurones toniques et phasiques en fonction de la dynamique de leurs réponses (*voir ci-dessous*).

-Les neurones de type II présentent un schéma d'activation inverse, et sont donc activés par une rotation orientée contralatéralement au côté où est localisé leur soma et inhibés par une rotation orientée ipsilatéralement.

-Les neurones de type III et IV, nettement moins nombreux, répondent respectivement par une augmentation et une diminution de leur décharge quel que soit le sens de la rotation.

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001

Réponses canalaires	Rotation horizontale	
Type	ipsilatérale	contralatérale
I	+	-
II	-	+
III	+	+
IV	-	-

Table 1 : ableau résumant les critères de classification des neurones vestibulaires en fonction de leurs réponses à des rotations horizontales.

Les neurones qui présentent une activité spontanée régulière et une faible sensibilité aux stimulations, sont dits “ toniques ”. Les autres neurones, qui déchargent de manière généralement irrégulière au repos et semblent plus sensibles aux stimulations vestibulaires, sont dits “ cinétiques ” ou “ phasiques ”.

-Les neurones phasiques se caractérisent par une décharge spontanée irrégulière, un gain (rapport de la modulation de la fréquence de décharge en fonction de l’amplitude de l’accélération angulaire) élevé des réponses, et une grande sensibilité aux stimulations de faible amplitude. La latence de leurs réponses est par ailleurs très rapide. Ces neurones seraient particulièrement impliqués dans le codage des mouvements de la tête à haute fréquence, au cours desquels ils fonctionneraient comme détecteurs de signaux. Ils joueraient ainsi un rôle essentiel dans le contrôle moteur au cours de perturbations brutales de la position de la tête.

-Les neurones toniques ont une décharge spontanée plus élevée et plus régulière, un gain plus faible et une sensibilité moindre. Ces neurones assureraient essentiellement le codage des mouvements de la tête à basse fréquence. Ils joueraient aussi un rôle dans la stabilité du regard et de la posture au repos. Comme nous l’avons vu, cette distinction entre neurones toniques et phasiques / cinétiques s’applique également aux afférences vestibulaires sensorielles (revue dans Goldberg 2000).

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001

Sur le modèle des unités canalaires, les unités otolithiques ont été individualisées en fonction de leur réponse à des inclinaisons statiques. Les neurones qui répondent à ce type de stimulations sont principalement localisés dans les noyaux vestibulaires latéral et descendant.

Réponses otolithiques	Inclinaison latérale	
Type	Côté ipsilatéral vers le bas	Côté contralatéral vers le bas
α	+	-
β	-	+
γ	+	+
δ	-	-
	Inclinaison antéropostérieure	
Type	Vers l'avant	Vers l'arrière
1	+	-
2	-	+
3	+	+
4	-	-

Table 1 : tableau résumant les critères de classification des neurones vestibulaires en fonction de leurs réponses à des rotations inclinaisons latérales ou antéropostérieures.

Autres types de classifications utilisées *in vivo* Cette classification des neurones en fonction de leur type de réponse aux stimulations vestibulaires *in vivo* est la plus simple et la plus répandue. Il en existe cependant de nombreuses autres, plus évoluées, qui viennent s'ajouter à celle-ci et précisent les réponses des neurones dans des systèmes et des modèles particuliers. Il est important de noter que les études *in vivo* peuvent difficilement localiser avec précision les neurones vestibulaires enregistrés ; ceux-ci sont définis fonctionnellement selon la réponse fournie aux divers types de stimulus appliqués (le mouvement) : on parle par exemple de neurones purement vestibulaires (pure vestibular neurons) sensibles à une rotation (semicircular canal (SCC) neurons only), à une translation (otolithic neurons only) ou présentant un degré de convergence (SCC + otoliths units (Dickman et Angelaki 2002)).

Il s'agit donc de classifications fonctionnelles des neurones, qui vont dépendre en partie du sujet de l'étude considérée (Cullen et col. 1993; Cullen et McCrea 1993; Cullen et Roy 2004; McCrea et Luan 2003; Roy et Cullen 2004). Par exemple, de nombreux groupes

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001

travaillant sur les neurones impliqués dans le réflexe vestibulo-oculaire chez les Primates classent les neurones vestibulaires selon que :

-ils répondent différemment à des mouvements limités à la tête ou de l'ensemble du corps (whole body rotation Vs Head on body rotation).

-les neurones répondent différemment au cours de mouvement passifs (imposés) ou actifs (l'animal réalise volontairement le mouvement).

-leur activité, modulée au cours du RVO, est supprimée au cours de l'abolition volontaire du RVO.

-leurs réponses sont sensibles aux mouvements rapides des yeux ou non (non-eye movement Vs eye movement-related neurons).

-leurs réponses sont modulées au cours d'un mouvement de poursuite oculaire, ou au cours de la fixation d'une cible fixe.

-leurs réponses sont sensibles dans le maintien de la position des yeux dans l'orbite ou non.

Il existe également des différences importantes selon que les groupes travaillent sur des espèces dont les yeux sont frontaux ou latéraux, selon que ces espèces sont capables de fovéaliser ou non. Certains animaux disposent d'une fovéa, située au centre de l'œil, qui est une petite zone où la vision est très performante. Cette fovéa étant très petite, l'image qui s'y projette doit être quasi-immobile pour être correctement analysée et l'œil doit donc être parfaitement stabilisé par rapport à l'objet d'intérêt. Différentes informations interviennent dans ce processus : la vitesse de défilement de la scène visuelle sur la rétine, et bien sûr la vitesse du mouvement de la tête détectée par les récepteurs proprioceptifs du cou et par le système vestibulaire.

Données chez le cobaye Comme nous l'avons précisé, de nombreuses études s'intéressent au RVO dans le plan horizontal, ce qui revient à étudier des neurones localisés surtout dans le NVM, mais aussi dans le NVS et le NVL (Ris et col. 1995). Notre groupe a ainsi enregistré chez le cobaye éveillé les neurones vestibulaires secondaires répondant à des rotations sinusoïdales de basse fréquence (jusqu'à 3Hz) dans le plan horizontal. Leur décharge spontanée moyenne est voisine de 40 Hz, leur coefficient de variation (CV) moyen est de 0,7

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001

(Ris et Godaux 1998a; Ris et Godaux 1998b). Le coefficient de variation est un indicateur de dispersion utilisé dans l'analyse d'une variable numérique dont on a calculé la moyenne et l'écart-type, qui est égal au rapport entre ces deux valeurs. Plus le coefficient de variation est élevé, plus la dispersion autour de la moyenne des intervalles entre potentiels d'action est grande, et donc moins la décharge est régulière. Au cours de mouvements sinusoïdaux, la décharge des neurones vestibulaires secondaires code essentiellement la vitesse de la tête. Certains neurones sont également sensibles à la composante horizontale de la position de l'œil, et environ la moitié présente un arrêt de leur décharge au cours des phases rapides du nystagmus dirigées vers le côté ipsilatéral et décharge une bouffée de potentiels d'action au cours des phases rapides dirigées vers le côté contralatéral. Ces caractéristiques sont en accord avec les données obtenues chez le chat et le singe (Berthoz 1989; Scudder et Fuchs 1992; Shimazu et Precht 1965).

Quels rôles spécifiques jouent les neurones toniques et les neurones phasiques dans le traitement des informations vestibulaires ? Comme nous l'avons évoqué, certaines études font état d'une ségrégation partielle entre les afférences vestibulaires irrégulières, qui se projettent majoritairement sur les neurones phasiques, et les afférences régulières, qui se projettent majoritairement sur les neurones toniques (Goldberg et col. 1987; Highstein et col. 1987b; Sato et Sasaki 1993). Cette observation soutiendrait l'idée évoquée dès le début des années 80 d'une organisation des réseaux vestibulaires en voies parallèles de traitement des informations sensorielles en fonction de la fréquence des mouvements de la tête (Baker et col. 1981; Lisberger et col. 1983; Peterson 1998). Compte tenu de la différence des contraintes biomécaniques mises en jeu entre les mouvements de l'oeil et ceux de la nuque ou du tronc, il a également été suggéré que les neurones toniques seraient plus particulièrement impliqués dans les synergies vestibulo-oculaires et les neurones phasiques dans les synergies vestibulo-spinales (Boyle et col. 1992; Highstein et col. 1987b; Iwamoto et col. 1990a; Iwamoto et col. 1990b). Une dernière hypothèse émise par Angelaki et Perachio en 1993 propose que les neurones phasiques seraient plus aptes à fournir les signaux d'entrée du système de stockage de vitesse responsable de l'allongement de la constante de temps du réflexe vestibulo-oculaire (Raphan et col. 1979) observé au cours de rotations à vitese constante (Angelaki et Perachio 1993).

Les informations données ici sont issues de plusieurs références parmi lesquelles de Waele et Tran Ba Huy 2001

B.I.2. Données obtenues *in vitro*

Au cours de ces 20 dernières années, de nombreux groupes ont développé des préparations *in vitro* (revue dans Darlington et col. 1995) afin d'étudier à l'aide d'enregistrements intracellulaires les propriétés intrinsèques des neurones vestibulaires, et ce sur des modèles animaux variés comme le rat (Gallagher et col. 1985; Johnston et col. 1994), la souris (Dutia et col. 1995; Johnston et Dutia 1996), le cobaye (Serafin et col. 1991a; Serafin et col. 1991b) ou encore le poulet (du Lac et Lisberger 1995; Peusner et Giaume 1989). Contrairement aux études menées *in vivo*, les études sur tranches de tronc cérébral permettent de localiser précisément dans quel noyau et dans quelle partie de ces noyaux les neurones sont enregistrés. En revanche, il n'est pas possible d'identifier fonctionnellement les neurones sur cette préparation, et notamment de savoir si les neurones enregistrés sont ou non des neurones vestibulaires secondaires (recevant donc une entrée monosynaptique d'origine vestibulaire). Ce problème technique est en partie résolu grâce à la préparation de cerveau entier isolé *in vitro,* qui préserve l'intégrité des réseaux et des voies dans lesquels sont insérés les neurones vestibulaires. Babalian et col. (1997) ont utilisé cette préparation chez le cobaye. Leurs enregistrements intracellulaires, réalisés à l'aide d'électrodes identiques à celles que nous utilisons sur tranches, ont permis d'estimer que 80 % des neurones enregistrés dans le NVM sont effectivement des neurones vestibulaires secondaires.

Décharge spontanée et définition des propriétés intrinsèques Une caractéristique particulière des neurones vestibulaires enregistrés sur des tranches de cerveau de Mammifères *in vitro* est leur activité de décharge spontanée (pacemaker). Cette activité intrinsèque est modulée par les agonistes et antagonistes de nombreux récepteurs aux neurotransmetteurs (Darlington et col. 2002 pour revue). De plus, elle persiste même en situation de blocage pharmacologique des entrées synaptiques chimiques par perfusion d'une solution à haute concentration en magnésium et basse concentration en calcium (Darlington et col. 2002; Vibert et col. 2000), d'un cocktail d'antagonistes des principaux récepteurs aux acides aminés excitateurs et inhibiteurs (Ris et col. 2001a). L'activité spontanée persiste aussi *in vitro* lorsque le NVM est isolé du reste de la tranche après dissection (Darlington et Smith 2000).

Il est important de noter que l'ensemble des études menées *in vitro* porte quasi-exclusivement sur les neurones du noyau vestibulaire médian, principalement impliqués dans le contrôle du regard et de la posture dans le plan horizontal. Il existe peu d'études spécifiques

des autres noyaux vestibulaires. Sun et col. (2002) ont comparé l'activité extracellulaire au sein des différents noyaux vestibulaires sur une préparation de tranches de tronc cérébral de rats adultes. Ils ont trouvé au sein des noyaux vestibulaires des activités comparables en terme de régularité : dans leur étude, les neurones sont considérés comme réguliers pour des valeurs de CV≤ 0,5. 98 % de neurones réguliers ont été obtenus dans le NVM, 73 % dans le NVL, 88 % dans le NVS et 89 % dans le NVD. Le NVM est le noyau le plus dense en terme d'activité, alors que le NVL est le moins dense, ce qui confirme les différences de densités neuronales observées à l'aide de techniques de morphométrie (Suarez et col. 1997; Suarez et col. 1993); enfin l'activité spontanée moyenne des neurones est plus élevée dans le NVS (24 Pa/s) et le NVM (21 Pa/s) que dans le NVL (17,5 Pa/s) et le NVD (17 Pa/s). Les neurones vestibulaires enregistrés sur tranches présentent des décharges spontanées essentiellement régulières, contrairement aux neurones enregistrés sur d'autres préparations, notamment la préparation de cerveau entier isolé *in vitro* sur laquelle les neurones sont classables en neurones toniques ou phasiques en fonction de la régularité de leur décharge spontanée.

Le terme "activité intrinsèque" désigne l'activité liée à l'ensemble des conductances voltage dépendantes qui contrôlent l'excitabilité neuronale et qui confèrent aux neurones leur propriété d'autorythmicité (ou d'activité type "pacemaker"). Suivant la définition donnée par Llinás (1988), nous considérerons dans la suite de ce document que les variations de propriétés membranaires intrinsèques excluent les changements attribuables à la régulation du nombre, de l'affinité ou de l'efficacité (couplage récepteur-effecteur) des récepteurs aux neurotransmetteurs ou neuromodulateurs.

B.I.2.1. Classification des neurones du noyau vestibulaire médians *in vitro*

Une classification qualitative des neurones du noyau vestibulaire médian enregistrés *in vitro* sur tranches de tronc cérébral a été proposée en 1991 par Serafin et col. à partir d'enregistrements réalisés chez le cobaye adulte. Cette classification décrit deux grands types cellulaires, distingués qualitativement en fonction de leurs propriétés membranaires (*voir figure 10 et table 3 ci-dessous, et notre étude p.97 pour une description détaillée des types A et B*).

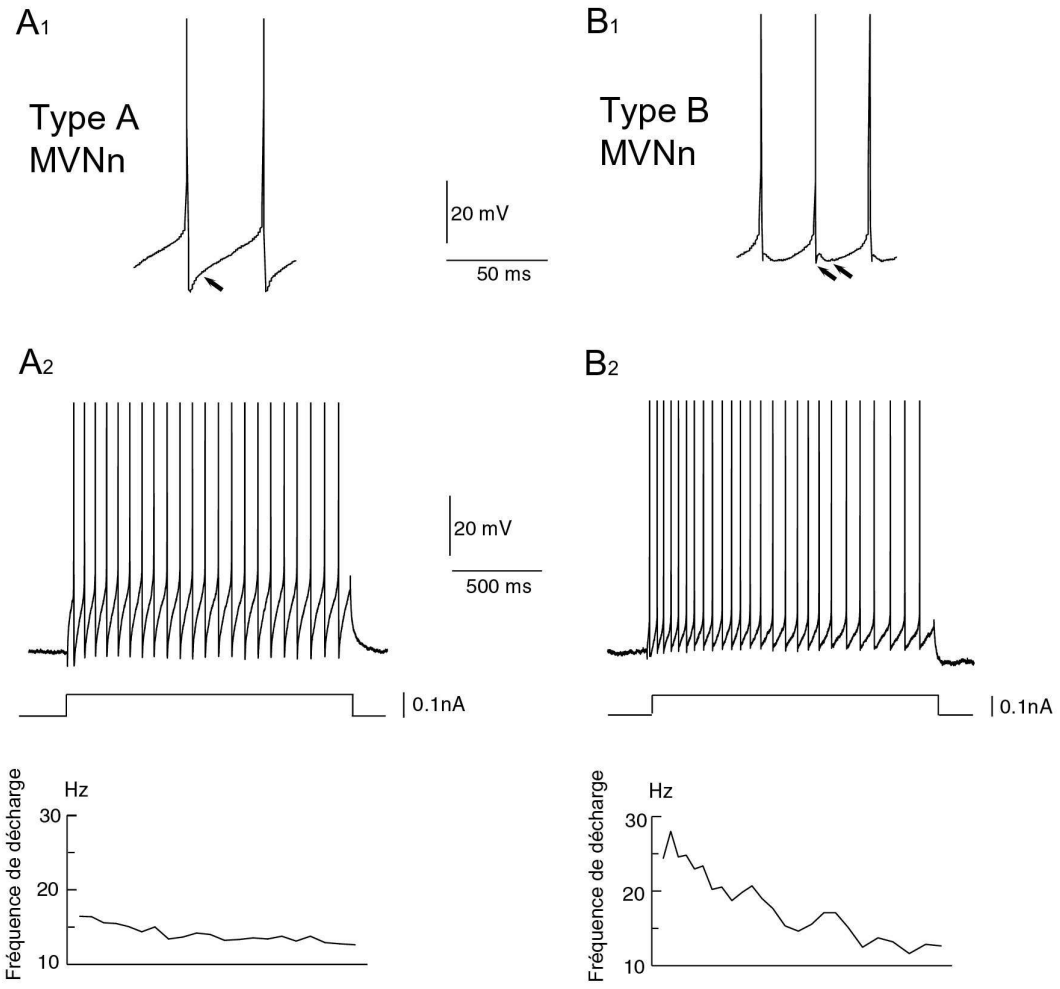


Figure 10: Exemple de neurones vestibulaires médians de type A et de type B A1: les neurones de type A ont une AHP monophasique et de grande amplitude. Ils sont caractérisés par la présence au cours de l'intervalle entre deux potentiels d'action d'un courant rectificateur activé au retour de l'AHP et qui retarde l'apparition du potentiel d'action suivant.B1: les neurones de type B sont caractérisés par une AHP biphasique de faible amplitude. En réponse à une dépolarisation, les neurones de type A (A2) présentent une fréquence de décharge quasi constante, alors que les neurones de type B (B2) présentent une adaptation non-linéaire de leur fréquence de décharge.

type	Pourcentage de la population totale	Principales propriétés biophysiques
A	environ 35 %.	Potentiel d'action en général de durée > 1ms au seuil. AHP monophasique de forte amplitude (15-25 mV). Expriment un courant potassique rectificateur de type I_A, mais non sensible à la 4-aminopyridine. (I_{4APR}) Courants calciques de faible amplitude.
B	environ 50%.	Potentiel d'action moins large. AHP biphasique de plus faible amplitude (10-15 mV). Courants calciques de forte amplitude. Présence d'une conductance sodique persistante de seuil inférieur à celui des potentiels d'action, résistante à la tétrodotoxine. Environ 20% des types B présentent des potentiels calciques à seuil bas (LTS).
C	environ 15 %.	Sous population hétérogène, avec de nombreuses cellules aux propriétés intermédiaires entre les A et les B.

Table 3 : tableau résumant les principales propriétés membranaires qualitatives des neurones vestibulaires médians de type A et de type B.

Cette classification repose notamment sur la forme et l'amplitude de la post-hyperpolarisation (AHP pour *after hyperpolarizing potential*) qui suit le potentiel d'action. Cette AHP est due à l'activation de plusieurs conductances potassiques dont certaines, comme nous allons le voir, sont dépendantes de la concentration intracellulaire en calcium. L'AHP joue un grand rôle dans la régulation de la décharge des neurones. Une AHP profonde comme celle des cellules de type A a pour conséquence de stabiliser la fréquence de décharge de potentiels d'action (Babalian et col. 1997). Cette caractéristique est renforcée par la présence d'un courant rectificateur dont la nature exacte n'a pas été élucidée. Lié à une conductance potassique activée uniquement lors des dépolarisations, ce courant joue le rôle d'un frein qui retarde le déclenchement du potentiel d'action suivant au retour de l'AHP. Il diminue

également l'excitabilité neuronale en ralentissant l'apparition de potentiels d'action en réponse aux stimulations excitatrices.

Les neurones de type B sont caractérisés par la présence d'une AHP biphasique et de plus faible amplitude, composée d'une composante rapide et d'une composante lente. Un courant sodium qui ne présente pas d'inactivation pendant plusieurs centaines de millisecondes, dit courant sodique persistant, est présent dans la très grande majorité des neurones de type B, mais peut également être trouvé dans une minorité de neurones de type A. Cette conductance est activée pour des niveaux de potentiels inférieurs au seuil de déclenchement des potentiels d'action (sous liminaires). Il est intéressant de noter que 10 à 20 % des cellules de type B présentent un schéma de décharge particulier lorsqu'elles sont soumises à une forte dépolarisation à partir d'un niveau de potentiel hyperpolarisé. Cette dépolarisation déclenche un potentiel d'action calcique à bas seuil (*low threshold spike* ou LTS). Ces cellules de type B+LTS peuvent décharger des " bouffées " de potentiels d'action sodiques superposées au potentiel d'action calcique dans certaines situations. Ces neurones de type B+LTS sont préférentiellement localisés dans la partie dorso-caudale du noyau (Serafin et col. 1993).

Enfin, une troisième classe de neurones, appelés neurones de type C, constitue une sous-population hétérogène aux propriétés membranaires souvent intermédiaires entre celles des cellules de type A et B. Les cellules de type C représentent environ 15 à 20 % des cellules enregistrées sur tranches.

Données anatomiques et modélisation, structures dendritiques En 1993, le même groupe (Serafin et col. 1993) s'est intéressé à la taille et à la forme des arbres dendritiques des neurones du NVM chez le cobaye en les injectant avec du jaune lucifer. Leurs résultats montrent que les neurones vestibulaires de cobaye sont des neurones de taille moyenne, et que les neurones de type A et de type B présentent des tailles somatiques comparables (29,5 ± 4,15µm pour les neurones de type A, n=12 ; 32,4 ± 3,1µm pour les neurones de type B, n=17). Le soma des neurones de type A est plutôt de forme ovoïde, et leur arborisation dendritique consiste en 2 ou 3 branches principales divisées chacune en 2 à 4 ramifications. Les neurones de type B présentent une forme somatique triangulaire ou ovoïde, et une arborisation dendritique plus développée que celle des neurones de type A, consistant en 3 à 5 branches épaisses rapidement divisées en 2 à 4 branches secondaires. En 1994, Quadroni et Knöpfel ont réalisé des modèles réalistes des neurones de types A et B, élaborés à partir des

données électrophysiologiques obtenues chez le cobaye. Cette étude, contrairement à celle menée par Av-Ron et Vidal (1999) qui repose sur des modèles à compartiment unique, fait appel à des structures dendritiques plus développées pour les neurones de type B (46 compartiments pour les neurones de type A contre 61 pour les neurones de type B, chaque compartiment comportant 13 conductances). La répartition des conductances au sein des différents compartiments dendritiques permet aux auteurs de distinguer les réponses des neurones de type A et B, mais également de rendre compte de l'hétérogénéité des réponses des neurones de type B (type B simple, type B+LTS, courant sodique persistant plus ou moins prononcé). Il est important de noter que les conductances nécessaires au réalisme des modèles des neurones de type A et de type B sont étonnamment semblables, puisqu'ils ne diffèrent que par la dynamique de la principale conductance potassique voltage dépendante dont dépend la phase de repolarisation après les potentiels d'action.

Autres espèces Les neurones de types A et B ont été retrouvés sur les autres espèces étudiées, bien que les proportions respectives de chaque type cellulaire puissent être variables. Il est important de préciser que dès 1995, du Lac et Lisberger, à partir de travaux effectués sur le poulet, ont émis l'hypothèse d'une répartition des neurones en un continuum entre ces deux types cellulaires stéréotypés, et ont donc proposé que les neurones constitueraient une population hétérogène incluant des neurones dont les propriétés seraient en majorité intermédiaires (du Lac et Lisberger 1995), qui ne pourrait donc pas vraiment être divisée en types cellulaires. Chez le rat, les neurones de type B sont proportionnellement plus nombreux (66% contre 50% chez le cobaye, Johnston et col. 1994), de même que chez la souris (79%, Dutia et Johnston 1998). Sans minimiser les différences pouvant exister entre les différentes espèces de rongeurs, il est généralement admis que les neurones de type A et de type B observés chez les différentes espèces sont essentiellement similaires.

B.I.2.2. Principales conductances exprimées par les neurones vestibulaires secondaires

Nous allons présenter ici quelques unes des conductances qui ont été mises en évidence dans les neurones vestibulaires secondaires. Le plus souvent, ces conductances ont été étudiées de manière succincte et indirecte, car peu de laboratoires impliqués dans les recherches concernant les noyaux vestibulaires réunissent à la fois les techniques appropriées (patch-clamp sur tranches et/ou cellules isolées) et l'ambition d'étudier de manière exhaustive ces conductances. De fait, la plupart des études réalisées le sont à partir d'enregistrements intracellulaires (sharp electrods) et en courant imposé (current-clamp) (revue dans Peusner et

col. 1998). Enfin les espèces étudiées sont aussi bien le rat (Johnston et col. 1994), la souris (Dutia et Johnston 1998) ou le cobaye (Serafin et col. 1991a; Serafin et col. 1991b), alors que les neurones vestibulaires secondaires de ces espèces expriment des conductances qualitativement et quantitativement légèrement différentes. Le groupe de du Lac, du Salk Institute de Californie, s'est intéressé au rôle du calcium dans la régulation de l'excitabilité des neurones vestibulaires, à l'aide de la technique de patch clamp (Nelson et col. 2003; Smith et col. 2002), sur des souris encore en cours de développement. Notons que ce groupe ne distingue pas de types parmi les neurones vestibulaires, ce qui nous empêche d'utiliser leurs résultats dans la comparaison des conductances exprimées par les neurones vestibulaires de type A et de type B chez les Rongeurs.

Les conductances sodiques

Comme la plupart des neurones du système nerveux central, les neurones du noyau vestibulaire médian possèdent une conductance sodique voltage-dépendante classique (I_{Na}), sensible à la TTX (tétrodotoxine appliquée à une concentration de 10^{-6} M, poison du tétrodon). Ce type de canal est noté TTX-S par opposition aux courants résistants à la TTX, notés TTX-R, et joue un rôle essentiel dans la genèse du potentiel d'action. De plus, chez le cobaye 90% des neurones de type B enregistrés sur tranches possèdent également un courant sodique persistant (Beraneck et col. 2003; Serafin et col. 1991a), c'est-à-dire qui s'inactive lentement et peut durer plusieurs centaines de millisecondes. Activé par une légère dépolarisation à un niveau de potentiel membranaire légèrement sous liminaire, ce courant également sensible à la TTX, est à l'origine de potentiels en plateau qui persistent en l'absence de calcium (remplacé par du cadmium dans le milieu) et sont donc attribués à un courant de type I_{NaP}. Ce type de potentiels en plateau est également présent dans environ 40% des neurones de type A, mais est toujours beaucoup moins développé que dans les neurones de type B. Chez le rat, les courants sodiques persistants sont également plus développés dans les neurones de type B que dans les neurones de type A (Johnston et col. 1994). Babalian et col. (1997) ont pu mettre en évidence l'existence de I_{NaP} sur la préparation de cerveau entier et surtout déclencher des potentiels en plateau à l'aide de stimulations directes du nerf vestibulaire ipsilatéral.

Les conductances calciques

On décrit classiquement deux grandes familles de canaux calcium selon que leur seuil d'activation est bas (vers -70 mV) ou élevé. Cette deuxième famille est plus hétérogène. Les conductances calciques des neurones vestibulaires secondaires ont été initialement décrits chez le cobaye (Serafin et col. 1991a; Serafin et col. 1991b).

Les conductances calciques à bas seuil présentes dans 10 à 20% des cellules de type B (Babalian et col. 1997) sont résistantes à la TTX et éliminées par le remplacement dans le milieu du calcium par du cadmium. Les neurones de type B qui présentent ce patron de décharge constituent comme nous l'avons vu la sous-population des neurones de type B+LTS. Notons que les neurones type B+LTS sont proportionnellement moins nombreux chez le rat, ce qui pourrait être dû au fait que le groupe de Dutia enregistre peu dans la partie la plus caudale des noyaux vestibulaires médians.

Au contraire des conductances calciques à bas seuil, des conductances calciques à haut seuil sont présentes dans les neurones vestibulaires de type A et de type B, bien que celles-ci soient plus facilement mises en évidence dans les neurones de type B (Serafin et col. 1991b). On peut évoquer dans les neurones vestibulaires de type A des potentiels d'action insensibles à la TTX (persistant en présence de TTX, ou du mélange de TTX, TEA et de 4-AP), mais supprimés par le remplacement de calcium par du cadmium (potentiel d'action calcique) (Serafin et col. 1991a; 1991b). De plus, des potentiels en plateau ont pu être déclenchés en présence de ce même mélange TTX-TEA-4AP en remplaçant le calcium par du barium. Ces potentiels en plateau disparaissent en présence de cadmium. Les conductances calciques à haut seuil n'ont pas été spcifiquement décrites chez le rat.

Les conductances potassiques

Peusner et col. ont publié en 1998 une revue concernant les conductances potassiques exprimées par les neurones vestibulaires et auditifs. Nous allons ici présenter les 5 principaux types de courants potassiques identifiés dans les neurones vestibulaires centraux des Rongeurs: le courant I_h de rectification entrante cationique, le courant I_K de rectification retardée entrante, les courants I_A de rectification transitoire entrante, et enfin les courants potassiques dépendants du calcium I_C et $I_{K(Ca)}$. Chez les Rongeurs, les neurones de type A et B présentent un courant I_K sensible au TEA qui joue un rôle important dans la repolarisation du

potentiel d'action ainsi qu'un courant I_C insensible à l'apamine, ces deux conductances étant également impliquées dans l'AHP. Les deux types cellulaires possèdent également un courant de rectification cationique (impliquant le potassium et le sodium) de type I_H, sensible à de faibles doses de césium, mis en évidence comme un rebond de potentiel au cours de pulses hyperpolarisants. Chez le cobaye, un courant rectificateur de type I_A est caractéristique des neurones de type A (qui sont chez cette espèce proportionnellement plus nombreux que chez le rat), et est comme nous l'avons précisé insensible à la 4-AP (10mM), mais ses caractéristiques exactes restent inconnues, d'où son appellation de courant "I_A-like" proposée par Serafin et col.. Il a pour principal effet de retarder le déclenchement du potentiel d'action suivant. Au contraire chez le rat, ce courant présenterait une sensibilité à la 4-AP. Chez la rat et la souris, les neurones de type A et B possèdent des conductances $I_{K(Ca)}$ de type BK (dans une partie des neurones, capables de FRP ou Firing Rate Potentation), et chez la rat et le cobaye les neurones de type B possèdent également des conductances SK (sensibles à l'apamine) dont il a été montré qu'elles jouent un grand rôle dans la stabilité de la décharge de repos des neurones vestibulaires (Johnston et col. 1994).

B.I.3. Correspondance entre la classification des neurones du noyau vestibulaire médian en type A/type B et leur classification utilisées *in vivo*

Données issus des études sur cerveau entier de cobaye Babalian et col. (1997) ont réalisé sur une préparation de cerveau entier isolé de cobaye une série d'enregistrements intracellulaires de neurones vestibulaires secondaires fonctionnellement identifiés. Comme nous l'avons déja souligné, l'avantage de la préparation du cerveau isolé *in vitro* est que la connectivité du cerveau est préservée, ce qui permet des enregistrements intracellulaires stables qui donnent accès aux propriétés intrinsèques des neurones, sur des groupes de neurones fonctionnellement identifiés. Les études sur cette préparation ont permis de valider la caractérisation électrophysiologique des neurones vestibulaires médians réalisée sur tranches. En effet des neurones vestibulaires médians de types A, B et B + LTS ont pu être identifiés sur le cerveau isolé (Babalian et al 1997). Les neurones vestibulaires médians présentent une activité de décharge spontanée similaire à celle observée sur tranche ou chez le cobaye anesthésié (Smith et Curthoys 1988) mais inférieure à celle enregistrée chez le cobaye éveillé (Ris et col. 1995). Ceci a permis, en se basant sur la régularité de la décharge spontanée des neurones, de comparer la classification des neurones vestibulaires établie *in vivo* sur la base de leurs propriétés enregistrées au repos et de leurs propriétés dynamiques

(neurones réguliers toniques et neurones irréguliers phasiques) à celle obtenue *in vitro* à partir de leurs propriétés de membrane (neurones de type A et B). Comme nous l'avons déjà mentionné, cette comparaison ne peut pas être menée sur tranche, où les neurones de type A et B présentent tous une activité spontanée régulière. Sur le cerveau entier, l'activité spontanée des neurones de type A demeure toujours régulière. Ces neurones correspondraient donc aux neurones toniques identifiés *in vivo*. Par contre, les neurones de type B peuvent décharger de façon plus irrégulière, et ils correspondraient donc aux neurones phasiques. Ces enregistrements sur le cerveau isolé ont aussi permis de montrer le lien entre la régularité de l'activité spontanée des neurones, exprimée par le coefficient de variation, et l'amplitude de leur AHP. Plus l'AHP d'un neurone est ample, plus sa décharge spontanée tend à être régulière, probablement du fait de sa moins grande sensibilité aux activités synaptiques spontanées.

Composantes linéaires et non linéaires Rappelons que parmi les fibres du nerf vestibulaire, on distingue des afférences sensorielles régulières et irrégulières. Des études effectuées chez le singe (Goldberg 2000) ont montré que le gain des afférences régulières reste constant quelle que soit la fréquence des stimulations vestibulaires, alors que les afférences irrégulières voient leur gain augmenter avec la fréquence (Lysakowski et col. 1995). Les travaux comportementaux de Minor et col. (1999) ont confirmé, chez le singe éveillé, que les variations de gain et de phase du réflexe vestibulo-oculaire horizontal en fonction de la fréquence et de l'amplitude des stimulations pouvaient s'expliquer par la superposition de deux composantes. La composante dite linéaire du réflexe aurait un gain constant à toutes les fréquences pour des amplitudes de stimulation relativement faibles (pour des vitesses maximales de la tête < 20°/s). L'autre composante, dite non-linéaire, serait responsable de l'augmentation du gain observée aux hautes fréquences et pour les fortes amplitudes de stimulation, et permettrait également les réponses de très courte latence induites par des échelons de vitesse. De plus, l'inhibition spécifique des afférences irrégulières n'a pas d'effet sur le RVO pour des mouvements de la tête de basse fréquence et de faible accélération, ce qui suggère que les afférences régulières constituent la principale voie d'information vestibulaire utilisée au cours du RVO dans ces conditions.

Ris et col. (2001b) ont quantifié de manière systématique les propriétés membranaires des neurones vestibulaires enregistrés au repos ainsi que la dynamique de leurs réponses à l'aide d'une préparation de tranches de tronc cérébral de cobaye. Cette étude constitue le point

de départ de mes travaux en thèse, car elle utilise pour la première fois les techniques de stimulations et d'analyse en rampes et en sinusoides de courant de différentes fréquences développées par Lee Moore. A la suite de ces travaux, le groupe du L.N.R.S a émis l'hypothèse que les neurones vestibulaires centraux de type A seraient plutôt à l'origine de la composante linéaire du RVO, alors que ceux de type B seraient à l'origine de la composante non-linéaire. En effet, en réponse à des injections de courant sinusoïdal, le gain des neurones de type A enregistrés sur tranches contrôles ne dépendrait que peu de la fréquence de stimulation. En revanche, le gain des neurones de type B tendrait à augmenter avec la fréquence de stimulation. De plus, seuls les neurones de type B pourraient se comporter en " détecteurs de signaux " lorsque les stimulations dépassent la fréquence maximale de modulation de leur activité spontanée. Les réponses aux stimulations de basse fréquence et d'intensité faible ou moyenne seraient assurées conjointement par les neurones de type A et B. Du fait de leur plus grande sensibilité aux variations du potentiel membranaire, les neurones de type B seraient cependant plus à même de répondre aux stimulations de très faible amplitude. Les réponses aux stimulations de haute fréquence et/ou de forte amplitude seraient assurées essentiellement par les neurones de type B et mettraient en jeu des mécanismes cellulaires non linéaires. Par ailleurs, les cellules de type A, moins sensibles aux entrées synaptiques, assureraient la stabilité de l'activité spontanée des neurones vestibulaires centraux responsable du maintien permanent d'une position du regard et d'une posture tonique chez l'animal vivant.

B.II. Embryogenèse et développement électrophysiologique du système vestibulaire

B.II.1. Embryogenèse du système vestibulaire

La compréhension de l'organisation du système vestibulaire en réseaux de neurones fonctionnels peut être améliorée en étudiant la manière dont les différentes parties de ce système se mettent en place. Malheureusement, l'embryogenèse des neurones vestibulaires sensoriels et secondaires et le mode de mise en place de leurs connexions respectives sont peu connus par rapport à d'autres systèmes sensoriels comme la vision ou l'audition. Des avancées significatives ont été cependant récemment obtenues (revue dans Fritzsch 2003; Maklad et Fritzsch 2003), suggérant une mise en place similaire à celle d'autres systèmes sensoriels et organisée en deux étapes successives dirigées l'une génétiquement, l'autre par

l'activité : une première étape déterminée génétiquement établirait précocement les connexions majeures entre les différents organes sensoriels vestibulaires et les noyaux vestibulaires centraux, puis ces connexions s'affineraient et se renforceraient au cours d'une seconde étape dépendante de l'activité (Maklad et Fritzsch 2003).

Le rhombencéphale constitue au cours du développement la troisième subdivision du tube neural, qui donne naissance chez l'adulte à la plus grande partie du tronc cérébral. Il contient les noyaux des 8 dernières paires de nerfs crâniens, dont 6 participent à l'innervation motrice et sensorielle des régions faciale, buccale, pharyngo-oesophagienne et cervicale. D'après Langman (1984), la placode otique ectodermique s'individualise précocement de chaque côté du rhombencéphale (vers le 22ème jour de la vie embryonnaire chez l'homme). La placode s'invagine ensuite pour former la vésicule otique, qui est à l'origine des organes vestibulaires et cochléaires.

Le rhombencéphale est divisé en une succession de compartiments coronaux, les rhombomères (qui correspondent à une organisation métamérique), et leurs équivalents longitudinaux, les colonnes (Diaz et col. 2003). Ces compartiments dictent la mise en place de l'organisation en 3 dimensions des populations neuronales à ce niveau du SNC. Cette organisation du tronc cérébral en compartiments coronaux et longitudinaux semble particulièrement conservée au cours de l'évolution (Diaz et Glover 2002).

La grenouille est un modèle privilégié du développement du système du fait que les rhombomères du tronc cérébral restent clairement visibles durant une partie du développement larvaire et que les motoneurones ne migrent quasiment pas au cours de la métamorphose (Straka et col. 2002; Straka et col. 1998). Les neurones vestibulo-oculaires ainsi que les neurones vestibulo-spinaux se trouvent dans des positions segmentaires symétriques (figure 10A). Aussi bien les neurones commissuraux vestibulaires que les neurones projetant vers le cervelet constituent des groupes distincts qui peuvent également être localisés dans des rhombomères définis (figure 10B) Une carte montrant l'organisation du réseau vestibulaire des Anoures a pu ainsi être établie par Straka et col.. Elle montre que les noyaux vestibulaires, et surtout les différents groupes de neurones donnant naissance aux différents types de connexions afférentes et efférentes de ces noyaux, proviennent de rhombomères bien définis (figure 10C). La comparaison entre la grenouille et les autres Vertébrés suggère une organisation similaire des circuits vestibulaires au sein de ces espèces (Baker et Gilland 1996; Glover 2000; Glover 2001; Suwa et col. 1996).

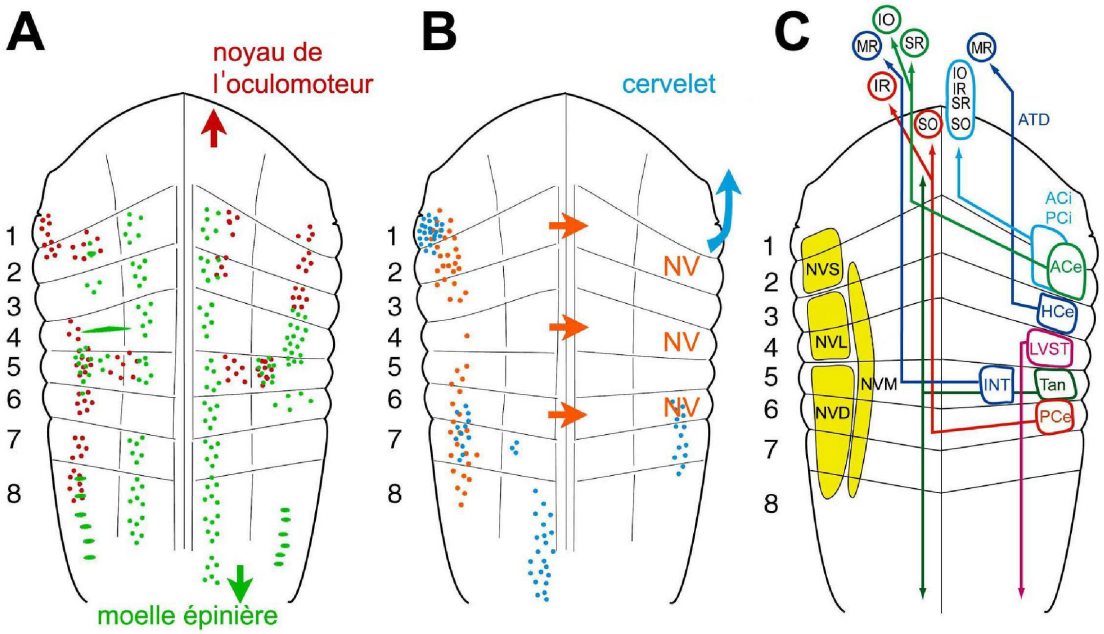


Figure 11: A, schéma présentant l'organisation rhombomérique des neurones vestibulaires à projections oculomotrice (en rouge) et/ ou spinale (en vert). B, schéma présentant la localisation des neurones vestibulaires impliqués dans le système commissural (en orange) et des neurones projetant dans le cervelet (en bleu). C, organisation des noyaux vestibulaires trouvés chez l'adulte par rapport aux rhombomères larvaux dont ils sont issus (en jaune, côté gauche). A droite est représentée l'organisation segmentaire des groupes de neurones vestibulaires reliant des organes sensoriels définis avec des sous-noyaux oculomoteurs définis.
NVS, NVL, NVM, NVD, noyaux vestibulaires supérieur, latéral, médian, descendant, respectivement.
Pour les autres abbréviations, voir Straka et col. (2001) dont cette figure est directement tirée.

B.II.2. Maturation des propriétés électrophysiologiques des neurones vestibulaires secondaires

Des espèces comme la souris, le rat, ou le chat passent au cours de leur développement par une période marquée de maturation post-natale. Ces espèces ont permis d'étudier la mise en place des propriétés électrophysiologiques des neurones vestibulaires secondaires au cours des premières semaines suivant la naissance.

Johnston et Dutia (1996) ont ainsi pu établir que chez la souris, l'activité tonique des neurones du noyau vestibulaire médian enregistrée en extracellulaire sur tranche est présente dès les premiers jours post-natals et augmente entre le 5ème et le 30ème jour, passant de moins de 5 Hz à 15 Hz au cours de cette période. Le développement de l'activité semble suivre un gradient rostro-caudal : la mise en place de l'activité tonique se fait plus rapidement pour les cellules enregistrées dans le tiers rostral du noyau que pour les cellules enregistrées dans le tiers caudal.

En 1998, ces mêmes auteurs (Dutia et Johnston 1998) ont montré à l'aide d'enregistrements intracellulaires que les neurones vestibulaires sont immatures à la naissance et étudié la mise en place de leurs propriétés intrinsèques au cours du 1er mois suivant la naissance. Des neurones de type A et de type B peuvent être distingués parmi les neurones encore immatures dès le 5ème jour post-natal (P5, stade le plus jeune étudié) mais avec des proportions différentes de chez l'adulte : les neurones de type A représentent 70% des cellules au stade P5 contre 30% à P10 et chez l'adulte. A ce stade, différents paramètres intrinsèques apparaissent immatures : le potentiel membranaire est dépolarisé d'environ 5 mV comparé à la normale, les potentiels d'action des neurones de type A sont plus larges, et leur amplitude diminue au cours de l'adaptation de leur décharge en réponse à des dépolarisations de longue durée. La post-hyperpolarisation des neurones de type A est également moins profonde au cours de cette adaptation. La post-hyperpolarisation des neurones de type B est encore monophasique, les conductances à l'origine de la composante rapide de leur double AHP ne sont donc pas encore en place ou pas fonctionnelles à ce stade. Comme pour les neurones de type A, les potentiels d'action des neurones de type B sont plus larges que chez l'adulte. Ces cellules de type B sont à ce stade localisées uniquement dans la partie rostrale du NVM. Cette localisation spécifique disparaît au 10ème jour suivant la naissance, à ce stade les localisations et les proportions respectives des neurones de type A et de type B ne diffèrent plus par rapport à celles retrouvées sur des tranches provenant d'un animal adulte. La composante rapide de l'AHP des neurones de type B apparaît sur les tranches provenant d'animaux âgés de 15 jours.

Murphy et du Lac (2001) ont retrouvé des résultats semblables chez le rat : les propriétés intrinsèques des neurones sont comparables à celles de l'adulte après 3 semaines de maturation. Cette maturation concerne, en plus des paramètres du potentiel d'action, la tonicité (courant maximal pour lequel les neurones peuvent répondre en déchargeant des potentiels d'action sans inactivation) et la décharge maximale atteinte par les neurones.

Ces études menées sur des espèces immatures à la naissance suggèrent donc que si les conductances à l'origine de l'activité pacemaker des cellules sont précocement exprimées et fonctionnelles, tel n'est pas le cas des conductances à l'origine des autres propriétés intrinsèques de ces neurones, qui apparaissent plus dépendantes de l'activité et/ de la mise en place définitive des réseaux synaptiques. Chez les rongeurs, les neurones vestibulaires secondaires reçoivent des signaux vestibulaires dès les premiers jours suivant la naissance et les synergies d'origine vestibulaires sont complètement fonctionnelles environ 2 semaines

après (Curthoys 1978; Curthoys 1979; Curthoys 1982a; Rusch et col. 1998). L'ouverture des yeux des animaux ne se produit que tardivement (autour de P13, Lannou et col. 1979; Lannou et col. 1980; Reber-Pelle 1984). Un rôle de l'activité des systèmes vestibulaire et visuel dans la mise en place des propriétés membranaires intrinsèques des neurones vestibulaires centraux a été suggéré par ces auteurs, comme cela a été montré dans d'autres systèmes vestibulaire et visuel périphériques où l'activité périphérique participe à la mise en place et à la plasticité des propriétés électrophysiologiques des neurones centraux (Cline 1991; Kaas et col. 1983; Katz et Shatz 1996).

B.III. Neurochimie des neurones vestibulaires secondaires

Les noyaux vestibulaires ont été et font encore l'objet de nombreuses études pharmacologiques. La neurochimie des neurones vestibulaires secondaires est importante à plus d'un titre ; outre un intérêt fondamental évident, celle-ci est cruciale en vue du traitement clinique des vertiges, des cinétoses (mal des transports, mal de mer, mal de l'espace), ou plus généralement des dysfonctionnements vestibulaires. De plus, comme nous le verrons, des changements d'ordre neurochimique interviennent pendant la compensation vestibulaire.

Les neurones vestibulaires secondaires ont un répertoire très large de récepteurs, et de neuromédiateurs auxquels ils sont sensibles (de Waele et col. 1995; de Waele et Vibert 1993). Nous allons présenter succinctement les principaux neurotransmetteurs excitateurs et inhibiteurs impliqués dans les réseaux d'origine vestibulaire, et plus particulièrement les rôles du glutamate d'une part, et du GABA et la glycine d'autre part. Cette présentation, largement inspirée de « de Waele et Vibert (1993) » est bien sûr non exhaustive.

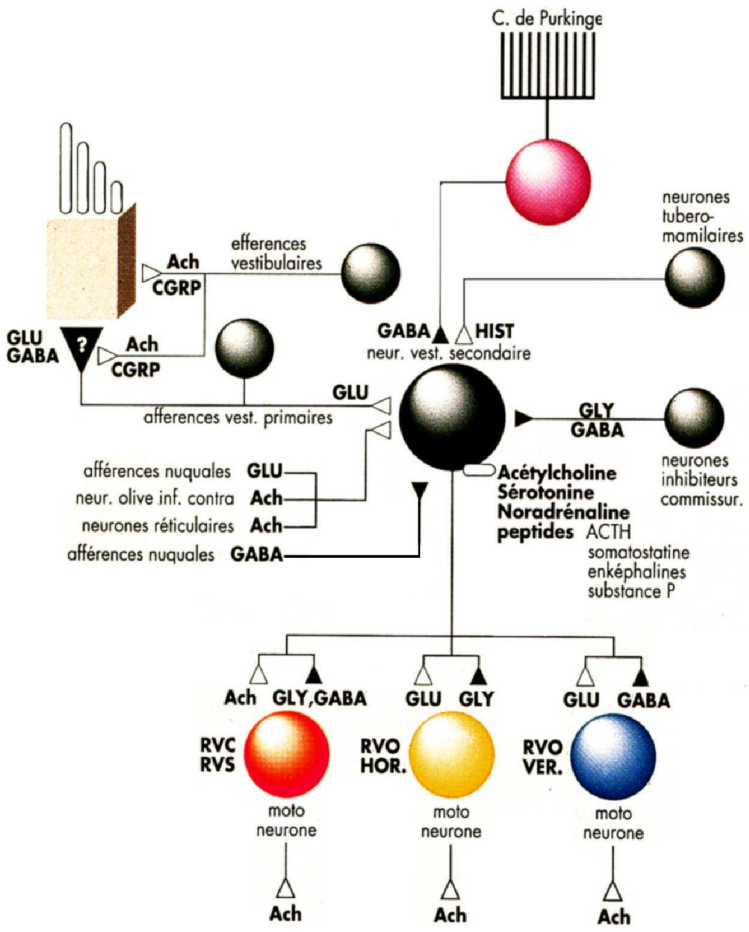


Figure 11: Neurochimie des neurones vestibulaires
Glu, glutamate; Gly, glycine; Ach, acétylcholine; HIST, histamine; ACTH, adrenocorticotrophine; CGRP, calcitonin gene related peptide. RVC, réflexe vestibulo-collique;RVS, réflexe vestibulo-spinal; RVO, réflexe vestibulo-oculaire; HOR, horizontal; VER, vertical

B.III.1. Le système glutamatergique

Son rôle est primordial. En effet, c'est le neuromédiateur impliqué dans la transmission synaptique entre les afférences vestibulaires et les neurones vestibulaires centraux (de Waele et Vibert 1993; Lewis et col. 1989; Raymond 1993; Sasa et col. 2001; Smith et Darlington 1994). La plupart des afférences proprioceptives (nuquales) utiliseraient également le glutamate. *In vivo*, l'injection de glutamate ou d'agonistes glutamatergiques (NMDA ; AMPA ; kaïnate, quisqualate) provoque une dépolarisation et une augmentation de la décharge des neurones vestibulaires centraux (Gallagher et col. 1985; Ito et col. 1985;

Lewis et col. 1987). L'injection dans les noyaux vestibulaires de cobayes à l'aide de minipompes osmotiques d'un antagoniste glutamatergique, l'APV (acide phosphovalérique), induit un syndrome postural et oculomoteur identique à celui observé après une labyrinthectomie unilatérale (revue dans Chan et col. 2003).

Les récepteurs glutamatergiques sont bien connus et très étudiés, ils incluent des récepteurs ionotropiques (récepteurs couplés à un canal ionique, comme les récepteurs NMDA, AMPA, kaïnate) et métabotropiques (récepteurs mGluR des groupes I à III couplés à des 2nd messagers intracellulaires). Leurs rôles dans la neurotransmission, la neuromodulation, au cours du développement, ou encore dans les phénomènes de plasticité sont clairement établis (Kandel et col. 2003). En accord avec leur longue constante de temps, les récepteurs NMDA des neurones vestibulaires secondaires seraient surtout impliqués *in vivo* dans le maintien de la décharge de repos de ces neurones, et donc responsables du contrôle statique du regard et de la posture (de Waele et col. 1990a; Mettens et col. 1994; Smith et Darlington 1997; Vidal et col. 1996). A l'inverse, les récepteurs AMPA seraient essentiellement impliqués dans le contrôle des réflexes dynamiques induits par les mouvements de la tête (Priesol et col. 2000). Straka et col. ont par ailleurs montré *in vitro* chez la grenouille que l'activité enregistrée dans les neurones vestibulaires suite à la stimulation des fibres vestibulaires de diamètre important reposait surtout sur l'activation des récepteurs NMDA (Straka et col. 1996a; Straka et col. 1996b).

B.III.2. Le système des acides aminés inhibiteurs, GABA et glycine.

Le GABA et la glycine sont les neurotransmetteurs des voies inhibitrices chez les Mammifères supérieurs. Lorsque ces deux aminoacides inhibiteurs sont appliqués *in vivo* par micro-iontophorèse (Ito et col. 1970; Obata et Highstein 1970) ou *in vitro* sur tranches (Johnston et col. 2001; Vibert et col. 2000; Yamanaka et col. 2000a), ils diminuent la décharge des neurones vestibulaires centraux. Le GABA est le neurotransmetteur des cellules de Purkinje, qui constituent la seule voie de sortie du cervelet (Kandel et col. 2003). Les projections cérébelleuses sur les noyaux vestibulaires sont également GABAergiques (Barmack 2003; Raymond 1993). La glycine et le GABA seraient également les neurotransmetteurs impliqués dans les voies commissurales inhibitrices. En effet l'inhibition des neurones vestibulaires centraux induite par la stimulation du labyrinthe contralatéral est abolie par l'administration intrasystémique de bicuculline (antagoniste GABAergique) et de strychnine (antagoniste glycinergique) (Furuya et col. 1991; Precht et col. 1973). Les

récepteurs au GABA sont soit ionotropiques comme les récepteurs $GABA_A$ et $GABA_C$, soit métabotropiques comme les récepteurs $GABA_B$. Le récepteur à la glycine est quant à lui ionotropique. Ils sont perméables aux ions Cl- (Kandel et col. 2003).

Finalement, il a été montré que les neurones vestibulaires secondaires étaient sensibles à de très nombreux autres neurotransmetteurs et neuromodulateurs que nous ne détaillerons pas ici. Citons par exemple l'histamine qui est utilisée par les corps mammiliaires de l'hypothalamus se projettant sur les neurones vestibulaires et dont elles modulent l'activité (Takeda et col. 1987). Les anti-histaminergiques améliorent, chez l'homme, la symptomatologie vertigineuse et sont efficaces dans la prévention du mal des transports. Il a également été montré que les neurones vestibulaires avaient des récepteurs à l'acétylcholine, à la sérotonine, à la noradrénaline (Matsuoka et col. 1973) et à de nombreux peptides (ACTH, substance P, enképhalines) qui joueraient également le rôle de neuromodulateurs de l'activité des neurones vestibulaires secondaires (de Waele et col. 1995; de Waele et Vibert 1993; Raymond 1993; Smith et Darlington 1994; Vibert et col. 1997; Vidal et col. 1999).

C. La compensation vestibulaire : un modèle d'étude de la plasticité du système nerveux central

C.I. La notion de plasticité

Définitions Le terme de plasticité désigne la propriété d'un élément à se déformer et à rester dans ce nouvel état après réduction de la contrainte déformante, cette notion s'opposant à celle d'élasticité. Appliquée aux Neurosciences, le terme de plasticité désigne tout changement de la structure ou de la physiologie du système nerveux en réponse à une contrainte de l'environnement ou à une lésion. On parle de plasticité post-lésionnelle pour désigner la réaction du système nerveux à une lésion. La plasticité post-lésionnelle est présente dans un large éventail de situations pathologiques ou expérimentales qui correspondent à différents types de lésions : inflammatoires, traumatiques, infectieuses, tumorales, vasculaires, auto-immunes et/ou neurodégénératives. La première et principale partie de ma thèse s'intéresse à la plasticité post-lésionnelle des neurones du système vestibulaire.

A l'échelle neuronale, la plasticité cellulaire est souvent considérée comme se limitant à la plasticité des synapses. Ramon y Cajal a été le premier à définir les bases des jonctions intercellulaires que Sherrington nomma synapses. Les principes de base du fonctionnement synaptique ont été ainsi définis: l'information circule d'une cellule à l'autre, passant d'un élément pré-synaptique à un élément post-synaptique sous forme de neurotransmetteur (Eccles 1965). La plasticité synaptique a été étudiée dans des phénomènes aussi divers que la synaptogenèse, la maturation et l'élimination des synapses au cours du développement, ou encore les modifications activité-dépendantes du fonctionnement synaptique (Fitzsimonds et Poo 1998; Goda et Stevens 1994; Katz et Shatz 1996). L'étude de ce dernier type de plasticité a connu un essor considérable suite à la description des phénomènes de potentialisation (Bliss et Lomo 1973) et de dépression (Ito et Kano 1982) à long terme (LTP et LTD). La plasticité activité-dépendante des synapses ne se limite cependant pas au long terme, des phénomènes plus rapides tels que des facilitations à court terme ont également été décrits (Davis et Murphey 1994).

Plasticité synaptique et plasticité intrinsèque Parallèlement aux études concernant les changements synaptiques, un champ croissant de recherche s'intéresse désormais aux modifications de l'excitabilité des neurones (leur propension à émettre des potentiels d'action en réponse à des stimulations) par des changements persistants d'expression et/ou de régulation de l'activité des canaux ioniques membranaires axo-somatiques, somatiques et/ou dendritiques, à l'exclusion des changements intervenant au niveau synaptique. Ces modifications spécifiques des conductances non synaptiques sont regroupées sous le terme de « plasticité intrinsèque ». Dans une revue récente, Zhang et Linden (2003) ont récemment considéré les changements activités dépendants du fonctionnement des neurones et souligné la complémentarité des plasticités synaptiques et intrinsèques qui constitueraient ensemble les substrats biologiques de l'apprentissage et de la mémoire.

Plasticité homéostatique Dans le cadre de changements post-lésionnels, nous verrons que cette plasticité intrinsèque peut consister en une forme de plasticité homéostatique. La plasticité homéostatique regroupe l'ensemble des mécanismes impliqués dans le maintien des neurones à des niveaux d'activité spontanée et d'excitabilité constants (Davis et Goodman 1998), que ceux-ci reposent sur une modulation de la force des connexions excitatrices et inhibitrices des neurones considérés, ou sur la régulation de leur activité intrinsèque (Desai 2003; Turrigiano 1999; Turrigiano et col. 1998; Turrigiano et Nelson 2004).

C.II. Système vestibulaire et plasticité

Le système vestibulaire fournit de remarquables modèles d'étude de la plasticité des transformations sensori-motrices dans le SNC. En effet, les synergies de contrôle du regard et de la posture sont largement modifiables, suite par exemple à des stimulations répétitives (phénomène d'habituation, Cohen et col. 1992) ou à des changements de l'environnement modifiant les interactions entre informations vestibulaires, visuelles et/ou proprioceptives (phénomènes d'adaptation, Barnes 1993; Kawato et Gomi 1992). Le système vestibulaire présente également d'importantes capacités de plasticité post-lésionnelle (revue dans Vibert et col. 1997). Suite à une destruction unilatérale du labyrinthe de l'oreille interne ou à une neurectomie vestibulaire, un syndrome oculomoteur et postural caractéristiques apparaît (Azzena 1969; De Waele et col. 1989; Fetter et Zee 1988; Lacour et Xerri 1981; Precht et col. 1966; Schaefer et Meyer 1974b). On distingue classiquement deux catégories de symptômes induits par la lésion: les troubles statiques et les troubles dynamiques. Les troubles statiques

disparaissent précocement alors que les perturbations dynamiques ne récupèrent jamais totalement. Cette dissociation a conduit à postuler que des mécanismes cellulaires en partie distincts pourraient être à l'origine de la disparition de ces différentes catégories de symptômes.

Présentation de la notion de compensation Le terme de compensation a souvent été critiqué, car il sous-entend un retour à l'état pré-lésionnel. La perte unilatérale des organes vestibulaires est définitive et la fonction vestibulaire ne revient jamais à la normale pour les mouvements de la tête dirigés vers le côté lésé. Nous pensons que la compensation vestibulaire doit être considérée comme l'ensemble des processus cellulaires et comportementaux déclenchés par la labyrinthectomie unilatérale ou la neurectomie, sans considérer ceux-ci comme tendant a priori vers une « récupération » (Dieringer 2003). De nombeuses études ont montré que ces processus se prolongent au-delà de la période de compensation des troubles statiques (Darlington et col. 1989; de Waele et col. 1996; Gacek et col. 1996; Rohregger et Dieringer 2003; Smith et Curthoys 1989; Straka et Dieringer 1995; Vibert et col. 1999b; Vibert et col. 1993) bien que de nombreux auteurs limitent leurs études de la compensation à la disparition de ceux-ci. Comme Llinás et Watson (1979b) l'ont précocement exprimé, la compensation vestibulaire recouvre un ensemble de processus cellulaires et comportementaux distribués au sein du système nerveux central.

C.II.1. Les troubles statiques

Les troubles statiques sont observés au repos, en l'absence de mouvement. Ils consistent en des syndromes oculomoteur et postural. On assiste à la disparition presque totale de ces troubles statiques en quelques jours chez toutes les espèces de Vertébrés étudiées (Darlington et Smith 2000; De Waele et col. 1989; Dieringer 1995; Schaefer et Meyer 1974a). Chez le cobaye, cette récupération dure environ 3 jours. (Curthoys et Halmagyi 1995; Dieringer 1995).

Le syndrome oculomoteur comprend chez les Rongeurs une déviation tonique vers le bas de l'œil ipsilatéral à la lésion et vers le haut de l'œil contralatéral. Ces déficits sont associés à un nystagmus oculaire consistant en des mouvements rythmiques des globes oculaires, le plus souvent horizontaux mais parfois verticaux ou rotatoires. Le nystagmus est composé d'une phase rapide dirigée vers le côté intact et d'une phase lente dirigée vers le côté lésé. La phase lente détermine le sens « physiologique » du nystagmus (les médecins ORL se

servent au contraire de la phase rapide, plus facile à distinguer à l'œil nu). La fréquence de ce nystagmus spontané peut atteindre 160 battements par minute au cours de la première heure post-lésionnelle. La déviation tonique de l'œil est d'origine otolithique, alors que le nystagmus horizontal résulte de la suppression des afférences canalaires horizontales.

D'un point de vue postural, on constate une rotation frontale et horizontale massive de la tête et de l'avant du corps vers le côté lésé. Les animaux présentent également un mouvement de rotation autour de l'axe longitudinal du corps. L'asymétrie posturale comporte de plus chez le cobaye une flexion des membres antérieur ipsilatéral et postérieur contralatéral, ainsi qu'une extension des membres antérieur contralatéral et postérieur ipsilatéral. Ces changements posturaux sont associés chez les Rongeurs à des mouvements de « rolling » et de « circling » spontanés vers le côté lésé observés au cours des deux premières heures après la déafférentation. Une posture proche de la normale est récupérée en 6 heures chez le rat, 3 jours chez le cobaye, 14 jours chez le chat et le chien, 3 semaines chez le singe et 2 mois chez la grenouille. Chez la plupart des espèces, une rotation céphalique persisterait cependant plus de 6 mois après la déafférentation. (Baarsma et Collewijn 1975; Cirelli et col. 1996; de Waele et col. 1990b).

Chez le chat, les symptômes observés après une neurectomie sont un nystagmus oculaire dont les phases lentes sont dirigées vers le côté lésé, une déviation de la tête dans le plan frontal et des chutes importantes vers le côté lésé. L'animal est capable de se nourrir seul après 2 à 3 jours (Raymond et col. 1991).

Chez le singe, on décrit trois stades suite à une labyrinthectomie. Au stade critique qui dure environ deux jours, l'animal titube et tombe du côté lésé. Il présente une déviation de la tête dans le plan frontal vers le côté lésé, une déviation tonique des yeux, et un nystagmus dont les phases lentes sont dirigées vers le côté ipsilatéral à la lésion. Au stade aigu, c'est-à-dire jusqu'à la fin de la première semaine, le nystagmus disparaît, les autres symptômes diminuent mais la déviation de la tête persiste. Au stade compensé, l'animal se comporte normalement, mais la tête reste légèrement penchée vers le côté lésé (Lacour et col. 1976).

Chez la grenouille, la labyrinthectomie cause des perturbations temporaires de l'équilibre et une rotation de la tête autour de l'axe longitudinal du corps vers le côté lésé. La patte avant ipsilatérale est pliée et la patte avant contralatérale est étendue. L'œil ipsilatéral bascule vers le bas tandis que l'œil contralatéral bascule vers le haut, mais il n'y a pas de

nystagmus. La récupération posturale est progressive et quasi-complète 60 jours après la lésion (Dieringer and Precht 1979; Dieringer and Precht 1979; Dieringer 1995).

Chez l'homme, une labyrinthectomie provoque des pertes d'équilibre et des vertiges lorsque le patient se tient debout. On observe également une anormalité du RVO. La neurectomie du nerf VIII utilisée pour traiter les patients souffrant d'un neurinome acoustique ou de la maladie de Ménière entraîne une perte brutale de la fonction vestibulaire périphérique. Comme chez les autres espèces, les troubles statiques récupère rapidement, de sorte qu'il devient difficile, après quelques jours, de distinguer au repos les sujets intacts des sujets labyrinthectomisés ou neurectomisés. Cependant, 20% des patients environ ne compensent jamais totalement et conservent comme séquelles des vertiges et des déséquilibres lorsqu'ils se déplacent (Brookes et col. 1994).

C.II.2. Les troubles dynamiques

Les troubles dynamiques consistent en une réduction du gain et un déphasage des réponses induites par les mouvements de la tête (Azzena 1969; De Waele et col. 1989; Fetter et Zee 1988; Lacour et Xerri 1981; Precht et col. 1966; Schaefer et Meyer 1974b). Par rapport aux symptômes statiques, la récupération des réponses dynamiques est beaucoup plus lente et varie considérablement selon les espèces considérées, mais également selon la fréquence et l'amplitude des stimulations vestibulaires appliquées (Curthoys et Halmagyi 1995; Darlington et Smith 2000; Vidal et col. 1998). Six mois après la lésion, la compensation des troubles dynamiques est faible chez le lapin, imparfaite chez le rat, le cobaye et le chat, mais presque complète chez le singe et l'homme pour les mouvements de fréquence comprise entre 0.5 et 5-6 Hz. Par ailleurs, on n'observe quasiment aucune récupération des réflexes dynamiques induits par les stimulations de haute fréquence et/ou de forte amplitude dirigées vers le côté lésé (Curthoys et Halmagyi 1999; Gilchrist et col. 1998).

C.III. Mécanismes cellulaires de la compensation vestibulaire

Quels sont les mécanismes cellulaires à l'origine de la disparition des troubles statiques ? La réponse à cette question constitue un défi qui pourrait trouver au-delà du système vestibulaire des applications dans de nombreux contextes plus généraux, tels le vieillissement, les accidents vasculaires cérébraux ou les maladies dégénératives du SNC, où il est probable que d'autres neurones ont aussi à faire face à la perte d'une grande partie de

leurs afférences. C'est donc comme un modèle de déafférentation fonctionnelle et de réorganisation post-lésionnelle au sein d'un système distribué complexe que la compensation vestibulaire doit être abordée.

C.III.1. Electrophysiologie des neurones vestibulaires secondaires au cours de la compensation

Corrélats neuronaux chez le cobaye, notion de déséquilibre des décharges de masse et dissociation entre le comportement et l'activité neuronale Les corrélats neuronaux de la compensation vestibulaire ont été bien décrits *in vivo* chez le cobaye (Ris et col. 1997a; Ris et col. 1995). Dans les conditions normales, les neurones du noyau vestibulaire médian présentent au repos une activité spontanée moyenne proche de 40 Hz des deux côtés du tronc cérébral. Juste après la labyrinthectomie, les neurones déafférentés par la lésion sont presque silencieux, du fait de la disparition de l'influence excitatrice tonique des afférences vestibulaires. En revanche, la décharge spontanée des neurones contralatéraux est accrue, probablement à cause de la suppression de l'inhibition commissurale normalement exercée sur eux par les neurones déafférentés.

Le déséquilibre qui en résulte est responsable des déficits statiques provoqués par la lésion. Au cours du processus de compensation vestibulaire, l'activité spontanée des neurones vestibulaires secondaires déafférentés revient à la normale en une semaine, et l'équilibre entre les décharges de repos des neurones dans les deux complexes vestibulaires situés de part et d'autre du tronc cérébral est rétabli. Cette récupération est considérée comme largement impliquée dans la disparition des troubles statiques (de Waele et col. 1988; McCabe et Ryu 1969; Newlands et Perachio 1990a; Newlands et Perachio 1990b; Precht et col. 1966; Ried et col. 1984; Smith et Curthoys 1989; Smith et Darlington 1991; Xerri et col. 1985), comme l'ont suggéré Precht et col. dès 1966 (qui ont montré qu'une destruction des neurones vestibulaires centraux interdit quasiment toute compensation). Le rééquilibrage des décharges de masse entre les noyaux vestibulaires ipsi et contralatéraux à la lésion constitue le principe de base des mécanismes vestibulo-centriques, selon lesquels le comportement des neurones déafférentés explique à la fois l'apparition et la disparition des symptômes induits par la lésion. Les expériences de Ris et col. ont cependant montré qu'il existe un décalage temporel entre la récupération de décharge des neurones déafférentés et la disparition des troubles statiques (Ris et col. 1997b). Cette dissociation est notamment visible durant la phase aiguë de

la compensation, qui dure 90 minutes chez le cobaye, et au cours de laquelle les animaux maîtrisent partiellement leur déséquilibre postural alors que l'asymétrie de décharge entre les noyaux vestibulaires ipsi et contralatéraux reste maximale. A ce stade, la posture debout récupérée par l'animal est précaire et facilement perturbable, ce qui évoque un apprentissage rapide, peut-être d'origine corticale, n'impliquant pas les noyaux vestibulaires. Une deuxième dissociation se manifeste par la diminution de l'intensité du nystagmus dont la majeure partie disparaît au cours des 10 premières heures suivant la lésion, alors que l'activité au sein des noyaux ipsilatéraux à la lésion est toujours quasi-nulle pendant cette période. Ceci montre que le rééquilibrage des décharges spontanées entre les noyaux vestibulaires situés des côtés ipsi et contralatéraux est un aspect important de la compensation des troubles statiques, sans toutefois être le seul mécanisme impliqué. Ce n'est qu'au bout d'une semaine de compensation que les corrélats neuronaux et les observations comportementales concordent.

Notons que de nombreux auteurs ont suggéré que la compensation pourrait reposer en partie sur l'adoption de stratégies motrices complexes aidant à la disparition des troubles. Ces mécanismes n'impliqueraient cependant pas une récupération de décharge normale par les neurones déafférentés : la notion de signal d'erreur suggère que les informations multimodales que reçoivent les neurones vestibulaires sont "comparées" et qu'en cas de conflit sensoriel, des réactions de compensation sont déclenchées. L'adoption de " stratégies comportementales", de manière consciente ou non, permettrait de réduire ce signal d'erreur et pourrait contribuer de manière significative à la récupération fonctionnelle, notamment des réflexes d'origine vestibulaire (Berthoz 1989; Curthoys et Halmagyi 1999; Smith et Curthoys 1989). De manière schématique, il s'agirait pour l'individu de faire appel à des systèmes et des réflexes encore intacts. Une partie de la récupération dynamique pourrait ainsi être assurée par exemple par des modifications du gain de réflexes d'origine non vestibulaire comme le réflexe cervico-oculaire (Straka et Dieringer 1995; Strupp et col. 1998), ou par l'adoption de stratégies motrices de substitution combinant poursuite oculaire, saccades et mouvements prédictifs (revues dans Berthoz 1989; Brandt et col. 1997; Curthoys 2000).

C.III.2. Quelles sont les hypothèses qui expliqueraient la récupération d'une décharge spontanée par les neurones vestibulaires déafférentés ?

C.III.2.1.Changements de l'activité des réseaux de neurones

La récupération d'une activité normale par les neurones vestibulaires centraux pourrait résulter d'une redistribution complète de l'activité des réseaux au sein desquels sont insérés les neurones vestibulaires. Dans cette hypothèse, des neurones extérieurs aux noyaux vestibulaires verraient leur activité modifiée. En effet, une augmentation de l'activité de neurones excitateurs, ou une diminution d'activité de neurones inhibiteurs qui projettent sur les neurones des noyaux vestibulaires pourrait expliquer la récupération de l'activité spontanée de ces neurones (Courjon et col. 1982; Llinas et Walton 1979a; Luyten et col. 1986; Putkonen et col. 1977; Schaefer et Meyer 1974b). L'idée d'une réorganisation globale des réseaux de neurones impliqués dans le contrôle du regard et de la posture était déjà évoquée par Llinás et col. en 1979. Les systèmes extra-vestibulaires (structures extérieures aux noyaux vestibulaires) potentiellement impliqués dans la récupération envoient des informations, sensorielles ou non, directement sur les noyaux vestibulaires (entre autres citons les informations corticales, visuelles, proprioceptives, cérébelleuses). La modification de l'activité de ces systèmes résulterait dans un premier temps d'un changement provoqué par les symptômes statiques et dynamiques.

Influence de la vision

La compensation précoce des troubles observés au repos n'est pas dépendante de la vision. Le nystagmus, trouble statique, disparaît même si l'animal opéré reste dans le noir après l'opération. En revanche, la récupération dynamique du gain du VOR reposerait au moins partiellement sur la vision (Courjon et col. 1977; Fetter et col. 1988; Lacour et col. 1981).

Influence de la proprioception et des informations somatosensorielles

L'influence des informations proprioceptives et somatosensorielles est probablement très importante pour la compensation (Lacour et col. 1976). Ainsi durant la période de compensation des troubles statiques, une réduction ou une suppression de ces informations provoque des phénomènes de décompensation (Jensen 1979; Schaefer et Meyer 1974a). Un cobaye soulevé du sol au cours de cette période décompense immédiatement, adoptant la

posture caractéristique d'une lésion unilatérale de l'appareil vestibulaire. Cette observation comportementale pourrait cependant également être expliquée par une plus grande sensibilité générale des neurones vestibulaires ipsilatéraux eux-mêmes plutôt que par un changement permanent de l'activité de base des afférences proprioceptives.

Influence du cervelet

L'idée d'un rôle putatif du cervelet dans le phénomène de compensation vestibulaire est ancienne, et a connu son apogée au cours des années 70 et 80 où des expériences de lésions ont été effectuées. Le résultat de ces séries d'expériences n'est pas clair, certains groupes ont rapporté que des lésions des flocculus, nodulus et uvula n'avaient pas d'effet significatif sur la compensation (Haddad et col. 1977) alors que d'autres ont rapporté un léger retard de compensation après lésion des nodulus et uvula (Igarashi et Ishikawa 1985) ou un retard marqué après lésion contralatérale du flocculus (Courjon et col. 1982). Des données cliniques récentes soutiennent l'idée d'un rôle important du vestibulo-cervelet dans la disparition du syndrome postural et oculomoteur (Furman et col. 1997). Bien qu'un nombre croissant d'expériences de biochimie montrent que, suite à une labyrinthectomie unilatérale, des changements au sein même du cervelet suivent un développement parallèle à celui de la compensation (Balaban et Romero 1998; Goto et col. 1997; Kitahara et col. 1998a; Kitahara et col. 1998b), le rapport causal n'est pas encore définitivement établi. Il est cependant de bon sens de penser que le cervelet est une des structures qui, d'un point de vue global, favorise la compensation en améliorant sa cinétique, bien qu'il ne soit probablement pas absolument nécessaire à celle-ci.

L'influence du cortex

L'intervention du cortex cérébral dans la compensation vestibulaire est à l'heure actuelle limitée aux présomptions. En effet, la disparition des troubles statiques est probablement effectuée majoritairement par les structures sous-corticales. Fetter et col. (Fetter et Zee 1988; Fetter et col. 1988) ont pu montrer que la disparition du nystagmus est indépendante du cortex occipital. Une lésion corticale d'animaux compensés supprime la compensation dynamique mais n'induit pas de réapparition du nystagmus spontané, ce qui démontre à nouveau la dissociation des mécanismes statiques et dynamiques de la compensation.

C.III.2.2. Changements des neurones vestibulaires

La récupération d'une activité normale des neurones vestibulaires pourrait résulter de modifications localisées au niveau des neurones vestibulaires eux-mêmes. Comme nous l'avons évoqué, deux types de plasticité complémentaires pourraient favoriser la récupération d'une décharge spontanée par les neurones déafférentés et le retour à une activité équilibrée entre les complexes vestibulaires ipsilatéraux et contralatéraux à la lésion : des changements dans l'efficacité des synapses contactant les neurones vestibulaires (au niveau pré et post-synaptique) et des changements au niveau des propriétés intrinsèques des neurones vestibulaires eux-mêmes.

Ces deux types de changements, synaptiques et intrinsèques, ne sont pas mutuellement exclusifs, et pourraient relever d'un même type de plasticité, comme nous le verrons au cours de la discussion générale. Nous allons maintenant voir que les deux participent probablement au phénomène de compensation (Vibert et col. 1999c).

Modifications synaptique

Des modifications de la sensibilité neuropharmacologique des neurones vestibulaires pourraient inclure des modifications du nombre et/ou de l'efficacité de certains récepteurs aux neurotransmetteurs situés sur les neurones vestibulaires. Ces modifications iraient dans le sens d'une plus grande efficacité des synapses excitatrices (glutamatergiques dans le système vestibulaire) ou d'une diminution de l'efficacité des synapses inhibitrices (glycinergiques et GABAergiques). Ces hypothèses ne recouvrent donc que le versant postsynaptique des changements de l'efficacité des synapses (le versant présynaptique consistant en un changement dans la quantité de neurotransmetteurs libérés).

Jusqu'à présent, les techniques d'hybridation *in situ* et d'immunohistochimie n'ont pu mettre en évidence aucune augmentation significative des récepteurs excitateurs des neurones vestibulaires au cours du processus de compensation (King et col. 2002; Rabbath et col. 2002). En revanche certaines études ont montré une diminution de certaines sous-unités des récepteurs au glutamate: une diminution bilatérale de l'expression de l'ARNm (ARN messager) d'une des sous-unités du récepteur NMDA (NR1) 5 heures après la lésion (de Waele et col. 1994) et une diminution ipsilatérale de l'expression de l'ARNm de sous-unités du récepteur au glutamate 6 heures après la lésion (NR2A, GluR2 et mGluR7, Horii et col. 2001). Dans d'autres types de plasticité tels que la LTP (Bliss et Collingridge 1993), les

récepteurs glutamatergiques ont été impliqués dans l'induction de la plasticité, plutôt que dans son maintien à long terme. Les résultats d'immunohistochimie semblent indiquer que les récepteurs glutamatergiques pourraient ici aussi être impliqués dans une réaction immédiate suivant la déafférentation, mais que rapidement (3 jours après la lésion) leur niveau reviendrait à la normale.

Une diminution de la sensibilité aux acides aminés inhibiteurs a en revanche été démontrée chez le rat par de nombreuses études électrophysiologiques (Giardino et col. 2002; Johnston et col. 2001; Magnusson et col. 1998; Magnusson et col. 2000; Magnusson et col. 2002; Tighilet et Lacour 2001; Yamanaka et col. 2000b), où l'on constate une régulation négative de l'inhibition impliquant les récepteurs de types $GABA_A$ et $GABA_B$ entre 4 heures et 7 jours après la labyrinthectomie au niveau des neurones vestibulaires médians déafférentés. Nous avons également montré chez le cobaye, à l'occasion de mon premier travail expérimental au sein du L.N.R.S, qu'il y a une diminution de la sensibilité et/ou du nombre des récepteurs $GABA_A$ et des récepteurs glycinergiques des neurones du NVM déafférentés 3 jours après la labyrinthectomie (Vibert et col. 2000). Cette diminution de la sensibilité libérerait les neurones déafférentés de l'influence de leurs afférences inhibitrices, et notamment de l'inhibition commissurale en provenance des noyaux contralatéraux à la lésion, ce qui favoriserait le rééquilibrage des décharges entre les complexes vestibulaires ipsi et contralatéraux. Ces modifications qui se développent au cours de la première semaine peuvent être transitoires et ne se prolongent pas nécessairement au-delà de cette période. Ainsi Dutia et col. ont montré que la diminution de sensibilité des neurones vestibulaires déafférentés au GABA après une semaine de compensation impliquait les récepteurs de type $GABA_B$ mais plus les récepteurs $GABA_A$ contrairement à ce qui se passe après 48 heures de compensation, suggérant un rôle différent de ces deux types de récepteurs dans l'induction et la maintenance de la compensation vestibulaire.

Modifications des propriétés intrinsèques des neurones vestibulaires

L'idée de modifications intrinsèques des neurones vestibulaires eux-mêmes date des premiers travaux qui ont montré *in vitro* la nature pacemaker de l'activité des neurones vestibulaires dans les années 80 (Gallagher et col. 1985; Lewis et col. 1987). L'hypothèse est formulée dans des articles théoriques au cours des années 90 (revue dans Darlington et col. 2002; Darlington et Smith 1996). Cameron et Dutia (1997) ont trouvé chez le rat à l'aide d'enregistrements extracellulaires *in vitro* une augmentation de l'activité spontanée des

neurones ipsilatéraux situés dans la partie rostrale du noyau vestibulaire médian au cours des 24 premières heures de compensation, corroborant ainsi les études menées auparavant en extracellulaire chez le cobaye (Darlington et col. 1989; Vibert et col. 1999b). Rappelons que l'hypothèse de changements intrinsèques aux neurones vestibulaires suppose des modifications de l'activité spontanée et/ou de l'excitabilité des neurones par des changements persistants d'expression et/ou de régulation de l'activité des canaux ioniques membranaires axo-somatiques, somatiques ou dendritiques (à l'exclusion des changements synaptiques). Au moment de débuter mes travaux, deux études en cours de réalisation portaient sur ces éventuels changements après 7 jours de compensation. Nous présenterons plus en détail ces expériences en introduction du premier papier concernant la compensation vestibulaire (*voir p.97*)

C.III.3 Corrélats non-neuronaux de la compensation vestibulaire : l'hypothèse gliale

Les interactions neurone-glie sont impliquées dans la fonction immunitaire et dans les mécanismes de plasticité post-lésionnelle du système nerveux central (Banati 2002). Il n'y a plus actuellement de doute sur le fait que le système immunitaire peut avoir des effet neuroprotecteurs *via* l'expression de neurotrophines et de cytokines, et ainsi jouer un rôle fondamental dans la plasticité post-lésionnelle du SNC. Parmi les cellules gliales, la microglie joue le rôle de cellules immunitaires du SNC. Les cellules gliales répondent aux lésions neurales périphériques ou centrales par des transformations caractéristiques, on parle « d'activation gliale » (Raivich et col. 1999a; Raivich et col. 1999b).

Les travaux effectués par de Waele et col. au sein du L.N.R.S (Campos Torres et col. 1999; de Waele et col. 1996) ont montré que la labyrinthectomie unilatérale induisait une augmentation rapide de l'expression de la vimentine et de la GFAP dans les noyaux vestibulaires déafférentés. Ces deux protéines astrocytaires, qui sont utilisées dans cette étude comme marqueurs de l'activation gliale, pourraient également être importantes dans la modulation de l'excitabilité des neurones, en favorisant la plasticité au niveau synaptique (McCall et col. 1996; Shibuki et col. 1996). Cependant, le rôle exact de ces deux protéines gliales dans les processus de plasticité neuronale est encore mal compris.

De plus, des travaux réalisés sur des cultures mixtes d'astrocytes et de neurones, montrent qu'une vague calcique se propageant à travers le réseau astrocytaire est capable d'induire une importante élévation de la concentration cytosolique de calcium dans des

neurones situés à distance. La propagation de vagues calciques au travers du réseau glial dans les noyaux vestibulaires pourrait représenter un mécanisme de signalisation extra-neuronale influençant l'excitabilité des neurones vestibulaires déafférentés après labyrinthectomie (Newman et Zahs 1997; Verkhratsky et col. 1998). Les cellules gliales vestibulaires pourraient ainsi participer au traitement de l'information vestibulaire en coordonnant l'activité des neurones vestibulaires secondaires déafférentés au sein du réseau des neurones vestibulo-oculomoteurs (Goritz et col. 2002).

C.III.4 Corrélats moléculaires de la compensation

Expression de neurotrophines et de cytokines

De nombreuses études suggèrent l'action des neurotrophines (les neurotrophines sont des facteurs essentiels de la survie et de la différenciation neuronale, notamment au cours du développement) et pour la physiologie des synapses. La synthèse et la sécrétion des neurotrophines peuvent être régulées par l'activité électrique des cellules (Caleo et Maffei 2002; Kang et Schuman 1995; Maffei 2002). Les neurotrophines semblent jouer un rôle instructif (la neurotrophine guide un phénomène) et/ou permissif (la neurotrophine lève l'inhibition empêchant un phénomène) sur la potentialisation (Figurov et col. 1996) et la dépression synaptiques dépendantes de l'activité, et ce en fonction du développement et de l'histoire propre des synapses (Collin et col. 2001; Poo 2001; Thoenen 1995).

Dans le cadre de la compensation vestibulaire, Gacek et Khetarpal (1998) ont montré que des souris mutantes (appelées souris K.O pour « knock-out », dont un gène a été invalidé) n'exprimant pas de neurotrophine NT-3 subissaient un retard de compensation des troubles statiques, contrairement aux souris K.O. pour les neurotrophines NT-4 ou le Brain-Derived-Neurotrophic Factor (BDNF). Plusieurs études ont montré une augmentation d'expression du BDNF suite à une labyrinthectomie unilatérale, suggérant une possible implication de cette neurotrophine dans la réorganisation synaptique survenant au cours des premiers jours de compensation (Li et col. 2001; Smith et col. 1998).

Un nombre croissant d'études suggère un rôle de neuroprotection de la part des cytokines, molécules qui sont produites dans le cadre d'une réaction inflammatoire (Vitkovic et col. 2000a; Vitkovic et col. 2000b). Campos-Torres et Barnum (en préparation) ont trouvé par RT-PCR quantitative une augmentation significative des ARN messagers codant pour l'IL-1ß (interleukine-1ß), l'IL-6 (interleukine-6), le TNF-α (tumor necrosis factor-α) et le

TGF-ß-1 (transforming growth factor ß-1) dans les noyaux vestibulaires dès 12 h à 1 jour après la lésion. Ce résultat préliminaire suggère que l'activation gliale que nous avons évoquée, induite dans les noyaux vestibulaires après labyrinthectomie, pourrait avoir un rôle neuroprotecteur et favoriser la récupération d'activité des neurones vestibulaires *via* l'expression de neurotrophines et de cytokines.

Phosphorylation des protéines

Ris et col. ont montré (1998) que l'utilisation d'un inhibiteur de la synthèse protéique, la cycloheximide, ne retarde pas la récupération de l'activité des neurones du noyau vestibulaire médian. La synthèse de nouvelles protéines ne semble donc pas nécessaire pour la phase initiale de la restauration de l'activité spontanée des neurones déafférentés. Une autre de leurs études (Ris et col. 1999b) montre cependant qu'une seconde phase, approximativement après la fin de la première semaine de compensation, pourrait reposer sur la synthèse de nouvelles protéines. Ce résultat rend probable l'hypothèse selon laquelle la phase initiale de la compensation vestibulaire, schématiquement définie comme la première semaine chez le cobaye, reposerait principalement sur des modifications des protéines déjà exprimées.

Ces modifications des protéines déjà présentes pourraient consister en des phosphorylations/ déphosphorylations, dont le rôle ubiquitaire au sein du CNS a été largement démontré (Majewski et Iannazzo 1998; Tokuda et Hatase 1998). Des expériences menées *in vitro* dans le cadre de la compensation vestibulaire ont suggéré une implication de la protéine kinase C (PKC) dans ces phosphorylations (Balaban et col. 1999; Kerr et col. 2000). Ce résultat a été confirmé *in vivo* par Smith, Darlington, et col. qui ont montré qu'une inhibition de la PKC provoquait un retard dans la compensation précoce des symptômes statiques (Sansom et col. 1997; Sansom et col. 2000). Des expériences similaires ont au contraire montré que la Ca^{2+}/calmoduline kinase n'était probablement pas impliquée dans la compensation au cours de la première semaine (Sansom et col. 2000).

C.IV. Aspects temporels de la compensation vestibulaire

C.IV.1 Le phénomène de Bechterew

En 1925, Spiegel et Démétriades ont montré que si l'on détruit simultanément les deux labyrinthes, aucun symptôme asymétrique n'est induit. Une situation tout à fait différente se

présente si on détruit le second labyrinthe après que la compensation des symptômes dus à la première lésion ait eu lieu. Dans ce cas, la deuxième lésion cause des symptômes qui sont exactement l'image en miroir de ceux causés par la précédente déafférentation. Ce phénomène a été découvert par Bechterew, qui lui a donné son nom, dès 1883 (Bechterew 1883). La sévérité des symptômes et le temps de compensation dépendent de l'intervalle de temps entre les deux lésions. Voici une description des symptômes déclenchés par la seconde lésion chez le cobaye :

a) Si les deux lésions sont séparées de 24h, on ne constate quasiment pas de déficit, hormis une très légère déviation de la tête (Vibert et col. 1999b).

b) Chez le cobaye, trois jours après la première labyrinthectomie, une seconde lésion ne provoque que de faibles symptômes. Le syndrome postural est peu développé. Les yeux, par contre, présentent un nystagmus dont les phases lentes sont orientées vers le côté nouvellement lésé (Schaefer et col. 1979; Vibert et col. 1999a). Ce résultat démontre que le nystagmus et la déviation de la tête récupèrent à des vitesses différentes, et font sans doute appel à des mécanismes de compensation différents.

c) Si l'intervalle entre les deux opérations est de l'ordre d'une semaine, le cobaye présente un nystagmus et une rotation du corps et de la tête dirigés du côté de la seconde lésion. Ce second syndrome est le reflet en miroir de celui provoqué par la première labyrinthectomie unilatérale (Vibert et col. 1999a).

d) Si on augmente encore le délai entre les deux lésions, les symptômes de la deuxième labyrinthectomie sont plus prononcés, l'angle de déviation de la tête est plus grand et la fréquence du nystagmus est plus importante (Schaefer et Meyer 1973).

Ainsi ce phénomène traduit en quelque sorte le décours temporel de la compensation, au moins pour les symptomes statiques, qui chez le cobaye, n'est donc qu'incomplète à 3 jours, apparaît complète à 7, mais pourrait se poursuivre au-delà de la première semaine.

Schaeffer et Meyer (1974a) ont étudié par lésions sélectives les structures nécessaires pour l'apparition du phénomène de Bechterew : l'ablation du télencéphale, du cervelet, du

diencéphale, l'exclusion des afférences optiques, la section des racines cervicales dorsales hautes n'empêche pas le Bechterew. En revanche, la destruction des noyaux vestibulaires situés du côté de la première lésion supprime l'apparition du phénomène. Ceci suggère que la récupération d'une activité équilibrée entre les complexes vestibulaires ipsi et contralatéraux à la lésion est à long terme un mécanisme important de la compensation. Ces résultats ont été corroborés par l'étude menée au sein du laboratoire par Vibert et col. (1999a): tirant avantage de la préparation du cerveau entier isolé *in vitro*, ces auteurs ont montré que la récupération de la décharge spontanée des neurones au sein des noyaux ipsi et contralatéraux à la lésion suivait le même décours temporel que celui décrit *in vivo* par Ris et col. (1997a). Les données obtenues sur cette préparation ont renforcé l'idée que la récupération d'une décharge normale reposait sur des changements localisés au sein des réseaux de neurones vestibulaires centraux.

C.IV.2. La top-down hypothesis

En 1999, au moment de mon arrivée au L.N.R.S, le laboratoire venait de proposer une hypothèse concernant la compensation vestibulaire : cette hypothèse suppose un processus organisé en phases successives, selon une stratégie de type " top-down " (Vibert et col. 1999b), le nombre de structures impliquées dans le maintien du processus de compensation ayant tendance à se réduire au cours du temps. Voyons le détail des grandes étapes proposées alors.

C.IV.2.1. Récupération initiale à l'aide d'autres systèmes sensorimoteurs

Au cours des 12 à 24 premières heures, le nystagmus spontané et les déficits posturaux commencent à régresser (De Waele et col. 1989) alors que les neurones déafférentés n'ont pas encore commencé à récupérer leur activité de repos (Ris et col. 1997a). Cette diminution initiale des symptômes statiques doit donc reposer sur la prise en compte par le système nerveux central de l'animal des signaux d'erreurs fournis par les autres systèmes sensoriels (c'est-à-dire la vision et la proprioception). La récupération initiale des troubles statiques serait donc due à des modifications de l'activité des réseaux extra-vestibulaires. Concrètement, le contrôle du regard et de la posture serait pris en charge à ce stade par d'autres systèmes moteurs (réticulaires, corticaux) en remplacement du système vestibulaire déficient.

C.IV.2.2. Changements au niveau des réseaux neuronaux

Au cours de la première semaine, des traces de la compensation commencent à persister *in vitro* sur une préparation de cerveau entier isolé de cobaye qui préserve l'intégralité des réseaux vestibulo-oculaires. L'importance des traces qui persistent sur la préparation, qui traduisent le fait qu'un processus de plasticité est en cours, augmente jusqu'à 7 jours parallèlement à la restauration de l'activité de repos des neurones déafférentés (Vibert et col. 1999a). A ce stade, la compensation vestibulaire doit donc reposer sur des modifications d'ensemble des réseaux vestibulo-oculaires et vestibulo-spinaux inclus dans la préparation de cerveau entier. Ces changements impliquent notamment des modifications pharmacologiques de la sensibilité des récepteurs synaptiques portés par les neurones vestibulaires centraux (Vibert et col. 2000; Yamanaka et col. 2000a). Peu de changements des propriétés membranaires intrinsèques des neurones vestibulaires interviennent à ce stade (Him et Dutia 2001; Ris et col. 2002; Ris et col. 2001b). Au cours de la première semaine de compensation, le rétablissement d'une activité normale semble donc passer par des modifications dans l'efficacité des connexions synaptiques contactant les neurones vestibulaires. La récupération initiale des troubles statiques serait donc due à des modifications de l'activité des réseaux extra-vestibulaires, les neurones extérieurs aux noyaux vestibulaires qui se projettent sur les neurones vestibulaires secondaires déafférentés verraient leur activité modifiée. Une augmentation de l'activité de neurones excitateurs et/ou une diminution d'activité des neurones inhibiteurs pourraient à ce stade expliquer la récupération de la décharge normale des neurones vestibulaires ipsilatéraux à la lésion.

C.IV.2.3. Changements des propriétés intrinsèques

Au-delà de la première semaine suivant la lésion, la compensation commencerait à reposer sur des changements des propriétés biophysiques intrinsèques des neurones vestibulaires eux-mêmes. Ces changements, qui se traduisent par des modifications de la décharge spontanée des neurones vestibulaires centraux enregistrés sur tranche, affecteraient d'abord les neurones déafférentés par la lésion, puis les neurones contralatéraux, et se développeraient progressivement au moins jusqu'à la fin du premier mois de compensation (Vibert et col. 1999b). Après un mois de compensation, les enregistrements extracellulaires menés en condition de découplage synaptique (solution à haute teneur en magnésium et basse teneur en calcium) sur les tranches de tronc cérébral contenant les noyaux vestibulaires montrent une augmentation de la décharge spontanée des neurones déafférentés par la lésion et une diminution de l'activité des neurones contralatéraux.

Ainsi d'après cette hypothèse, la compensation pourrait reposer dans un premier temps sur les informations issues des systèmes sensoriels encore intacts (implication d'autres voies sensorimotrices) puis sur une réorganisation des réseaux de neurones incluant les noyaux vestibulaires (changements synaptiques), et enfin sur des modifications des propriétés membranaires des neurones vestibulaires centraux eux-mêmes (changements intrinsèques) (Vibert et col. 1999b). Ce type de stratégie suivant un schéma « top-down » pourrait être très général, et être utilisé par le système nerveux central dans de nombreuses autres situations pathologiques, voire au cours des phénomènes d'adaptations ou d'apprentissages.

Notons enfin que certains aspects de cette hypothèse sont bien évidemment contestables, notamment parce qu'elle présente les changements neuronaux de manière très séquencée et schématique. Son essence ne nécessite cependant pas de considérer l'ensemble de ces processus de manière indépendante les uns des autres, les changements observés sont probablement étroitement liés d'un point de vue biologique (*voir discussion*). Sa plus grande qualité est de concilier dans un même schéma la substitution sensorielle qui a lieu précocement et les changements vestibulo-centriques qui libèrent finalement le système des influences externes, et ce au moins de manière partielle. Cette hypothèse a également pour qualité de s'intéresser étroitement au décours temporel des processus cellulaires déclenchés par la labyrinthectomie, justifiant pourquoi la récupération des déficits statiques et dynamiques serait séquentielle. La top-down hypothesis a largement contribué à orienter mes travaux au sein du laboratoire, et c'est à ce titre surtout que je tenais à l'exposer comme introduction des travaux expérimentaux effectués au cours de ma thèse.

TRAVAUX EXPERIMENTAUX

A. Etude des propriétés membranaires des neurones vestibulaires médians ipsilatéraux enregistrés un mois après labyrinthectomie unilatérale : *Beraneck et col. 2003*

A.1 Contexte scientifique

Comme nous l'avons évoqué, la compensation vestibulaire consiste en l'ensemble des processus cellulaires et comportementaux déclenchés par la destruction unilatérale du labyrinthe de l'oreille interne. Cette compensation conduit à la quasi-disparition des troubles statiques et à l'amélioration des réflexes dynamiques d'origine vestibulaire. De fait, la plupart des études se concentrent sur la période précoce qui correspond à la disparition des troubles statiques en cherchant à caractériser les bases neuronales de la récupération d'une activité normale par les neurones déafférentés. Peu d'auteurs, cependant, douteraient que les processus cellulaires déclenchés par la lésion se poursuivent bien plus longuement.

En 1999, à partir de différentes expériences menées *in vitro* à l'aide d'enregistrements extracellulaires (Darlington et col. 1989; Vibert et col. 1999b) et sur la préparation de cerveau entier isolé (Vibert et col. 1999a) le L.N.R.S a proposé une hypothèse rendant compte de la dynamique temporelle de la compensation. Cette hypothèse repose sur le postulat que le nombre de structures impliquées dans la compensation se réduirait au cours du temps, suivant un mécanisme en « top-down » (Vibert et col. 1999b), du global vers le particulier. Cette hypothèse propose schématiquement que les changements synaptiques qui interviennent auraient lieu essentiellement au cours de la première semaine, alors que les changements intrinsèques de l'excitabilité des cellules ne seraient pas encore détectables à l'échelle de l'ensemble du noyau médian. Des changements membranaires intrinsèques plus importants se développeraient au-delà de la première semaine de compensation.

Cameron et Dutia (1997) ont trouvé chez le rat à l'aide d'enregistrements extracellulaires *in vitro* une augmentation de l'activité spontanée des neurones ipsilatéraux

situés dans la partie rostrale du noyau vestibulaire médian au cours des 24 premières heures de compensation. Les études menées auparavant en extracellulaire chez le cobaye ont montré des modifications à long terme de l'activité spontanée dans le noyau vestibulaire médian : une augmentation de l'activité du noyau ipsilatéral à la lésion dès la fin de la première semaine de compensation et une diminution de l'activité des neurones contralatéraux à la lésion après un mois de compensation (Darlington et col. 1989; Vibert et col. 1999b). L'étape suivante consistait à enregistrer pendant la compensation ces neurones en intracellulaire afin d'avoir accès à leurs propriétés membranaires intrinsèques et non plus uniquement à leur activité de décharge comme cela était le cas pour l'ensemble de ces études menées *in vitro* à partir d'enregistrements extracellulaires. Him et Dutia (2001) chez le rat d'une part, et Ris et col. (2002) chez le cobaye d'autre part ont effectué ces expériences au cours de la première semaine de compensation vestibulaire. Chez ces deux espèces, les changements des propriétés membranaires étaient restreints aux neurones de type B, les résultats indiquant une hausse de l'excitabilité des neurones comme cela était attendu au regard des travaux précédents. Les résultats obtenus, chez le rat notamment, confirment que des changements des propriétés intrinsèques se produisent de manière précoce, dès les 3 premiers jours suivant la lésion, au moins pour les neurones vestibulaires ipsilatéraux situés dans le partie rostrale du NVM. Nous reviendrons sur la dynamique de ces changements dans la discussion.

Nous avons développé pour cette étude une méthode quantitative de classification des neurones vestibulaires, afin de distinguer de manière objective les neurones de type A des neurones de type B et de pouvoir comparer leurs propriétés avant et après labyrinthectomie unilatérale. En partant des paramètres qualitatifs caractéristiques de ces types cellulaires (la double AHP des neurones de type B d'une part, le courant rectificateur de type I_A des neurones de type A d'autre part), nous avons défini les critères de classification sur un groupe de neurones enregistrés en condition contrôle et les avons appliqués aux neurones déafférentés un mois auparavant. Cette technique d'analyse semi-automatique a par la suite été utilisée dans les études portant sur les neurones enregistrés du côté contralatéral à la lésion, sur les neurones du noyau vestibulaire latéral, et sur les neurones enregistrés par E. Idoux dans le noyau prépositus hypoglossi. Cette approche quantitative nous permet d'envisager l'amélioration des modèles réalistes des neurones vestibulaires développés au sein du laboratoire (*Voir discussion générale A.2*).

A.2 Buts de l'étude

Dans cette étude, nous avons pris le parti de nous placer à long terme, c'est-à-dire après un mois de compensation vestibulaire, longtemps après la disparition des troubles statiques et la récupération d'une décharge spontanée normale par les neurones vestibulaires déafférentés. Selon l'hypothèse avancée par le L.N.R.S, ces neurones devaient à ce stade présenter des modifications importantes de leurs propriétés membranaires, c'est en effet surtout à long terme que les propriétés de membrane seraient impliquées dans le phénomène de compensation, en accord avec l'augmentation de leur activité spontanée observée à l'aide d'enregistrements extracellulaires (entre 7 jours et un mois de compensation, Vibert et col. 1999). D'un point de vue fonctionnel, ce temps de compensation permet d'aborder la question de la récupération des troubles dynamiques observée *in vivo*.

Les propriétés intrinsèques des neurones que j'ai enregistrés sur les tranches prélevées après un mois de compensation ont été déterminées en utilisant un ensemble stéréotypé de stimuli par injection intracellulaire de courant mis au point par Lee E. Moore. Les mêmes techniques avaient déjà été utilisées pour étudier les neurones du noyau vestibulaire médian enregistrés sur les tranches d'animaux intacts, n'ayant pas subi de lésion vestibulaire (Ris et col. 2001b). Nous avons donc pu directement comparer les données recueillies après compensation à ces données contrôles, que j'ai par ailleurs confirmées et complétées en enregistrant moi-même des neurones vestibulaires médians sur des tranches issues de cobayes n'ayant pas subi de labyrinthectomie unilatérale.

Quels changements électrophysiologiques se produisent en réponse à une déafférentation fonctionnelle ? Comment ces neurones déafférentés compensent-ils la perte de leur principale source d'afférences excitatrices ? La réponse à ces questions est sans doute également importante dans d'autres contextes, tels le vieillissement, les accidents vasculaires cérébraux ou les maladies dégénératives du SNC, où il est probable que d'autres neurones ont aussi à faire face à la perte d'une grande partie de leur afférences. Au-delà des questions propres au système vestibulaire, c'est en tant que modèle de déafférentation fonctionnelle et de réorganisation post-lésionnelle au sein d'un système distribué complexe que cette expérience s'insère dans les recherches actuelles concernant les propriétés membranaires intrinsèques et le code neural au sein du SNC.

A.3 Résumé en français

Une labyrinthectomie unilatérale provoque des troubles oculomoteurs et posturaux qui s'atténuent en quelques jours au cours de la compensation vestibulaire. Nous avons étudié les conséquences à long terme (après un mois de compensation) de la labyrinthectomie unilatérale en caractérisant les propriétés de repos et les réponses dynamiques de neurones du noyau vestibulaire médian, enregistrés sur tranches de tronc cérébral de cobaye du côté ipsilatéral à la lésion. Nous avons comparé les réponses des neurones de type A et de type B à des stimuli en sauts, rampes et sinusoïdes de courant de fréquences variées. Les neurones ipsilatéraux à la lésion présentaient une dépolarisation de 6 à 10 mV par rapport à la normale. Cette dépolarisation concerne leur potentiel membranaire moyen enregistré au repos aussi bien que le seuil de déclenchement de leur potentiel d'action, suggérant que des changements des conductances actives exprimées par les neurones pourraient compenser la perte des afférences sensorielles vestibulaires excitatrices. L'amplitude de l'AHP des neurones de type B ipsilatéraux à la lésion est augmentée, alors que la composante rapide de leur AHP normalement biphasique tend à disparaître. La régularité de la décharge spontanée des neurones de type B est également augmentée. L'ensemble des neurones ipsilatéraux, et plus particulièrement les neurones de type B, sont plus sensibles à l'injection de courant pour des fréquences de stimulations allant jusqu'à 30 Hz. La gamme de fréquence pour laquelle les neurones de type B présentent des réponses linéaires est élargie de 4-6 à 12-14 Hz. L'ensemble de ces résultats montre que les propriétés membranaires intrinsèques des neurones vestibulaires médians situés du côté lésé sont largement modifiées après un mois de compensation vestibulaire. Les propriétés de repos et les réponses dynamiques des neurones de type B se rapprochent de celles des neurones de type A par rapport aux conditions normales, conduisant à long terme à une homogénéisation des propriétés électrophysiologiques des neurones vestibulaires médians.

J Neurophysiol 90: 184–203, 2003.
First published March 20, 2003; 10.1152/jn.01140.2002.

Long-Term Plasticity of Ipsilesional Medial Vestibular Nucleus Neurons After Unilateral Labyrinthectomy

Mathieu Beraneck,[1] Mohammed Hachemaoui,[1] Erwin Idoux,[1] Laurence Ris,[2] Atsuhiko Uno,[1] Emile Godaux,[2] Pierre-Paul Vidal,[1] Lee E. Moore,[1] and Nicolas Vibert[1]

[1]*Laboratoire de Neurobiologie des Réseaux Sensorimoteurs, Centre National de la Recherche Scientifique, Unité Mixte de Recherche 7060, Université Paris 5, Centre Universitaire des Saints-Pères, 75270 Paris Cédex 06, France; and* [2]*Laboratoire de Neurosciences, Université de Mons-Hainaut, 7000 Mons, Belgium*

Submitted 18 December 2002; accepted in final form 12 March 2003

Beraneck, Mathieu, Mohammed Hachemaoui, Erwin Idoux, Laurence Ris, Atsuhiko Uno, Emile Godaux, Pierre-Paul Vidal, Lee E. Moore, and Nicolas Vibert. Long-term plasticity of ipsilesional medial vestibular nucleus neurons after unilateral labyrinthectomy. *J Neurophysiol* 90: 184–203, 2003. First published March 20, 2003; 10.1152/jn.01140.2002. Unilateral labyrinthectomy results in oculomotor and postural disturbances that regress in a few days during vestibular compensation. The long-term (after 1 mo) consequences of unilateral labyrinthectomy were investigated by characterizing the static and dynamic membrane properties of the ipsilesional vestibular neurons recorded intracellularly in guinea pig brain stem slices. We compared the responses of type A and type B medial vestibular nucleus neurons identified in vitro to current steps and ramps and to sinusoidal currents of various frequencies. All ipsilesional vestibular neurons were depolarized by 6–10 mV at rest compared with the cells recorded from control slices. Both their average membrane potential and firing threshold were more depolarized, which suggests that changes in active conductances compensated for the loss of excitatory afferents. The afterhyperpolarization and discharge regularity of type B but not type A neurons were increased. All ipsilesional vestibular cells became more sensitive to current injections over a large range of frequencies (0.2–30 Hz), but this increase in sensitivity was greater for type B than for type A neurons. This was associated with an increase of the peak frequency of *linear* response restricted to type B neurons, from 4–6 to 12–14 Hz. Altogether, we show that long-term vestibular compensation involves major changes in the membrane properties of vestibular neurons on the deafferented side. Many of the static and dynamic membrane properties of type B neurons became more similar to those of type A neurons than in control slices, leading to an increase in the overall homogeneity of medial vestibular nucleus neurons.

INTRODUCTION

Destruction of one labyrinth results in major oculomotor and postural disturbances that spontaneously regress during vestibular compensation (for reviews, see Curthoys 2000; Dieringer 1995; Smith and Curthoys 1989; Vibert et al. 1997). The static deficits, which include postural distortions and a spontaneous ocular nystagmus, disappear over 3–4 days in the guinea pig and rat as in most mammalian species (Darlington et al. 2002; de Waele et al. 1989; Sirkin et al. 1984; Smith and Curthoys 1989). The dynamic deficits include a reduced gain and abnormal timing of the vestibuloocular and vestibulospinal synergies. They partially improve over several weeks, but this recovery is limited to low acceleration and to the low and middle frequency range (0.1 to ~10 Hz) of head movement (Broussard et al. 1999; Gilchrist et al. 1998; Hamann et al. 1998; Lasker et al. 2000;Vibert et al. 1993).

After unilateral labyrinthectomy (UL), the ipsilesional vestibular nucleus neurons (VNn) lose the excitatory drive provided by labyrinth afferents and become silent. In contrast, the spontaneous discharge of the contralateral VNn increases. This imbalance is responsible for the deficits triggered by the lesion. During the first week after UL, the recovery of a normal resting discharge by the ipsilesional medial VNn (MVNn) plays a key role in the disappearance of the static syndrome by restoring the balance between the activity of neurons in both vestibular nuclei (Ris et al. 1995, 1997). Because the ipsilesional labyrinth afferents stay silent (Jensen 1979; Sirkin et al. 1984), this recovery is a model of plasticity in the CNS.

Vestibular compensation involves modification of both the intrinsic properties of the ipsilesional MVNn and the vestibular-related networks in which they are embedded (Cameron and Dutia 1997; Darlington and Smith 1996; Darlington et al. 2002; Vibert et al. 1999a, 2000; Yamanaka et al. 2000). We recently suggested that in rodents, the spontaneous discharge recovered in vivo by the ipsilesional MVNn might be more and more sustained by changes in the intrinsic properties of MVNn themselves as the time of compensation increases (Vibert et al. 1999b). *Extracellular recordings* on slices taken from previously labyrinthectomized animals show an increase of the spontaneous discharge of the ipsilesional MVNn compared with control slices, and/or to contralesional neurons during the first week of compensation (Cameron and Dutia 1997; Ris et al. 2001a; Vibert et al. 1999b; for review, see Darlington et al. 2002). In particular, a significant increase in the firing rate of MVN neurons can be detected as early as 4 h after the lesion in the rostral third of the nucleus in rats (Cameron and Dutia 1997). In the guinea pig, we and others have shown that this increase of the spontaneous firing rate of ipsilesional neurons becomes stronger when the slices are taken after 1 or 2 mo

Address for reprint requests: N. Vibert, Laboratoire de Neurobiologie des Réseaux Sensorimoteurs, CNRS UMR 7060, Université Paris 5, 45 rue des Saints-Pères, 75270 Paris Cédex 06, France (E-mail: nivi@ccr.jussieu.fr).

The costs of publication of this article were defrayed in part by the payment of page charges. The article must therefore be hereby marked "*advertisement*" in accordance with 18 U.S.C. Section 1734 solely to indicate this fact.

 0022-3077/03 $5.00 Copyright © 2003 The American Physiological Society

instead of 1 wk (Darlington et al. 1989; Vibert et al. 1999b). This late in vitro change is not directly involved in the initial recovery of a normal discharge rate by the ipsilesional MVNn observed in vivo, which is achieved by the end of the first week after UL. However, it is concomitant to the recovery of the dynamic synergies triggered by low-acceleration stimuli that has been described a few weeks after the lesion (Gilchrist et al. 1998; Vibert et al. 1993) (see preceding text).

In vitro intracellular recordings have led to the identification of two main types of MVNn, the type A and type B neurons, according to their membrane properties (Gallagher et al. 1985; Him and Dutia 2001; Johnston et al. 1994; Serafin et al. 1991a,b). It is generally admitted that MVNn represent a continuum of cells whose properties are distributed between those of two canonical types of neurons, the type A and B MVNn (Du Lac and Lisberger 1995a). Studies using intracellular or whole cell patch-clamp recordings have confirmed that some membrane and response properties of the ipsilesional MVNn were modified 7–10 days after UL (see also DISCUSSION). Godaux and Ris (2001) and Him and Dutia (2001) have reported an increase in the proportion of type B MVNn displaying low-threshold calcium spikes. Him and Dutia (2001) demonstrated that the average resting membrane potential of type B MVNn was depolarized by 3 mV compared with control cells, while their input resistance was increased by 10–15%. Ris et al. (2001c, 2002) reported that the nonlinear "overshoot" induced by ramp-like currents was increased in type B but not in type A ipsilesional MVN neurons. In contrast, the sensitivity of MVNn to steady-state current injection was not modified.

To determine how the properties of the deafferented MVNn were modified after longer times of compensation, we performed intracellular recordings of MVNn on slices taken from animals *1 mo after* a UL and determined their static and dynamic membrane properties. We measured the responses of the ipsilesional MVNn to steps, ramps, and sinusoidal currents of various amplitudes and frequencies. The results were compared with data obtained using the same stimuli for MVNn recorded on control slices.

On all previous publications, MVN neurons have been categorized into type A and B neurons using only *qualitative criteria*. To assess reliably the long-term effects of UL on this heterogeneous population of cells and remove possible biases in the classification of MVNn, *quantitative, objective criteria* were developed to characterize the intracellularly recorded MVNn. These criteria were set from the sample of 89 cells recorded in control slices, and then the neurons recorded on the ipsilesional side of slices taken from labyrinthectomized animals were classified in exactly the same way.

We assume that a large majority (>80%) of the MVNn we record on slices are second-order vestibular neurons, which, in previously labyrinthectomized animals, have lost labyrinthine input at the time of the lesion. Indeed, 80–85% of the central vestibular neurons recorded in the MVN area of the isolated whole brain of guinea pig, using similar electrodes to those used on slices, could be identified as second-order vestibular neurons (Babalian et al. 1997). This high proportion of second-order cells is in agreement with previous anatomical (Carleton and Carpenter 1983; Sato and Sasaki 1993) and physiological studies (Chen-Huang et al. 1997; Goldberg et al. 1987).

METHODS

Animals and surgical procedures

Experiments were carried out on pigmented guinea pigs of both genders (Elevage de la Garenne, Saint-Pierre d'Exideuil, France). The animals were handled in accordance with the European Communities Council Directive of November 24, 1986, and following the procedures issued by the French Ministère de l'Agriculture. The guinea pigs used to obtain control slices (i.e., intact animals, $n = 60$) had a mean age of ~5 wk (range: 4–8 wk) and a mean weight of ~250 g (range: 150–400 g). Because of the compensation time, the slices obtained 1 mo after UL were from slightly older animals aged 7–9 wk ($n = 26$), whose mean weight was ~320 g (range: 250–450 g). Compared with the rat, guinea pig is a precocious species where the CNS is almost mature at birth (after a *9-wk-long* gestation period) and postnatal maturation of the CNS is minimal (Dobbing and Sands 1970; Nacher et al. 2000). Besides, there was no difference in the membrane properties of the intracellularly-recorded MVNn obtained from the smallest (150–200 g) versus the largest (300–400 g) intact guinea pigs, which proves that the properties of MVNn recorded in control slices are not significantly modified within the age range of the animals that we used.

ULs were performed under halothane anesthesia with the help of an operating microscope as described in Vibert et al. (1999a,b). The semicircular canals, utricle, and saccule were exposed via a retroauricular approach. The bony labyrinth was drilled, and the ampullae of all three canals and the otolithic maculae were removed using suction. The guinea pigs were allowed to compensate in a normal visual environment until their brain was removed to prepare the slices.

Intracellular electrophysiological recordings

Thick (500 μm) coronal brain stem slices were cut and maintained using standard techniques (Gallagher et al. 1985; Serafin et al. 1991a; Vibert et al. 1999b). Intracellular electrophysiological recordings were obtained with sharp, 3 M potassium acetate-containing glass microelectrodes from neurons within the medial vestibular nucleus (MVN), taking the border of the IVth ventricle as a landmark.

Given that MVN neurons constitute a heterogeneous population, it was critical to be sure that we sampled the same populations of neurons before and after labyrinthectomy. Otherwise, the differences reported in the following text could be an artifact of having recorded from different populations of cells. In particular, we have observed that the proportions of type A and B MVNn were varying along the rostrocaudal extent of the nucleus (N. Vibert, M. Serafin, M. Mühlethaler, unpublished data). Other authors have demonstrated that the cellular changes associated with vestibular compensation can be different in the caudal and rostral parts of the MVN (Cameron and Dutia 1997; Yamanaka et al. 2000). To control for this variability, we decided to restrict as much as possible our recordings to the two 500-μm coronal slices corresponding to the middle third of the guinea pig MVN, at the level of the cerebellar peduncles. Only a few cells (<10%) were recorded in more caudal slices corresponding to the last third of the MVN, both in normal and previously labyrinthectomized animals. The same investigator, who always used the same experimental setup and similar electrodes, obtained all data from previously labyrinthectomized animals as well as the majority of the control data. The other part of the control data were from a previously published study (Ris et al. 2001b) and was obtained by a different investigator (see RESULTS). There was no significant difference between the two data sets.

All measurements were done with an Axoclamp 2A system (Axon Instruments, Union City, CA) in either the bridge or switching discontinuous current-clamp (DCC) mode (Moore et al. 1993). The electrode resistance varied from 80 to 150 MΩ. Both series resistance (bridge balance) and capacitance compensation were checked throughout the recording of each individual neuron (Ris et al. 2001b).

Part of the current injections and all data acquisition were performed with a PC-compatible computer using the "Acquis 1" program (version 4.0, Bio-logic S.A., Gif-sur-Yvette, France). The sampling rate used for acquisition varied between 2,000 and 5,000 Hz, depending on the length of the data-acquisition sequence. Consequently, the amplitudes of the digitized spikes were variable; however, oscilloscope traces verified that the size of the action potential was constant at any given membrane potential. The data were analyzed using program scripts with Mathematica 4.0 (Wolfram Research, Champaign, IL), or MATLAB 6.5 (The MathWorks, Natick, MA). To minimize the possibility that experimenter biases might affect the results, the same scripts were used to quantify the properties and responses of MVNn recorded on control slices and slices taken from previously labyrinthectomized animals.

Basic membrane and firing properties of MVNn

Because most MVNn are spontaneously active on slices, the potential was filtered with a 1-Hz low-pass filter to obtain an estimate of its average resting level that was taken as the "mean resting membrane potential" of each neuron. For each cell, this membrane potential value was corrected by measuring and subtracting the extracellular voltage offset found after removal of the electrode from the neuron. No correction was made for liquid junction potentials, but this can be assumed to be constant between slices taken from control and previously labyrinthectomized animals given that both sets of MVNn were recorded using similar electrodes.

The same criteria were used to evaluate the quality of intracellular recordings and select the neurons used for statistical analysis in control slices and in slices taken from previously labyrinthectomized animals. All cells that had resting membrane potentials more negative than –50 mV and spike amplitudes >50 mV were automatically retained. In both types of slices, we also included in the sample the MVNn whose membrane potential ranged from –50 to –40 mV if they displayed spike amplitudes >50 mV and a normal spike width. The number of such cells was 5 of 89 MVNn in control slices and 17 of 78 MVNn in slices taken from previously labyrinthectomized animals. Spike width at threshold was considered to be normal if it stayed within the range of the spike widths (0.70–2.20 ms) measured for the neurons that had resting potentials more negative than –50 mV and spike amplitude >50 mV.

Recordings of the neurons at rest (i.e., with no holding current being injected through the recording electrode) were used to calculate their mean spontaneous firing rate, its coefficient of variation (CV) expressed as a percentage, and to measure the mean amplitude of the spike. For each neuron, an average of the spike shape and following inter-spike interval profile was obtained by averaging successive spontaneous spikes taken either at the resting membrane potential or while the cell was slightly depolarized (for the few neurons that were silent at rest). The spikes (mean number of ~120) were synchronized to their thresholds, taken at the point on the rising phase of the action potential where the slope of the potential trace reached an arbitrary threshold of 10 V/s (Krawitz et al. 2001). The averaged spike shape was used to determine the amplitude of the afterhyperpolarization (AHP) and the width of the spike (taken at threshold). The AHP amplitude was calculated as the membrane potential difference between spike threshold and the membrane potential minimum after the falling phase of the spike.

The cell's firing threshold, i.e., the membrane potential for which the cells begin to fire action potentials (in mV), was assessed as the potential reached by the neuron at the threshold of the first spike triggered by a slow, depolarizing current ramp (see following text and Fig. 2*D*). For each cell, we determined whether long-lasting, subthreshold plateau potentials could be triggered by low-amplitude (0.1–0.2 nA), short-duration (10 ms) current pulses delivered while the neuron was maintained just below its firing threshold (Babalian et al. 1997; Serafin et al. 1991a,b) and measured their mean duration.

Quantitative determination of the neuronal type

In previous publications, MVN neurons have been categorized into type A and B neurons using qualitative criteria. Neurons were characterized as a type A, type B, or type B with low-threshold calcium spikes (B+LTS) MVN neurons according to their action potential profile (Serafin et al. 1991a). Type A neurons were characterized by their single, deep AHP and in general have a wider action potential than type B neurons. They display an A-like rectification when released from hyperpolarization or in response to depolarizing current pulses given from a hyperpolarized level, which is visible as an inflection point delaying the depolarization of the neuron during inter-spike intervals. Type B neurons showed a biphasic, significantly smaller AHP and narrower action potentials. Neurons that displayed intermediate properties, or did not clearly fit into any of these two categories, were grouped as type C MVN neurons.

To assess reliably the long-term effects of UL on this heterogeneous population of cells and remove possible experimenter biases in the classification of MVNn, *quantitative, objective criteria* were developed to characterize the intracellularly recorded neurons. For each neuron, the averaged spike profile obtained during spontaneous firing and its first derivative were used (as already done by Johnston et al. 1994) to assess the presence of the A-like rectification and double AHP, the two main criteria used previously for the qualitative classification.

The presence of an A-like rectification characterizing type A MVNn is always visible as an inflection of the voltage trace (V) within the inter-spike interval (see Fig. 1*A* for the following explanation). This inflection is better seen on the first derivative of the voltage trace (dV/dt) as a sudden decrease of the rate of the depolarization leading to the next spike. The A-like rectification always begins ≥2–3 ms after the end of the spike whatever the spontaneous discharge rate of the cell, and the derivative of the voltage trace remains positive. The strength of the A-like rectification was quantified as the algebraic decrease $\delta(dV/dt)$ in the rate of the inter-spike depolarization (dV/dt in V/s) associated with this phenomenon. In the absence of any A-like rectification, this parameter was set at zero.

The presence of an early fast AHP followed by a delayed slow one, i.e., of the double-component AHP characterizing type B MVNn, was assessed on the averaged spike profile and then confirmed using the first derivative (see Fig. 1*B* for the following explanation). When a double AHP is present, its second component is seen as a transient zeroing or negativity of the rate of depolarization, which always occurs *within 2 ms* of the end of the spike. The strength of each double AHP was quantified as the algebraic decrease $\delta(dV/dt)$ in the rate of the inter-spike depolarization (dV/dt in V/s) associated to the second component of the phenomenon. The strength of the double AHP was set at zero when no double AHP was present.

While most type B MVNn display a clear double-component AHP when spikes are triggered by current steps delivered from a hyperpolarized potential, the double AHP is often not visible on the averaged spontaneous spike profile obtained at rest or during a slight depolarization. A third parameter had to be used to unambiguously characterize type B MVNn recorded at their resting membrane potential, whatever their level of membrane polarization. All type A MVNn display a mostly concave voltage trace during the inter-spike interval following the peak of the AHP, because of the presence of the A-like rectification (Fig. 1*C*). In contrast, the averaged inter-spike profile obtained for B MVNn is always convex because the velocity of the inter-spike depolarization increases with time once the peak of the second component of the double AHP has been reached (Fig. 1*D*). Thus the maximum *convexity* of the average voltage trace obtained during the inter-spike interval was taken as a third parameter. The averaged spike profile obtained for each neuron was used to draw the line (chord) joining the peak of the AHP to the endpoint of the profile (Fig. 1, *C* and *D*). The maximum convexity of the inter-spike trace was then measured as the maximum difference (in mV) observed

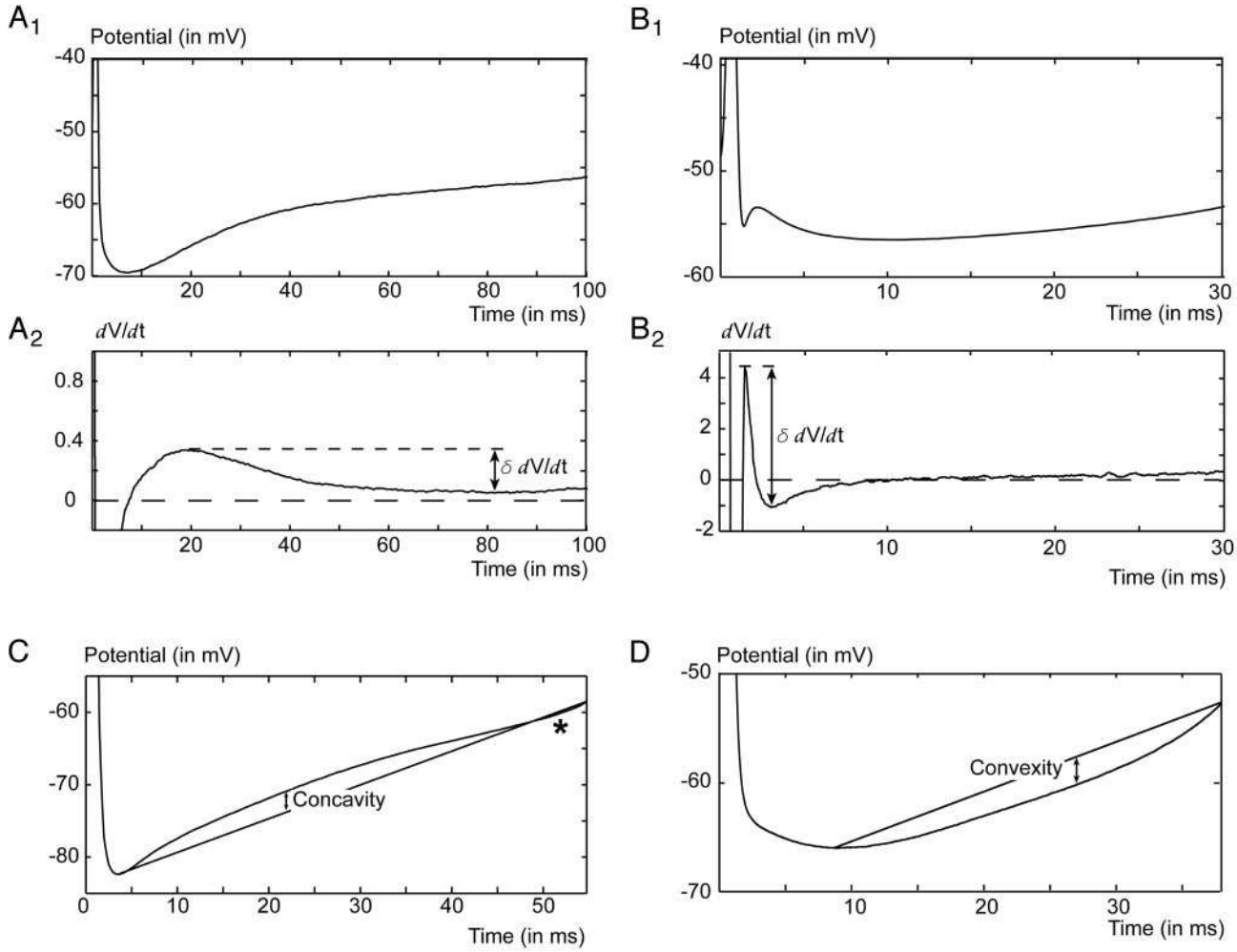


FIG. 1. Quantitative determination of the neuronal type of medial vestibular nucleus neuron (MVNn). *A1*: the averaged spike profile of a control type A MVNn obtained during spontaneous firing. Note the inflection of the voltage trace during the inter-spike interval corresponding to the presence of an A-like rectification. *A2*: the first derivative of the *A1* voltage trace (d*V*/d*t*). Note that following the spike, the derivative of the voltage trace remains always positive. The strength of the A-like rectification was measured as the algebraic decrease δ(d*V*/d*t*) in the rate of the inter-spike depolarization (d*V*/d*t* in V/s) associated with this phenomenon. *B1*: the averaged spike profile of a control type B MVNn obtained during spontaneous firing. Note the presence of an early fast afterhyperpolarization (AHP) followed by a delayed slow one, i.e., of a double-component AHP. *B2*: the first derivative of the *B1* voltage trace (d*V*/d*t*). The 2nd component of the AHP is seen as a transient zeroing or negativity of the rate of depolarization, which always occurs within 2 ms of the end of the spike. The strength of each double AHP was measured as the algebraic decrease δ(d*V*/d*t*) in the rate of the inter-spike depolarization (d*V*/d*t* in V/s) associated to the 2nd component of the double AHP. *C* and *D*: for all neurons, the averaged spike profile was used to draw the line (chord) joining the peak of the AHP to the endpoint of the profile. *C* illustrates the concavity of a control type A MVNn. Note that before the appearance of the next spike, a small convexity appears (*). *D* illustrates the convexity of a type B ipsilesional MVNn that did not display a double AHP. Note that the convexity was the only 1 of these 2 parameters used for the classification of MVNn.

between the voltage trace and the chord in the direction of convexity (i.e., toward hyperpolarizing potentials) during the inter-spike interval. As shown on Fig. 1*C*, typical type A MVNn have null or low convexity values, whereas type B MVNn display high convexity values (Fig. 1*D*).

Altogether, a set of quantitative values describing the strength of the A-like rectification, the strength of the double AHP, and the convexity of the voltage trace during the inter-spike interval was obtained for each of the MVNn recorded in control slices. These values were used to plot a three-dimensional graph of the distribution of the neurons according to these parameters, from which quantitative criteria for classification of MVNn in type A, B, or C neurons were obtained (see RESULTS). The same criteria were then used to categorize the sample of neurons recorded on the ipsilesional side of slices taken from previously labyrinthectomized animals.

After the assessment of its basic membrane and firing properties, each neuron was submitted to the stereotyped stimulation protocol described in the following text. The instantaneous firing rate of the cell (IF in spikes/s) was estimated at any time with a Mathematica script that measured the time intervals between two successive action potentials. The time at the end of each interval between action potentials was used to indicate the time for each IF value.

Assessment of the passive input resistance of MVNn using current steps

The passive input resistance of each neuron was assessed using series of hyperpolarizing current steps of decreasing amplitudes. The cell was maintained by steady-state hyperpolarization at a few millivolts (0–10) below its threshold for discharge, to suppress spikes. The whole cell resistance for each MVNn (input resistance = voltage

deflection/current input) was estimated from the final steady-state value of the hyperpolarizing steps.

Injection of depolarizing ramp-like currents

Increasing ramp currents of 0.3-nA amplitude were applied at five different slopes up to a final steady-state value, as described in detail in Ris et al. (2001b); while the cell was maintained at ~10 mV below its firing threshold (Fig. 2). In other words, for both control and ipsilesional MVNn, the membrane potential at which the ramps were delivered was set relative to the firing threshold of each cell. The five slopes corresponded to times to reach the plateau of current of 5,000 ms (0.06 nA/s), 3,400 ms (0.09 nA/s), 1,800 ms (0.17 nA/s), 600 ms (0.5 nA/s), and 200 ms (1.5 nA/s), respectively. Because the whole stimulus was 5,000 ms long, there was no plateau after the slowest ramp, which was used, as stated in the preceding text, to assess the cell's firing threshold (Fig. 2*D*). We computed for each ramp the rate of increase of the instantaneous firing rate of the cell (k_{IF} in spikes $\cdot$ s^{-1} $\cdot$ nA^{-1}) during the depolarizing, ramp-like portion of the current injection, i.e., over the time taken to reach the plateau of current. This gives an indication of the sensitivity of the cell to current injections. We also measured in each case the difference between the firing rate reached at the end of the depolarizing current injection and the final, stable discharge rate reached at the end of the plateau (overshoot in spikes/s). This parameter gives an indication of the nonlinear, dynamic properties of neurons. To assess how the level

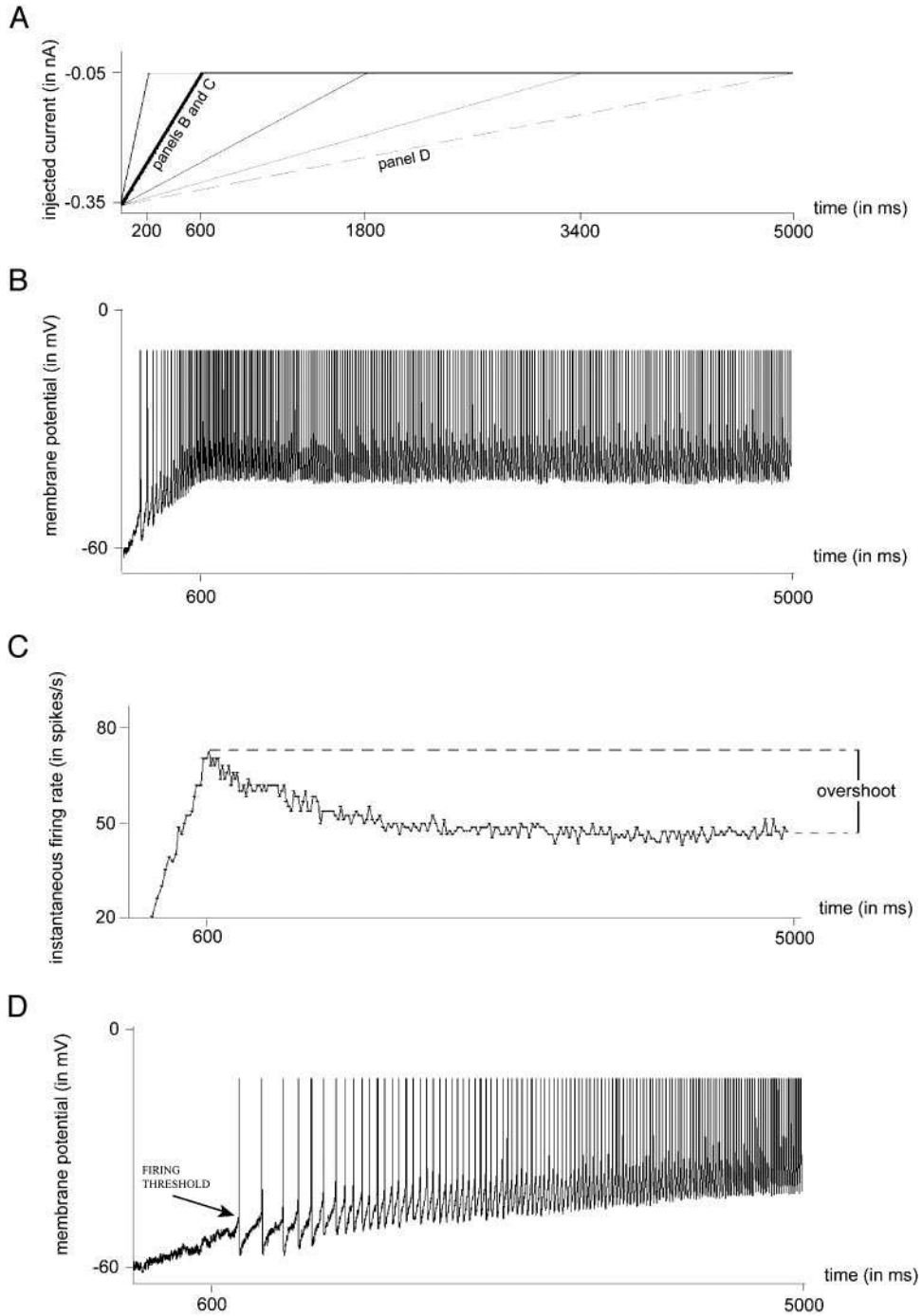


FIG. 2. Measurement of the firing rate response of MVNn to ramp-like currents. *A*: profiles of the increasing ramp currents of 0.3-nA amplitude that were applied at 5 different slopes up to a final steady-state value. The profile of the 600-ms ramp is outlined in bold, the profile of the 5,000-ms ramp is dashed. *B*: example of a response triggered by a 600-ms ramp (outlined in *A*) delivered during steady-state hyperpolarization in a type B MVNn. *C*: plot of the instantaneous firing rate response obtained for the neuron displayed above, showing how the overshoot was measured. *D*: example of a response triggered by the 5,000-ms ramp in a type B MVNn. This ramp was used to measure the firing threshold indicated by the arrow. All spikes are shown digitally clipped at –10 mV.

of polarization of MVNn influenced their responses, the whole sequence of ramp stimulations was repeated while the neuron was at its resting membrane potential.

Injection of sinusoidal currents

A third series of stimuli consisted of current sine waves applied for 5,000 ms at various frequencies ranging from 0.2 to 50 Hz (Du Lac and Lisberger 1995b; see for details Ris et al. 2001b). The amplitude of the stimulus was adjusted at the 0.2-Hz frequency to keep the membrane potential variation ~10 mV peak to peak. Typically, the first series of sinusoidal currents was delivered while the cell was at its resting membrane potential and spontaneously fired action potentials (Fig. 3). For each frequency of stimulation inferior or equal to about one-third of the neuron's resting discharge, the modulation of the instantaneous firing rate of MVNn was fitted with a sine wave that was then used to calculate the amplitude and the phase of the IF modulation (δIF, Fig. 3). Ris et al. (2001b) have shown that in this condition, the IF modulation of MVNn was linear. When the frequency of stimulation passed a third of the neuron's firing rate, the amplitude of the IF modulation of MVNn was calculated in an empirical way as the difference between the minimum and maximum IF reached by the neuron during the stimulation. No phase measurements were obtained in this situation. Using this method, we could evaluate δIF from 0.2 Hz to a maximum stimulus frequency that varied from cell to cell according to its resting discharge and the sensitivity of its discharge to current injection but could reach 50 Hz in some cases. The underlying mean membrane potential excursion (δV) was computed for each stimulus frequency using a Mathematica script, which performed a Fourier analysis of the total membrane potential response. The magnitude of the Fourier component corresponding to the stimulation frequency was taken as the potential response. This procedure was only valid when the components due to the shape and frequency of the action potentials were not overlapping those of the stimulation frequency. This requirement was true for frequencies <1 Hz (Fig. 3). δIF and δI were used to evaluate at 0.4 Hz the cell sensitivity to current injection by dividing δIF by the amplitude of the injected current (δIF/δI in spikes · s^{-1} · nA^{-1}). The sensitivity of the firing rate of the cell to variations of the mean membrane potential δIF/δV was quantified in spikes · s^{-1} · nA^{-1}. We calculated the "active" impedance Z of the cell as the amplitude of the membrane potential change obtained for the 0.4-Hz stimulus divided by the amplitude of the injected current ($\delta V/\delta I$ in MΩ).

When possible, a similar series of sinusoidal stimuli was given while the cell was maintained at a depolarized membrane potential by a steady-state current injection of 0.15–0.25 nA to assess how the level of discharge of MVNn modified their responses.

Some of the cells were also submitted to the same series of sinusoidal current injections while they were maintained at 10–20 mV below their threshold for discharge, so that no spike was evoked by the stimulation. The amplitude of the membrane potential change (δV_h) was computed for each frequency using a Mathematica script, and the response to the 0.4-Hz stimulus was used to evaluate the impedance Z_h of the cell maintained under a steady-state hyperpolarization ($Z_h = \delta V_h/\delta I$ in MΩ).

As reported by Ris et al. (2001b), the amplitude of the modulation of the membrane potential or instantaneous firing rate of MVNn by sinusoidal currents displayed resonant properties. For each MVNn, the response increased with increasing stimulation frequency to reach a maximum at what was defined as the *peak frequency of resonance*. Then the modulation progressively dropped to lower levels. The "amplitude" of the resonance was defined as the ratio between the maximum amplitude of the firing rate modulation at the peak frequency of resonance and the amplitude obtained at the lowest fre-

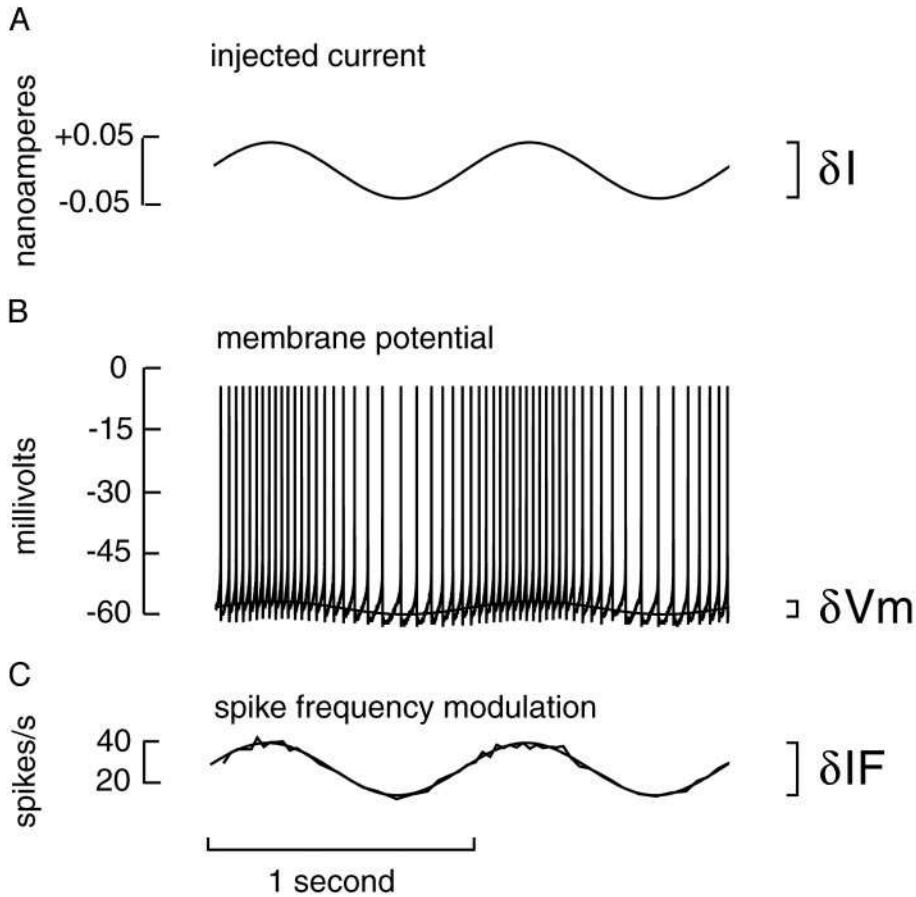


FIG. 3. Measurement of the spike discharge modulation of MVNn induced by sinusoidal currents. *A*: profile of a 1-Hz sinusoidal current injected into the neuron. δI: amplitude of the current modulation. *B*: membrane potential response recorded in response to the sinusoidal current injection. δV_m is the amplitude of modulation of the mean membrane potential underlying the firing rate response. *C*: the instantaneous firing rate modulation (δIF) was calculated and fitted with a sine wave to obtain the magnitude and phase shifts of the firing rate response at different stimulating frequencies. All spikes are shown digitally clipped at –5 mV.

quency we used, namely 0.2 Hz. The amplitude of the resonance was measured in the same way for the membrane potential when the neurons were hyperpolarized to suppress action potentials.

Statistical analysis

Calculations of means SD and further processing of all results were carried out using the Systat 8.0 software (SPSS, Chicago, IL) on a PC-compatible computer. For each parameter, normality of the distributions was assessed using one sample Kolmogorov-Smirnov tests, with significance set at $P \leq 0.05$. Statistical comparisons between numerical values were achieved through either parametric (if the distribution of the parameter was normal for all the samples involved and each sample included ≥15 values) or otherwise nonparametric tests, with the threshold for significance set at $P \leq 0.05$. Type B +LTS neurons were pooled together with the other B neurons for analysis. ANOVA or the nonparametric Kruskal-Wallis ANOVA was first performed to search for significant differences between the mean values obtained for type A and B neurons in control slices and in slices taken from labyrinthectomized animals (which defined 4 categories of neurons). Two-by-two comparisons among the four cell groups were then performed using Student's *t*-test or the nonparametric Mann-Whitney *U* tests. Type C neurons were excluded from the analysis except for comparisons performed using *t*-test or Mann-Whitney *U* tests between the whole sample of neurons obtained on control slices and the whole sample of neurons recorded on slices taken from labyrinthectomized animals. Paired parametric (ANOVA followed by paired *t*-test) or nonparametric tests (Friedman ANOVA followed by Wilcoxon signed-rank tests) were used to compare for each cell type the responses evoked by ramps of different slopes. They were also used to determine how the responses to ramps and sinusoidal currents were modified according to the level of steady-state polarization of the cell (2 levels for the ramps and 3 levels for the sinusoidal currents).

RESULTS

The results presented in this study were obtained from a database of 89 MVNn recorded on slices prepared from normal, intact animals and 78 MVNn recorded on the ipsilesional side of slices taken from animals labyrinthectomized ~1 mo before (compensation times ranged from 23 to 43 days). All mean values are presented with their SD.

Categorization of the MVNn using quantitative criteria

The quantitative criteria used for the classification of MVNn into type A and B neurons were set from the sample of 89 control MVNn, which included 32 MVNn that were recorded by Ris et al. (2001b) and 57 MVNn recorded afterward. Because there was no significant difference between the two sets of result, data from the two samples were pooled together.

We have defined in the methods section the three parameters we viewed as the most pertinent to categorize MVNn into type A and B neurons. They were the presence and strength of an A-like rectification during the inter-spike interval, the presence and strength of a double AHP, and the convexity of the voltage trace during the inter-spike interval. The qualitative classification of MVNn into type A and B MVNn previously used has shown that these two categories of neurons had also significantly different spike widths and AHP amplitudes. Because of that, we checked whether one or both of these parameters could be unambiguously used to categorize MVNn. When considering the whole sample of MVNn, the width of the spike ranged from 0.70 to 2.20 ms around a mean of 1.15 ± 0.23 ms, while the size of the AHP ranged from 6.3 to 29.2 mV around a mean of 16.77 ± 4.50 mV (Table 1). Both distributions were normal, and no sign for the existence of two distinct groups of neurons was obtained when considering only these parameters. Hence, neither the width of the spike nor the size of the AHP could be used to unambiguously categorize control MVNn.

Thirty-four of the 89 control MVNn (38%) displayed no measurable A-like rectification on the average spike profile obtained during spontaneous firing. For the 55 other cells, the

TABLE 1. *Basic membrane and firing properties of control and ipsilesional MVNn*

Parameters	Control MVNn	Ipsilesional MVNn	Control vs. Ipsilesional	Type A		Type B	
				Control	Ipsilesional	Control	Ipsilesional
No. of neurons	89	78		42	42	44	35
VM, mV	−58.7 ± 8.5	−51.4 ± 4.8	***P* < 0.001**	−56.8 ± 7.3	**−51.8 ± 5.5****	−60.8 ± 9.4	**−51.0 ± 3.8*****
FR, spikes/s	26.2 ± 17.2	31.0 ± 17.4	$P = 0.10$	29.1 ± 20.1	29.7 ± 20.3	24.3 ± 13.8	**32.4 ± 14.2***
CV, %	8.26 ± 9.48	5.52 ± 4.99	$P = 0.49$	7.06 ± 9.61	6.88 ± 6.3	9.51 ± 9.59	**4.21 ± 2.84****
AHP, mV	16.8 ± 4.5	18.2 ± 4.6	$P = 0.07$	19.6 ± 3.8	20.4 ± 5.1	14.0 ± 3.4	**16.1 ± 2.6****
Spike amplitude, mV	55.2 ± 7.5	55.6 ± 7.2	$P = 0.73$	54.6 ± 7.4	55.4 ± 7.0	55.1 ± 7.3	55.6 ± 7.7
Firing threshold, mV	−67.9 ± 10.5 (39)	−61.3 ± 7.3 (35)	***P* = 0.003**	−66.9 ± 10.7 (19)	**−59.9 ± 5.4*** (14)	−69.8 ± 10.7 (18)	**−62.2 ± 8.4*** (21)
Spike width, ms	1.15 ± 0.23	1.18 ± 0.25	$P = 0.44$	1.25 ± 0.21	1.25 ± 0.26	1.06 ± 0.22	1.10 ± 0.21
Membrane resistance, MΩ	94.6 ± 45.3 (50)	116.6 ± 46.0 (29)	***P* = 0.018**	93.8 ± 39.9 (26)	**112.5 ± 29.5*** (11)	96.2 ± 54.9 (21)	119.1 ± 54.4 (18)
PNa+, ms	33.5 ± 40.1	32.3 ± 48.3	$P = 0.54$	15.2 ± 32.9	16.0 ± 34.6	56.9 ± 38.5	49.3 ± 55.0
A-like rect. δ(d*V*/d*t*), V/s	0.36 ± 0.51	0.42 ± 0.58	$P = 0.93$	0.72 ± 0.54	0.76 ± 0.60	0.02 ± 0.04	0.02 ± 0.04
Double AHP δ(d*V*/d*t*), V/s	0.38 ± 0.83	0.14 ± 0.40	***P* = 0.017**	0 ± 0	0 ± 0	0.73 ± 1.07	**0.30 ± 0.56***
Convexity, mV	0.80 ± 0.63	0.68 ± 0.67	$P = 0.09$	0.56 ± 0.48	**0.34 ± 0.50****	1.07 ± 0.66	1.10 ± 0.62

Values are means ± SD. *n* values are in parentheses. This table gives the values of the parameters characterizing the membrane and firing properties of all groups of medial vestibular nucleus neurons (MVNn) considered in this study. The third column gives for each parameter the probability of significance of the differences obtained between control and ipsilesional MVNn. * indicate the values that are significantly different between the ipsilesional and control neurons. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. In addition, the values that correspond to significant differences are shown in bold. The numbers of neurons shown at the top of the table apply to all parameters, except the firing threshold and membrane resistance. VM, resting membrane potential, FR, spontaneous firing rate, CV, coefficient of variation of the spontaneous firing rate, PNa^+, duration of the subthreshold plateau potentials; AHP, afterhyperpolarization.

strength of the A-like rectification ranged from 0.04 to 2.56 V/s around a mean of 0.59 ± 0.53 V/s. Double AHP was present during spontaneous firing in 32 of the control MVNn (36%), and its strength ranged from 0.1 to 5.4 V/s around a mean value of 1.06 ± 1.11 V/s. The 57 other MVNn had no double AHP visible during spontaneous discharge. The maximum convexity of the voltage trace during the inter-spike interval, which was added as a pertinent parameter for the reasons described in METHODS, ranged from 0 to 2.50 mV around a mean value of 0.80 ± 0.63 mV ($n = 89$).

These three parameters were used to plot the three-dimensional graph shown on Fig. 4*A*. On this plot, most of the MVNn are clearly distributed along two separate, perpendicular planes, one defined by the presence of a double AHP (double AHP vs. convexity plane), the other one by the presence of an A-like rectification (A-like rectification vs. convexity plane). In other words, the presence of a large A-like rectification and the presence of a double AHP appeared mutually exclusive, with the exception of three MVNn that clearly displayed both (↓ on Fig. 4*A*). This means that these two parameters can be used to define two distinct groups of MVNn as shown on the two-dimensional plot of Fig. 4*B*. On this plot, the neurons that display a double AHP (corresponding to type B MVNn) are aligned along or close to the vertical axis because most of them display no or a small A-like rectification. In contrast, the MVNn that display a large A-like rectification (corresponding to type A MVNn) are aligned along the horizontal axis because most of them (except the 3 cells marked as ■ on Fig. 4*B*) display no double AHP.

While MVNn can clearly be categorized into two groups by this method, there is still a sizeable proportion of MVNn that display "intermediate" properties (see Fig. 4*A*, graph). This is in accordance with the idea that there is a continuum of neurons with intermediate properties between type A and B MVNn, put forward by Du Lac and Lisberger (1995a). The "intermediate" MVNn, which have both no double AHP and no large A-like rectification, are grouped at or near the origin of the two-dimensional graph or are aligned along the "no double AHP – no A-like rectification" axis on the three-dimensional graph. According to the graphs of Fig. 4, the intermediate MVNn do not form a distinct group of neurons; this would correspond to the former type C neurons. There was therefore no objective reason to keep these MVNn as a separate category. Therefore as already suggested by Johnston et al. (1994), MVNn are best categorized by defining only two groups of neurons corresponding to the type A and B MVNn. Because there is a continuum of neurons between these two cell types, the limit between the two groups has to be set somewhat arbitrarily. As shown on Fig. 4*B*, we decided to fixate the threshold of what could be considered as a "large" A-like rectification at 0.15 V/s. Indeed, several MVNn displaying a clear double AHP during spontaneous discharge were also endowed with a small A-like rectification, whose strength was inferior to 0.15 V/s. Furthermore, most of the intermediate MVNn, which had both no double AHP and no or a small A-like rectification, displayed the large convexity typical of type B MVNn (Fig. 4*A*).

Altogether, as shown on Fig. 4*B*, most MVNn were categorized as either type A or B MVNn according to the following criteria (see also Table 1): *1*) the 44 MVNn displaying either no

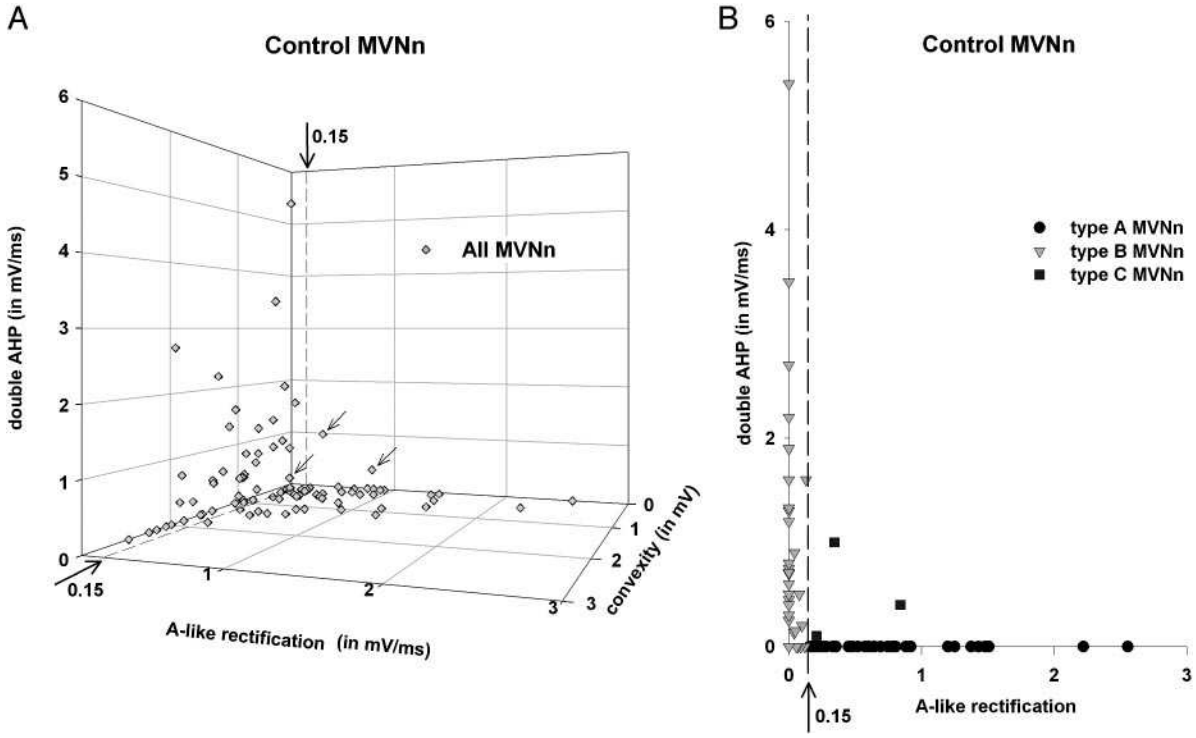


FIG. 4. Classification of the control MVNn. *A*: 3-dimensional plot of control MVNn according to the 3 criteria used for their classification. All neurons are included either in the *xy* plane (A-like rectification vs. convexity plane), or in the *yz* plane (double AHP vs. convexity plane). Only 3 cells were obviously out of these planes, as indicated (↓). Dashed line shows the value of the A-like rectification used to separate type A and B neurons (see text for details). *B*: 2-dimensional plot of control MVNn according to the strength of their A-like rectification and the strength of their double AHP. This plot shows how the neurons were finally categorized, depending on whether the strength of their A-like rectification was lower or higher than 0.15 V/s.

A-like rectification ($n = 32$) or an A-like rectification with an amplitude <0.15 V/s ($n = 12$) were classified as type B MVNn. Twenty-nine of them (66%) had a clear double AHP visible during spontaneous firing (Fig. 5*A*). Altogether, the mean convexity of type B MVNn reached 1.07 ± 0.66 mV, the mean strength of their double AHP was 0.73 ± 1.07 V/s, and the mean strength of their A-like rectification was 0.02 ± 0.04 V/s. *2*) The 42 MVNn displaying an A-like rectification stronger than 0.15 V/s, and no double AHP were classified as type A MVNn. Their mean convexity was 0.56 ± 0.48 mV and was lower than for type B MVNn ($P < 0.001$). The mean strength of the A-like rectification reached 0.72 ± 0.54 V/s. And *3*) the three MVNn that stood out of the two main axes on the two-dimensional graph displayed both a double AHP and an A-like rectification >0.15 V/s. They could not be unambiguously categorized as either type A or type B MVNn and were therefore considered as the only true type C MVNn.

According to this classification scheme, there were 42 type A neurons (47.1%), 44 type B neurons (49.5%) including 4 B+LTS neurons, and 3 type C neurons (3.4%) among the MVNn recorded in control slices.

Altogether, the five main parametric differences that characterize type A versus type B MVNn can be summarized as follows.

First, typical type A MVNn display a strong A-like rectification, a high-amplitude AHP and broad spikes; in contrast, they have low convexity values and no double-component AHP. Even when the analysis is restricted to the 42 type A MVNn defined in the preceding text, there are significant correlations between the AHP amplitude, strength of the A-like rectification, and convexity values. Type A MVNn with the strongest A-like rectification are those that display the smallest convexity values ($r = -0.43$, $P = 0.004$) and the largest AHPs ($r = 0.33$, $P = 0.046$), which results in a significant, negative relationship between the amplitude of the AHP and the convexity ($r = -0.39$, $P = 0.017$). But none of these parameters is significantly correlated with the width of spikes when only the type A MVNn were considered.

Second, typical type B MVNn display no or only a small A-like rectification, a small amplitude AHP and thin spikes; in contrast, they have high convexity values and often display a double component AHP. When the analysis is restricted to the 44 type B MVNn defined in the preceding text, only two significant correlations persist between these five parameters. As for type A MVNn, the strength of the A-like rectification is negatively correlated with the convexity value ($r = -0.52$, $P < 0.001$). Besides, the neurons displaying strong double-component AHPs are those with the thinner spikes ($r = -0.49$, $P = 0.001$). Within type B neurons, there was no correlation between the amplitude of the AHP, the strength of the double AHP and the convexity of the voltage trace during the interspike interval.

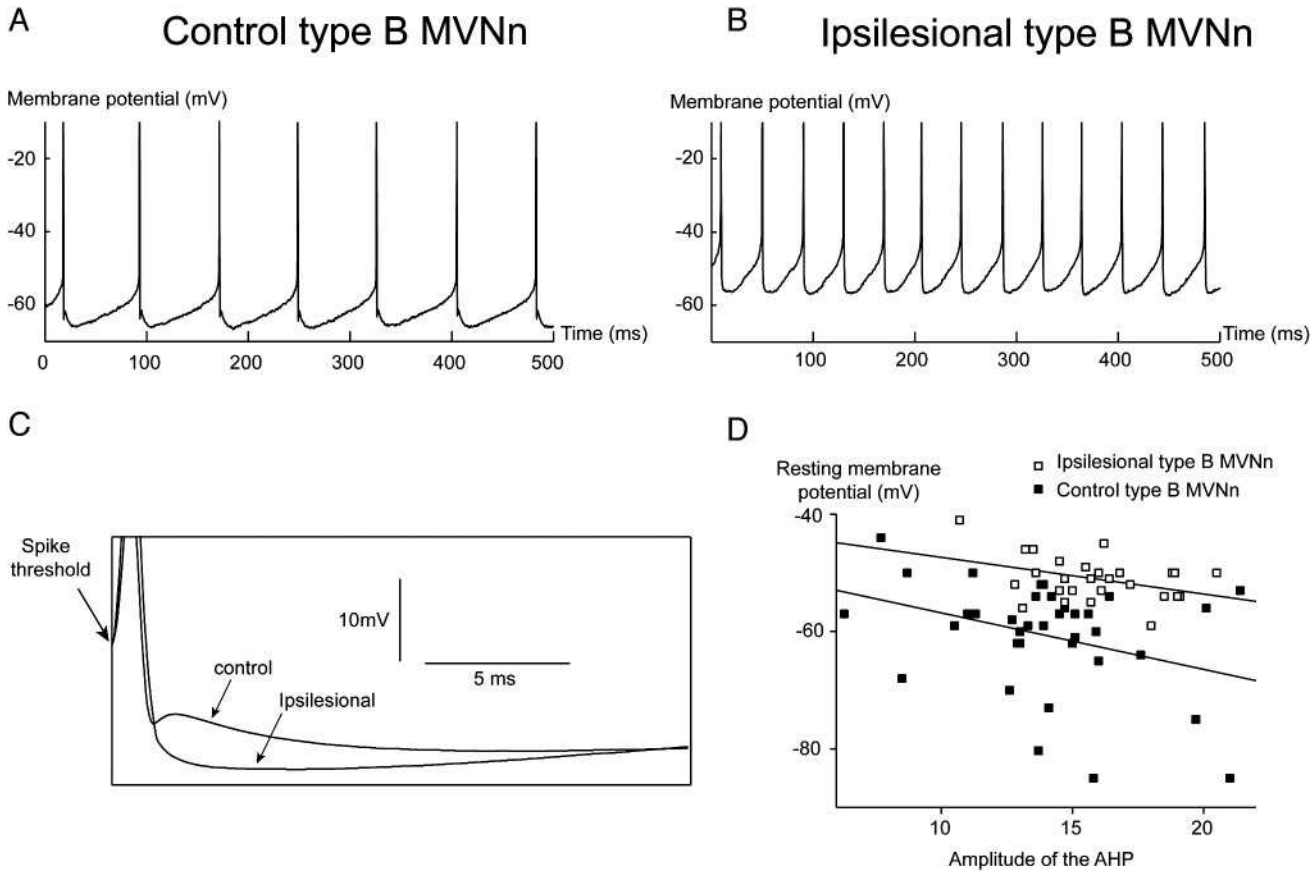


FIG. 5. Changes in the membrane and firing properties of type B MVNn after 1 mo of vestibular compensation. *A*: example of the spontaneous discharge of a control type B neuron. *B*: example of the spontaneous discharge of an ipsilesional type B neuron. *C*: superimposition at spike threshold of the averaged spike profiles obtained from the neurons of *A* and *B*. Note the difference in size and shape of the AHP. *D*: graph showing that for both control and ipsilesional MVNn the amplitude of the AHP tended to decrease, and not increase, when their mean resting potential was more depolarized.

Membrane and response properties of the MVNn recorded in control slices

The control data that confirm what has already been reported (Ris et al. 2001b) will be only briefly summarized. Only new results will be presented in detail.

BASIC MEMBRANE AND FIRING PROPERTIES OF MVNn. As when they were classified using qualitative criteria, the type A neurons displayed a single deep AHP (19.6 ± 3.8 mV) and a wider action potential than type B neurons ($P < 0.001$). The type B neurons had narrower action potentials and were endowed with a significantly smaller AHP (14.0 ± 3.4 mV, $P < 0.001$). Whereas 91% of type B neurons displayed subthreshold plateau potentials (Serafin et al. 1991a), only plateau potentials of much shorter duration ($P = 0.004$) could be triggered in 38% of type A neurons (Table 1). There was no difference between the spontaneous firing rate of type A and B MVNn recorded at their resting membrane potential, but the regularity of the discharge of type A MVNn (assessed by the CV) was significantly greater than for type B MVNn ($P = 0.01$). The membrane resistance of hyperpolarized MVNn was similar for both types of MVNn (Table 1).

RESPONSES TO RAMP-LIKE CURRENTS. Of the five ramps applied to each cell, the 600-ms (slope of 0.5 nA/s) and 200-ms ramps (slope of 1.5 nA/s) gave the most significant results and were taken as the main indices of the response of MVNn to ramp-like currents (Figs. 6 and 7). As described by Ris et al. (2001b), type B MVNn were more responsive to ramps than type A MVNn. The mean overshoot (see METHODS) was larger for type B than for type A MVNn for both the 600-ms (5.1 ± 4.7 vs. 1.8 ± 2.1 spikes/s, $P = 0.036$) and 200-ms ramps (8.4 ± 5.3 vs. 2.4 ± 2.2 spikes/s, $P = 0.002$) delivered from the resting membrane potential. When ramps were delivered from a hyperpolarized level (Fig. 6, *A* and *B*), this difference persisted for the 200-ms ramp (13. 3 ± 9.1 vs. 6.8 ± 5.6 spikes/s, $P = 0.006$) but appeared only as a trend for the 600-ms one (5.8 ± 4.5 vs. 3.5 ± 3.1 spikes/s, $P = 0.08$). In contrast, the rate of increase of the instantaneous firing rate k_{IF} over the ramp-like portion of the current injection (see METHODS) was not significantly different between type A and B MVNn for any of the

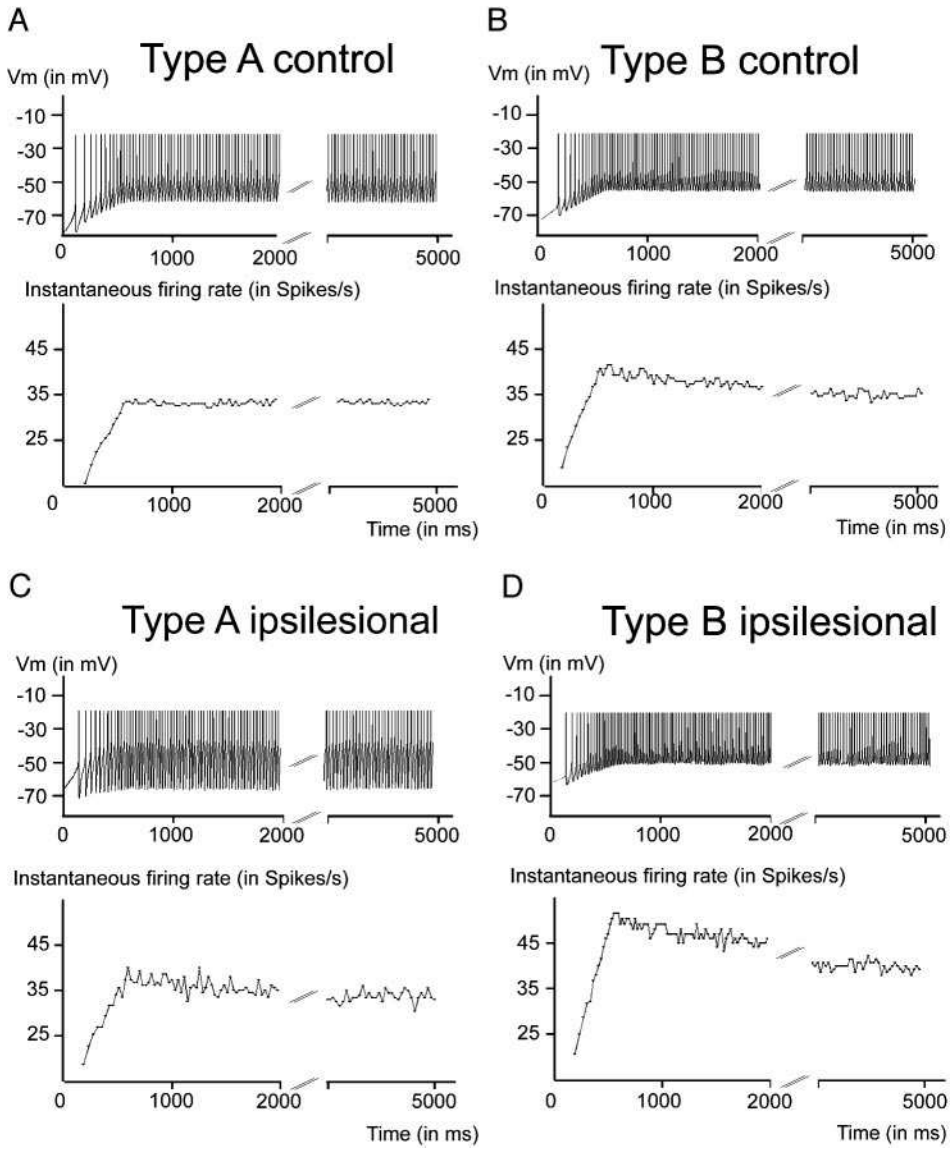


FIG. 6. Examples of responses of MVNn to 600-ms-duration ramp-like currents before and after long-term deafferentation. *A*: typical response of a control type A MVNn. Note the absence of overshoot. *B*: typical response of a control type B MVNn. Note the clear overshoot, which contrasts with what was obtained for the type A MVNn. *C*: typical response displayed by a type A MVNn recorded on the ipsilesional side of a slice taken from a compensated animal. Note the presence of an overshoot. *D*: typical response displayed by a type B MVNn recorded on the ipsilesional side of a slice taken from a compensated animal. Note the increased overshoot compared with the control type B MVNn.

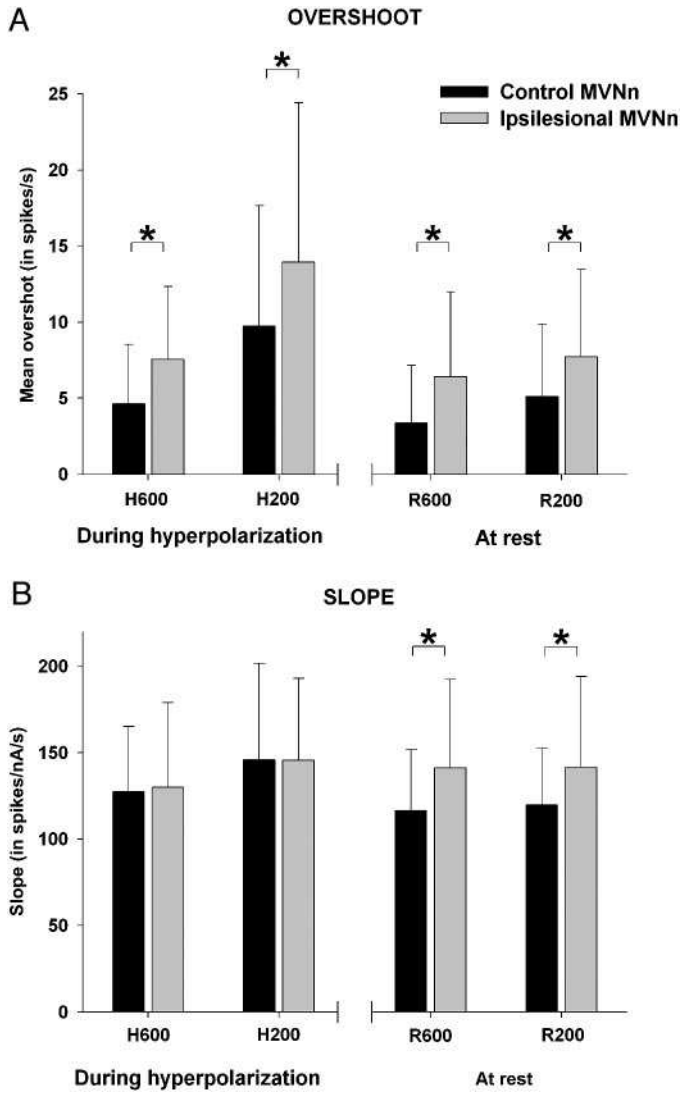


FIG. 7. Responses of MVNn to injection of ramp-like currents. *A*: mean overshoots obtained for control MVNn and ipsilesional MVNn in response to 600- and 200-ms ramps delivered during steady-state hyperpolarization (H600 and H200) or at the resting membrane potential (R600 and R200). *, significant differences between control and ipsilesional MVNn ($P < 0.05$). *B*: mean rates of increase k_{IF} (slope) of the instantaneous firing rate vs. current obtained for control MVNn and ipsilesional MVNn in response to 600- and 200-ms ramps delivered during steady-state hyperpolarization (H600 and H200) or at the resting membrane potential (R600 and R200). *, significant differences between control and ipsilesional MVNn ($P < 0.05$).

ramps we tested. The respective k_{IF} obtained for the 600- and 200-ms ramps delivered from the resting membrane potential were 123.2 ± 38.0 and 126.2 ± 32.9 spikes · s^{-1} · nA^{-1} for type B MVNn versus 112.2 ± 33.8 and 115.3 ± 34.5 spikes · s^{-1} · nA^{-1} for type A MVNn ($P > 0.05$ in both cases).

Within each cell type, there was no relationship between the overshoot and the sensitivity of MVNn to current injection given by k_{IF} for the 600-ms ramps. A significant positive relationship appeared between the overshoot and the rate of increase of the firing rate k_{IF} only when all MVNn were pooled together. The coefficients of correlation reached 0.33 ($P = 0.048$) for the 600-ms ramps delivered from a hyperpolarized level and 0.51 ($P = 0.012$) for those delivered from rest.

Whatever the level of polarization of the cells, the mean k_{IF} and overshoot of both types of neurons significantly increased when the slope of the ramps went from 0.06 to 1.5 nA/s. Compared with the ramps delivered from a hyperpolarized level, the mean overshoots and k_{IF} of the ramps delivered from the resting membrane potential tended to be smaller for all slopes.

MEMBRANE POTENTIAL RESPONSES TO SINUSOIDAL CURRENTS DELIVERED DURING STEADY-STATE HYPERPOLARIZATION IN THE ABSENCE OF ACTION POTENTIALS. Both types of MVNn recorded on control slices responded to sinusoidal current injections in a similar way. The membrane potential modulation δV_h displayed a sizeable resonance at a median peak frequency of 1 Hz for type A MVNn and 0.7 Hz for type B MVNn (Table 2, Fig. 8*A1*). In accordance with this slight resonance, the membrane potential response of both types of MVNn displayed a small phase lead re the injected current at the lowest frequencies of stimulation, which decreased to zero and became a phase lag at higher frequencies (Fig. 8*A2*). These results demonstrate that the membrane does not behave in a purely passive way at these moderately hyperpolarized levels.

RESPONSES TO SINUSOIDAL CURRENTS DELIVERED AT THE RESTING MEMBRANE POTENTIAL. In terms of instantaneous firing rate, type B MVNn were more sensitive to sinusoidal current injection at low frequency than type A MVNn (Fig. 9, *A1* and *B1*). The greater sensitivity of type B MVNn was associated with a trend for the sensitivity of their discharge to membrane potential variations ($\delta IF/\delta V$) to be higher than for type A MVNn ($P = 0.10$ at 0.4 Hz, Table 3). Interestingly, there was a strong trend for the type A MVNn to have a higher frequency of resonance than type B MVNn. Indeed, the peak of the resonance was reached at a median frequency of 8 Hz for type A MVNn versus 4 Hz for type B MVNn ($P = 0.069$, Fig. 9, *A1* and *B1*). No significant difference was found between the active impedance of type A and B MVNn (Table 3), which suggests that the difference between type A and B MVNn obtained by Ris et al. (2001b) on a smaller sample of neurons might have been linked to a sampling bias.

The active impedance Z ($\delta V/\delta I$) at 0.4 Hz of MVNn recorded in control slices was for both cell types much lower than the impedance Z_h obtained in the absence of action potentials ($P < 0.001$ when pooling all MVNn together, using the paired Wilcoxon signed-rank test). The relative amplitude of the resonance of the firing rate modulation (Fig. 8*B1*) was not significantly different from the relative amplitude of the resonance of the membrane potential modulation induced by sinusoidal currents in the absence of action potentials (during hyperpolarization) because of the large dispersion of the values. However, the peak frequency of the resonance (Fig. 8*B1*) was strongly increased compared with what was observed in the absence of spikes ($P = 0.004$ when pooling all MVNn together, Table 3).

Consistent with the increased peak frequency of the resonance, both type A and B MVNn displayed a slightly greater phase lead at low frequency compared with the phase values obtained during steady-state hyperpolarization (Fig. 8, *A2* and *B2*). On the other hand, the phase lag obtained at high frequency was greater than the one displayed by the potential modulation during steady-state hyperpolarization.

RESPONSES TO SINUSOIDAL CURRENTS DELIVERED DURING STEADY-STATE DEPOLARIZATION. The difference between the sensitivity of type A and B MVNn observed at rest disappeared when the neurons were maintained under a steady-state depolarization

TABLE 2. *Membrane potential responses of MVNn to sinusoidal currents delivered during steady-state hyperpolarization in the absence of action potentials*

Parameters	Control MVNn	Ipsilesional MVNn	Control vs. Ipsilesional	Type A		Type B	
				Control	Ipsilesional	Control	Ipsilesional
No. of neurons	24	21		13	6	10	15
Z_h, MΩ	131.2 ± 58.7	115.4 ± 45.0	$P = 0.32$	127.9 ± 49.6	129.6 ± 41.4	140.7 ± 71.5	109.7 ± 46.4
Amplitude of resonance	1.18 ± 0.12	1.24 ± 0.17	$P = 0.15$	1.19 ± 0.11	1.19 ± 0.13	1.17 ± 0.15	1.26 ± 0.18
Median peak *f* of resonance, Hz	1	2	**$P = 0.006$**	1	1.3	0.7	**2***

Values are means ± SD. This table gives the values of the parameters characterizing the responses of MVNn to sinusoidal currents delivered during steady-state hyperpolarization for all groups of MVNn considered in this study. The third column gives for each parameter the probability of significance of the differences obtained between control and ipsilesional MVNn. * indicate the values that are significantly different between the ipsilesional and control neurons. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. In addition, the values that correspond to significant differences are shown in bold.

($P = 0.62$ at 0.4 Hz). The peak of the resonance was reached at a median frequency of 12 Hz for type A versus 8 Hz for type B MVNn (Fig. 9, *A2* and *B2*), but the statistical trend for type A MVNn to have a higher frequency of resonance disappeared ($P = 0.29$) because of the large dispersion of the values (Table 3).

Compared with the values obtained at rest, the active impedance of type A and B MVNn maintained under steady-state depolarization was lower. The mean *Z* value at 0.4 Hz was 47.9 ± 36.4 MΩ versus 58.5 ± 33.9 for currents delivered at rest ($P = 0.001$ pooling all MVNn together, Wilcoxon signed-rank test). In accordance with this decrease, the sensitivity of the instantaneous firing rate of both types of MVNn to sinusoidal current injection decreased with depolarization (Table 3, Fig. 8*C1*). This decrease was significant when considering the

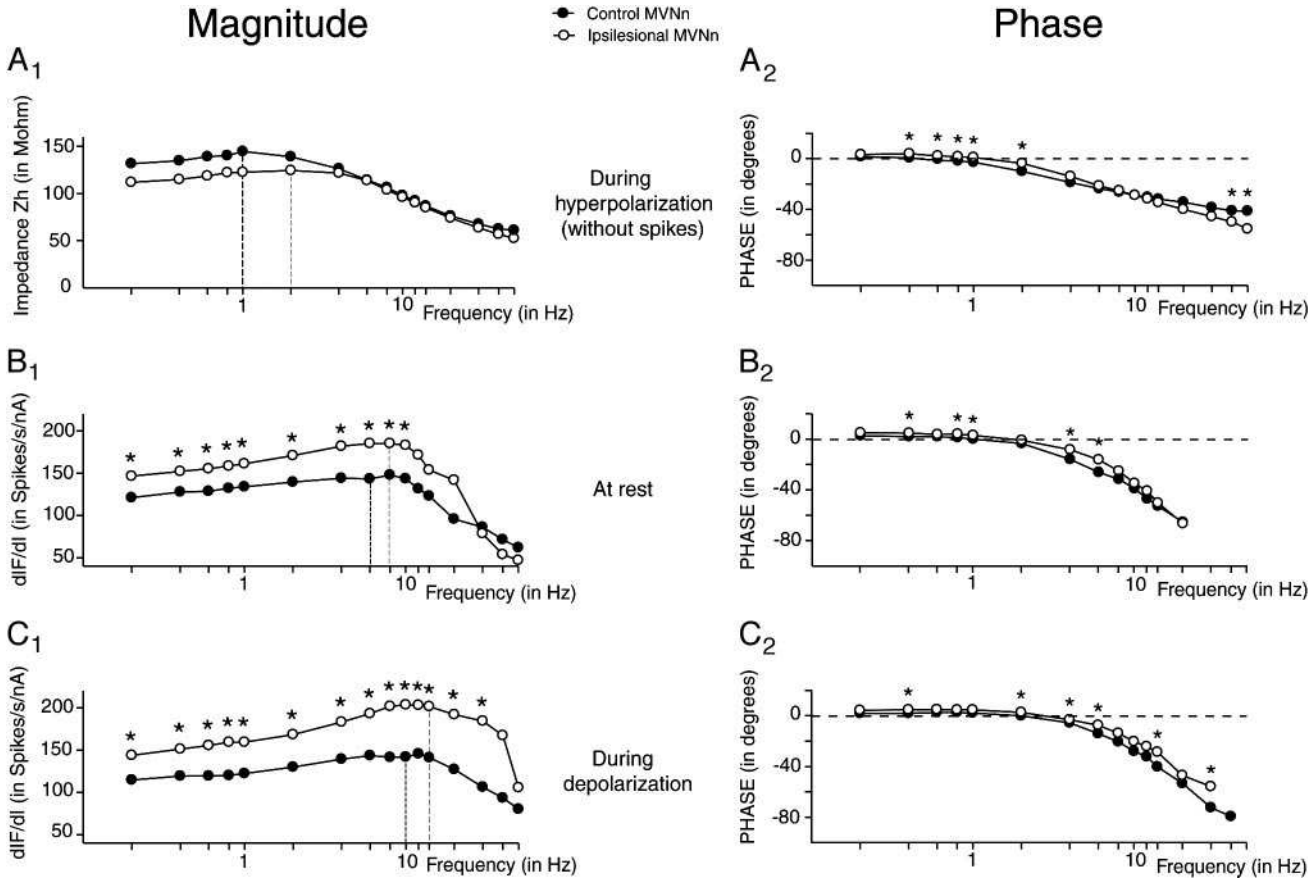


FIG. 8. Summary of the mean magnitude and phase of the membrane potential or firing rate modulations induced in MVNn by sinusoidal current injections. *A*: mean magnitude (*A1*) and phase (*A2*) of the membrane potential modulation displayed by control and ipsilesional MVNn recorded under steady-state hyperpolarization (in the absence of action potentials) as a function of the stimulation frequency. Because the amplitude of the injected current was constant for any given neuron, the membrane potential modulation is given as the impedance Z_h of the cell ($\delta V_h/\delta I$) as a function of frequency. *B*: mean magnitude (*B1*) and phase (*B2*) of the firing rate modulation ($\delta IF/\delta I$) displayed by control and ipsilesional MVNn recorded at their resting membrane potential as a function of the stimulation frequency of the sinusoidal current injection. *C*: mean magnitude (*C1*) and phase (*C2*) of the firing rate modulation ($\delta IF/\delta I$) displayed by control and ipsilesional MVNn recorded during steady-state depolarization as a function of the stimulation frequency. In all cases, SDs have been omitted for sake of clarity. *, the values obtained on ipsilesional MVNn that were significantly different from those obtained in control neurons ($P < 0.05$).

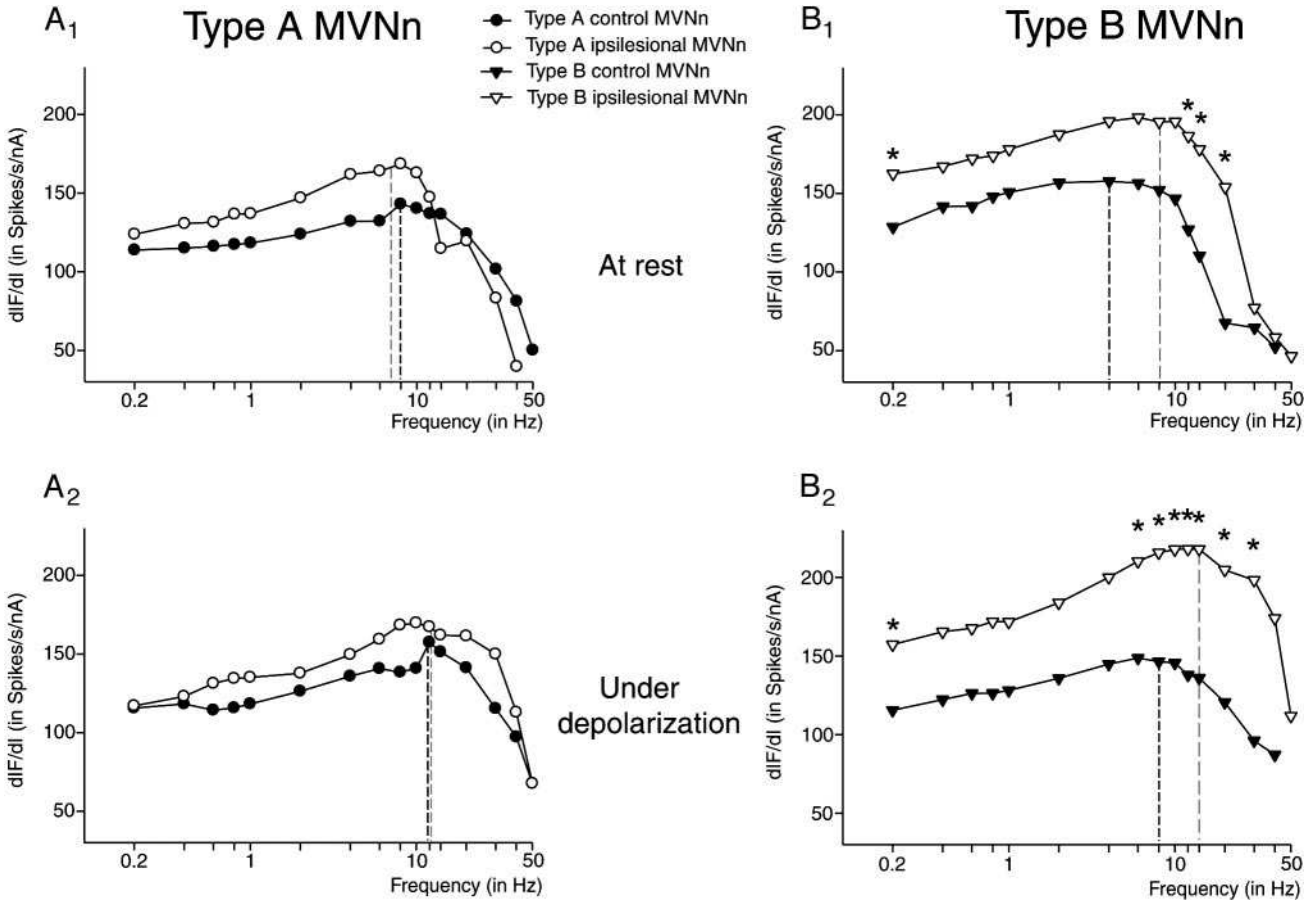


FIG. 9. Summary of the mean amplitude of firing rate modulation induced in type A and B MVNn by sinusoidal current injections. *A*: mean amplitude of the firing rate modulation ($\delta IF/\delta I$) displayed by control and ipsilesional type A MVNn as a function of the stimulation frequency, at rest (*A1*) and during steady-state depolarization (*A2*). The dotted vertical lines indicate the median peak frequency of resonance obtained for each group of neurons. *B*: mean amplitude of the firing rate modulation ($\delta IF/\delta I$) displayed by control and ipsilesional type B MVNn as a function of the stimulation frequency, at rest (*B1*) and during steady-state depolarization (*B2*). The dotted vertical lines indicate the median peak frequency of resonance obtained for each group of neurons. Note the increase of the median peak frequency of resonance of ipsilesional type B MVNn. In all cases, SDs have been omitted for sake of clarity. *, indicate the values obtained on ipsilesional MVNn that were significantly different from those obtained in control neurons ($P < 0.05$).

23 MVNn that were submitted to sinusoidal currents both at rest and during depolarization ($P = 0.001$ at 0.4 Hz, Wilcoxon signed-rank test).

The amplitude of the resonance increased compared with rest for type A MVNn (Fig. 9*A*, $P = 0.047$) but was not modified for type B MVNn (Table 3). The peak frequency of the resonance was increased compared with rest for both cell types. Indeed, the median peak frequency of modulation of the firing rate reached 12 versus 8 Hz at rest for type A MVNn ($P = 0.005$) and 8 versus 4 Hz at rest for type A MVNn ($P = 0.005$, Fig. 9). In accordance with this increase of the peak frequency of resonance, the mean phase function of the depolarized MVNn was shifted by a few degrees toward smaller phase lags at intermediate and high frequencies compared with rest (Fig. 8, *B2* and *C2*).

Membrane and response properties of MVNn recorded in slices taken from guinea pigs 1 mo after UL

CLASSIFICATION OF THE MVNN RECORDED IN SLICES TAKEN FROM LABYRINTHECTOMIZED GUINEA PIGS. The 78 MVNn recorded on the ipsilesional side of slices taken from lesioned animals were characterized as type A, B, or C neurons according to the quantitative criteria developed in control slices. The graph showing the distribution of ipsilesional MVNn obtained when using the three parameters used for the classification is shown on Fig. 10.

First, 35 of the 78 ipsilesional MVNn displayed either no A-like rectification ($n = 26$) or an A-like rectification <0.15 V/s ($n = 9$) and were classified as type B MVNn. Only 16 of them (46%), instead of 66% in control slices, had a clear double AHP during spontaneous firing, which ranged from 0.05 to 2.20 V/s around a mean of 0.64 ± 0.68 volts/s (see Fig. 5, *A* and *B*). Altogether, the mean strength of the double AHP of the type B MVNn recorded on the deafferented side was 0.30 ± 0.56 V/s and was significantly decreased compared with the type B MVNn recorded on control slices ($P = 0.013$). In contrast, long-term deafferentation did not modify the convexity, or strength of the small A-like rectification, displayed by type B MVNn (Table 1).

Second, the 42 MVNn displaying an A-like rectification >0.15 V/s and no double AHP were classified as type A MVNn. Their mean convexity was 0.34 ± 0.50 mV and was

TABLE 3. *Responses to sinusoidal currents delivered in the presence of action potentials*

Parameters	Control MVNn	Ipsilesional MVNn	Control vs. Ipsilesional	Type A		Type B	
				Control	Ipsilesional	Control	Ipsilesional
No. of neurons	48	30		23	13	23	17
Z_{rest}, MΩ	58.5 ± 33.9	51.6 ± 26.4	$P = 0.35$	57.5 ± 20.9	50.3 ± 22.8	62.4 ± 43.6	52.7 ± 29.6
$\delta IF/\delta I$ rest, spikes · s^{-1} · nA^{-1}	130.5 ± 48.1	151.8 ± 53.6	**$P = 0.049$**	116.2 ± 43.8	128.5 ± 41.9	145.1 ± 50.7	169.6 ± 55.8
$\delta IF/\delta V$ rest, spikes · s^{-1} · nA^{-1}	3.08 ± 2.05	3.65 ± 2.40	$P = 0.30$	2.48 ± 1.35	3.08 ± 1.73	3.34 ± 1.82	4.09 ± 2.78
Amplitude of resonance at rest	1.31 ± 0.23	1.35 ± 0.26	$P = 0.51$	1.28 ± 0.22	1.39 ± 0.33	1.35 ± 0.24	1.32 ± 0.21
Median peak *f* of resonance, Hz	6	8	$P = 0.07$	8	7	4	**8***
No. of neurons	24	18		11	6	12	12
Z_{depo}, MΩ	47.9 ± 36.4	47.6 ± 27.4	$P = 0.97$	46.8 ± 39.0	34.6 ± 25.9	49.7 ± 37.1	54.0 ± 26.8
$\delta IF/\delta I$ depo, spikes · s^{-1} · nA^{-1}	119.0 ± 38.1	151.1 ± 58.0	**$P = 0.036$**	113.2 ± 34.2	124.3 ± 45.2	125.8 ± 43.2	164.6 ± 60.7
$\delta IF/\delta V$ depo, spikes · s^{-1} · nA^{-1}	3.96 ± 2.65	5.11 ± 5.49	$P = 0.38$	4.44 ± 3.41	6.79 ± 7.85	3.64 ± 1.89	4.26 ± 4.04
Amplitude of resonance at depo	1.38 ± 0.15	1.52 ± 0.37	$P = 0.10$	1.42 ± 0.18	1.52 ± 0.52	1.35 ± 0.11	1.52 ± 0.29
Median peak *f* of resonance, Hz	10	14	$P = 0.057$	12	12	8	14

Values are means ± SD. This table gives the values of the parameters characterizing the responses of MVNn to sinusoidal currents delivered in the presence of action potentials for all groups of MVNn considered in this study. The third column gives for each parameter the probability of significance of the differences obtained between control and ipsilesional MVNn. * indicate the values that are significantly different between the ipsilesional and control neurons. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. In addition, the values that correspond to significant differences are shown in bold.

significantly reduced compared with control slices ($P = 0.004$). The mean strength of the A-like rectification of ipsilesional type A MVNn was not significantly modified compared with control slices (Table 1).

Third, only 1 of the 78 ipsilesional MVNn (1.3%) displayed both a double AHP and an A-like rectification >0.15 V/s, and was therefore categorized as a type C MVNn.

The proportion of the different types of neurons found in the MVN was slightly modified compared with control slices, but this difference was not significant (compare Figs. 4 and 10). The proportion of type A neurons increased to 53.8% instead of 47.1% in intact animals, whereas the proportion of type B neurons decreased from 49.5 to 44.9%. Among the type B cells, the proportion of B+LTS MVNn tended to increase (6 of 35, i.e., 17 instead of 9%). As in control slices, the spikes of type A MVN were significantly wider than those of B neurons ($P < 0.001$), and the AHP of type A neurons significantly higher ($P < 0.001$).

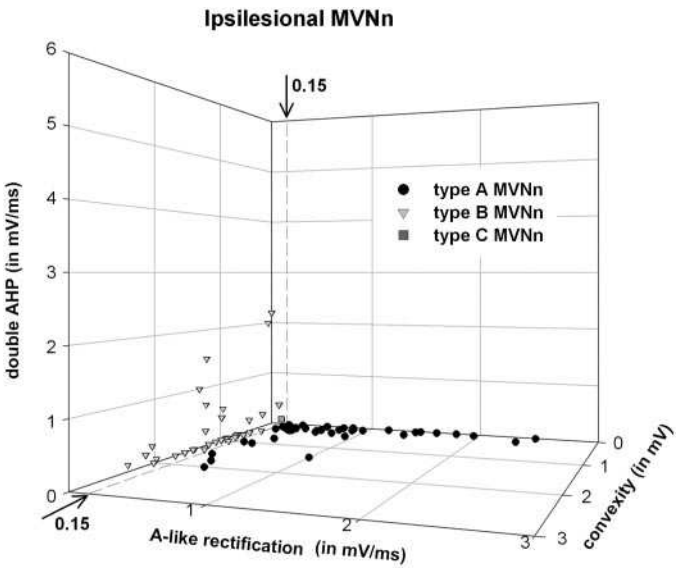


FIG. 10. Classification of the ipsilesional MVNn. Three-dimensional plot of ipsilesional MVNn according to the 3 criteria used for the classification of MVNn. As was the case for control MVNn, most neurons are included either in the *xy* plane (A-like rectification vs. convexity plane), or in the *yz* plane (double AHP vs. convexity plane). The dotted line shows the value of the A-like rectification used to separate type A and B neurons (see text for details). Note that the ipsilesional MVNn form a more homogenous population than control MVNn (Fig. 4) and that the strength of the double AHP of type B MVN is strongly reduced 1 mo after unilateral labyrinthectomy.

BASIC MEMBRANE AND FIRING PROPERTIES OF MVNn. Compared with the neurons recorded in control slices, the mean resting membrane potential of all types of ipsilesional MVNn was increased by 5 to 10 mV (Fig. 5*B*, Table 1). The mean potential of type A neurons shifted from –56.8 ± 7.3 to –51.8 ± 5.5 mV ($P = 0.002$), whereas the mean potential of type B neurons increased from –60.8 ± 9.4 to –51.0 ± 3.8 mV ($P < 0.001$). This depolarization of the mean resting membrane potential was accompanied by a similar increase in the firing threshold of the cells (Table 1). The other main change compared with control neurons was a significant increase of the amplitude of the AHP displayed by type B neurons, which reached a mean value of 16.1 ± 2.6 versus 14.0 ± 3.4 mV ($P = 0.007$, Fig. 5*C*). As already mentioned in the preceding text, this was concomitant to a decrease in the proportion of type B neurons displaying a double AHP (Fig. 5*B*). The increase in the amplitude of the AHP was associated with a significant increase of the regularity of the spontaneous discharge of type B MVNn assessed by their CV ($P = 0.008$, Table 1). As a consequence, the difference in the regularity of the spontaneous discharge observed between type A and B MVNn in control slices disappeared.

The increase in the amplitude of the AHP of the ipsilesional type B MVNn *was not* a consequence of the depolarization of their mean resting membrane potential or of the increase of their spontaneous discharge rate. Indeed, for control as well as ipsilesional B MVNn, the AHP was significantly *smaller* when the neurons had more depolarized resting potentials and higher spontaneous firing rates. In other words, there was a negative correlation between the amplitude of the AHP and the level of depolarization of type B MVNn (Fig. 5*D*). Furthermore, the amplitude of the AHP of ipsilesional type A neurons following the deafferentation was not significantly modified ($P = 0.46$, Table 1), despite the fact they were also depolarized.

Surprisingly, there was only a trend for the spontaneous

firing rate of the whole sample of ipsilesional MVNn taken at their resting membrane potential to increase compared with control slices (Table 1, $P = 0.10$). The discharge rate of type B MVNn increased by ~30% ($P = 0.015$), but there was no significant modification of the firing rate of type A MVNn. Neither the proportion of type A (33%) and type B MVNn (79%) exhibiting subthreshold plateau potentials nor the duration of these plateau potentials was different from control (Table 1).

Because of the general depolarization and increase of firing threshold of the ipsilesional MVNn, current steps were generally delivered at less negative membrane potentials than in control slices. Indeed, the level of steady-state hyperpolarization used was set relative to the firing threshold of each cell. Despite this, the deafferented type A MVNn displayed a higher than normal input resistance (R_m) value ($P = 0.046$). The same trend was visible for type B neurons (Table 1), so that the membrane resistance of the MVNn recorded on the deafferented side increased by 23% compared with the MVNn recorded on control slices ($P = 0.018$, Table 1).

Responses to ramp-like currents

The main effect of previous deafferentation on the response of MVNn to 600- and 200-ms ramps was a strong increase of the overshoot displayed by both types of neurons (Figs. 6 and 7*A*). For the ramps delivered from a hyperpolarized level, the mean overshoot of MVNn was almost multiplied by two for the 600-ms ramps ($P = 0.007$) and increased by 43% for the 200-ms ramps ($P = 0.037$, Fig. 7*A*). The overshoot of type B MVNn stayed significantly bigger than the one of type A MVNn ($P = 0.03$ for the 200-ms ramps). Similar results were obtained for the overshoot of the ramps delivered from rest except that the significant difference between type A and B MVNn observed in control slices did not persist following long-term deafferentation. Indeed, the increase of the overshoot was almost restricted to type A MVNn.

For the ramps delivered from a hyperpolarized level, there was no significant variation of the rate of increase of the firing rate of MVNn during the ramps (k_{IF}) after long-term deafferentation for either type A or B MVNn (Figs. 6 and 7*B*). However, a significant increase of k_{IF} was observed for the ramps delivered from the resting membrane potential, while MVNn were generally spontaneously active. When considering the whole sample of MVNn, k_{IF} was increased by ~20% for both the 600- and 200-ms ramps ($P = 0.05$ in both cases, Fig. 7*B*). This increase tended to be stronger for type B than for type A MVNn.

As stated in METHODS, ramps applied from a hyperpolarized level were always delivered while the cell was maintained at ~10 mV below its firing threshold (Fig. 2). This means that the ramps were delivered on the ipsilesional MVNn at a more depolarized level than on control cells. However, the increases of the overshoot and k_{IF} displayed by ipsilesional MVNn were not linked to the fact that their mean resting membrane potential was depolarized compared with control slices. Indeed, as stated above, the overshoot and k_{IF} of control MVNn always tended to *decrease* when the ramps were delivered from rest compared with more hyperpolarized levels.

Whatever the level of polarization of the cells, the rate of increase and overshoot of the firing rate of MVNn followed the same trends according to the slope of the ramp as for the neurons recorded in control slices (Fig. 7).

MEMBRANE POTENTIAL RESPONSES TO SINUSOIDAL CURRENTS DELIVERED DURING STEADY-STATE HYPERPOLARIZATION IN THE ABSENCE OF ACTION POTENTIALS. After UL, the impedance of the deafferented MVNn tended to decrease for both cell types, but this decrease did not reach significance (Table 2). The Bode plot relating the amplitude of the response to the stimulation frequency was rather similar to the one obtained in control slices (Fig. 8*A1*). However, the peak frequency of resonance was significantly increased ($P = 0.015$) with a median value of 2 versus 1 Hz when considering all MVNn together (Table 2). The amplitude of the resonance of the deafferented MVNn was not modified.

In accordance with this higher peak frequency of resonance, the phase lead displayed by both types of ipsilesional MVNn (Fig. 8*A2*) became greater at low frequency (0.4–4 Hz) and thus reached zero for a higher frequency of stimulation (median of 1 instead of 0.4 Hz, $P = 0.023$). The phase lag observed at high-frequency (>30 Hz) was significantly greater for the deafferented MVNn than for the neurons recorded in control slices.

RESPONSES TO SINUSOIDAL CURRENTS DELIVERED IN THE PRESENCE OF ACTION POTENTIALS. Whether the sinusoidal currents were delivered at rest or during steady-state depolarization, the responses of MVNn recorded on the ipsilesional side of slices taken from compensated animals were modified in the same way compared with control MVNn. Results obtained in these two situations are therefore presented together.

After UL, the active impedance *Z* of the ipsilesional MVNn was not modified, whether the sinusoidal currents were delivered at rest (Table 3) or during depolarization. Despite the lack of impedance modification, the sensitivity of the discharge of both types of MVNn to current injection ($\delta IF/\delta I$) tended to increased (Table 3). When all MVNn were pooled together, the sensitivity of the neurons was significantly increased at most frequencies ranging from 0.2 to 12 Hz at rest and from 0.2 to 40 Hz during steady-state depolarization (Fig. 8, *B1* and *C1*). For instance, the $\delta IF/\delta I$ at 0.4 Hz of the deafferented MVNn increased by 16% compared with normal controls at the resting membrane potential ($P = 0.049$, Table 3) and by 27% during steady-state depolarization ($P = 0.036$). The sensitivity of the discharge to membrane potential variations, measured at 0.4 Hz ($\delta IF/\delta V$), tended to increase after deafferentation, but this change did not reach significance because of the large dispersion of the values.

When type A and B MVNn were considered separately, there was a stronger increase of the sensitivity of the discharge to current injections ($\delta IF/\delta I$) for type B MVNn than type A MVNn. Indeed, the sensitivity of the ipsilesional type A MVNn did not increase significantly compared with the type A MVNn recorded in control slices. In contrast, the sensitivity of the ipsilesional type B MVNn was significantly increased at all frequencies ranging from 12 to 20 Hz when the sinusoidal currents were delivered at the resting membrane potential, and from 6 to 30 Hz during steady-state depolarization (Fig. 9).

Whatever the level of polarization of the cells, the mean amplitude of the resonance of MVNn was not significantly modified by the lesion (Table 3). However, the median peak frequency of the resonance of the deafferented MVNn tended

to increase (Table 3, Fig. 8, *B1* and *C1*) both at the resting membrane potential (from 6 to 8 Hz, $P = 0.073$) and during steady-state depolarization (from 10 to 14 Hz, $P = 0.057$). This increase was actually restricted to the deafferented type B neurons (Fig. 9*B*, *1* and *2*). Their median peak frequency reached 8 Hz instead of 4 Hz at the resting membrane potential ($P = 0.033$) and 14 Hz instead of 8 Hz during steady-state depolarization ($P = 0.06$). This increase might be linked to the fact that the ipsilesional type B MVNn were more depolarized than control type B MVNn because in control slices, steady-state depolarization also increased the peak frequency of resonance of type B MVNn from 4 to 8 Hz. However, the median peak frequency of ipsilesional type A MVNn, which were also more depolarized than control type A MVNn, was not modified compared with control slices (Fig. 9*A*, *1* and *2*). Altogether, the peak frequencies of resonance were now similar for type B and A MVNn, and the Bode plots of the deafferented type A and B MVNn displayed more similar profiles than on control slices (Fig. 9).

The phase response of both type A and type B MVNn was slightly modified by long-term deafferentation. The mean phase function of both types of deafferented MVNn was shifted by a few degrees toward greater phase leads and smaller phase lags over the whole range of frequencies compared with control slices (Fig. 8, *B2* and *C2*).

Summary of the main long-term effects of labyrinthectomy on the ipsilesional MVNn

Long-term deafferentation of the vestibular nuclei induced a depolarization of the average resting membrane potential and firing threshold of all MVNn by ~7 mV (Fig. 5). This depolarization was associated with an increase in the resting discharge of type B but not type A MVNn. In addition, there was a selective increase of the size of the AHP and regularity of discharge of type B MVNn associated with a decrease in the proportion of type B neurons displaying a double AHP (Fig. 5). The input resistance of MVNn, obtained from current steps, increased after the lesion for both types of neurons. The ramps (Figs. 6 and 7) revealed a strong increase of the overshoot induced by the steepest slopes for both types of deafferented MVNn. The sensitivity k_{IF} of the discharge of MVNn to ramp-like current injection increased, but only when ramps were delivered from the resting membrane potential. The modulation of the instantaneous firing rate of MVNn by sinusoidal currents was also modified after UL (Fig. 8). The sensitivity of their discharge to sinusoidal current injection ($\delta IF/\delta I$) was increased over the whole range of frequency tested. This increase in sensitivity was greater for type B than for type A MVNn. Long-term deafferentation did not modify the amplitude of the resonance of MVNn. However, there was a significant increase of the peak frequency of resonance of type B MVNn, which shifted from 4 to 8 Hz at rest and from 8 to 14 Hz during steady-state depolarization (Fig. 9).

DISCUSSION

Our data reveal that UL induces long-term changes in the neuronal properties of the ipsilesional MVN neurons. Qualitative evaluation of the modifications observed one month after the lesion suggests that they were more extensive than the changes reported 7–10 days after the lesion in the rat or guinea pig (see following text). This means that at the neuronal level, the plastic processes triggered by labyrinthectomy continue well after the first few days of compensation, long after the ipsilesional vestibular neurons have recovered their spontaneous discharge and the static deficits have disappeared.

Categorization of MVNn

In our previous publications, MVN neurons have been categorized into type A and B neurons using qualitative criteria only. For this study, quantitative criteria were developed to characterize the intracellularly recorded MVNn. Using a method introduced by Johnston et al. (1994), an averaged spike profile was obtained for each MVNn during spontaneous firing. This spike profile and its first derivative were used to assess the presence and quantify the strength of the A-like rectification and double AHP, which were the two main criteria used previously for the qualitative classification. The convexity of the voltage trace during the inter-spike interval was added as a third parameter for classification. While two distinct groups of MVNn could be defined using these parameters, a sizeable proportion of MVNn still displayed "intermediate" properties (in accordance with the idea of a continuum of neurons put forward by Du Lac and Lisberger 1995a). However, there was no objective reason to keep these intermediate MVNn as a separate category. In agreement with Johnston et al. (1994), our analysis shows that MVNn are best categorized by defining only two distinct groups of neurons corresponding to the qualitatively defined type A and B MVNn.

According to the quantified classification scheme, control MVNn included ~50% each of type A and B neurons in the guinea pig. Compared with the proportions previously reported using qualitative classification (in average 35% of type A MVNn, 50% of type B MVNn, and 15% of type C MVNn), the main change was an increase in the proportion of MVNn classified as type A neurons. Most of the MVNn that we previously considered as type C neurons were re-classified as type A MVNn. In previous works performed both in the guinea pig and rat (Him and Dutia 2001; Johnston et al. 1994; Serafin et al. 1991a), the qualitatively defined type B MVNn displayed significantly thinner spikes and smaller AHPs than type A MVNn. They were also characterized by the significantly different overshoots obtained in response to steep current ramps (Ris et al. 2001b). Despite the increase in the proportion of MVNn classified as type A neurons, all these significant differences between type A and B MVNn persisted when the quantified classification scheme was used (see RESULTS).

Compared with the data obtained in the rat and mouse (Dutia and Johnston 1998; Him and Dutia 2001; Johnston et al. 1994), in the guinea pig, the proportion of type A MVNn is higher (~50% instead of 20–25%) and the proportion of type B MVNn is lower. All type B MVNn display a double AHP during spontaneous firing in the rat and mouse (because this is the criterion used by these authors to define type B MVNn). In contrast, only 66% of the type B neurons and 33% of all MVNn display a double AHP at rest in the guinea pig. Altogether, rat and mice seem to have more phasic MVNn and less tonic neurons than guinea pigs (see Babalian et al. 1997 for the equivalence between the in vitro and in vivo classifications of

MVNn). This difference may be linked to the different ecological niches of these species.

Qualitative comparison of our results with previous studies performed after 7–10 days of compensation

Four previous studies have used intracellular recordings to assess how the membrane properties of MVN neurons were modified 7 to 10 days after a UL (Godaux and Ris 2001; Him and Dutia 2001; Ris et al. 2001c, 2002). A summary of the changes reported in these studies has been presented in the introduction. Because these studies were performed either in guinea pig or rat and did not use exactly the same stimulus and recording protocols, only *qualitative* comparisons will be made between these previous data and our own data. In vivo studies have shown that the time course of behavioral compensation after UL is not overtly different between rats and guinea pigs (Darlington et al. 2002; Hamann et al. 1998; Smith and Curthoys 1989).

Our study shows that the increase in the proportion of type B MVNn displaying low-threshold calcium spikes found by Godaux and Ris (2001) and Him and Dutia (2001) after 7–10 days of compensation is still present 1 mo after the lesion. These data suggest that vestibular compensation is associated with early changes in the calcium conductance of at least some MVNn (see also Smith et al. 2002).

On the other hand, we revealed a long-term increase of the size of the AHP and regularity of discharge of type B neurons that was not reported in previous studies. After 7–10 days of compensation in the rat (Him and Dutia 2001), there was a selective increase in the input resistance of ipsilesional type B MVNn compared with control MVNn. This increase was also present after 1 mo of compensation in the guinea pig, but was extended to ipsilesional type A MVNn. This increased resistance could correspond to long-term morphological changes of the neurons induced by labyrinthectomy. Indeed, quantitative morphological studies have shown that in the cat, the ipsilesional central vestibular neurons were reduced in size when observed 2 mo after the lesion. Furthermore, the number of synaptic profiles contacting these neurons was strongly reduced (see for review Gacek et al. 1998).

Long-term deafferentation induced a depolarization of the resting membrane potential of both type A and B MVNn by 5–10 mV. In the guinea pig, Ris and Godaux (personal communication) have not found any significant difference between the resting potential of control MVNn and MVNn recorded on the ipsilesional side of slices taken after 1 wk of compensation. But Him and Dutia (2001) have reported in the rat a depolarization of the ipsilesional MVNn recorded after 7–10 days of compensation similar to the one we report, *which was however restricted to type B neurons.* Thus it seems that a membrane potential depolarization of the ipsilesional MVNn recorded in vitro progressively develops in rodents during the first month of vestibular compensation. In particular, the depolarization of type A MVNn would not become obvious before the first 10 days of compensation have passed. As pointed out in the INTRODUCTION, in vitro extracellular recordings of MVNn have shown that an increase of the spontaneous firing rate of ipsilesional neurons developed compared with control slices during the same period (see for, review Darlington et al. 2002).

As already observed by Him and Dutia (2001) after 7–10 days of compensation, the depolarization of in vitro recorded MVNn was associated with an increase in the spontaneous firing rate of type B MVNn but not type A MVNn. In our case, however, there was a discrepancy between the depolarization of the membrane potential and firing threshold that affected both type A and B MVNn and the fact that only the spontaneous firing rate of type B MVNn was increased. This discrepancy might be a consequence of the different membrane properties displayed by type A versus type B MVNn. Indeed, the sensitivity of the firing rate of MVNn to membrane potential variations assessed at their resting membrane potential from their responses to sinusoidal stimuli tended to be higher for type B than for type A MVNn even if this trend was not significant. The overall absence of strong increase of the spontaneous firing rate of the whole sample of MVNn (Table 1) contrasts with what was found at the same long-term stage of compensation using extracellular recordings (Vibert et al. 1999b) and may be due to our use of intracellular recording techniques. Indeed, the average discharge rate of MVNn assessed using extracellular (Darlington et al. 1995; Ris et al. 2001a; Vibert et al. 1999b) or patch-clamp electrodes (Him and Dutia 2001; Murphy and Du Lac 2001) is 10–15 spikes/s in control slices. In contrast, intracellular recordings with sharp electrodes give values of 20–30 spikes/s even when performed by the same groups as in the preceding text (Du Lac and Lisberger 1995a; Gallagher et al. 1985; Johnston et al. 1994; Serafin et al. 1991a). The firing rate of the ipsilesional MVNn recorded on slices after various times of compensation using extracellular or whole cell patch electrodes reached at most 23 spikes/s despite its increase compared with control slices (Him and Dutia 2001; Vibert et al. 1999b). It stayed lower than the spontaneous discharge obtained with sharp electrodes in control slices. Thus the increase in the firing rate of control MVNn induced by sharp electrode penetration might reduce the apparent relative increase of firing rate normally associated with the compensation process. No other difference between the membrane properties of MVNn recorded with patch-clamp versus sharp electrodes, including their resting membrane potential, has been reported.

Long-term deafferentation induced a strong increase of the overshoot triggered by the steepest slopes for both types of MVNn. These data confirm results obtained by Ris et al. (2001c, 2002), who already observed a significant increase of the overshoot of the ipsilesional MVNn of guinea pigs 7 days after the lesion, *which was, however, restricted to type B MVN neurons.* Furthermore, contrary to what happened after 1 wk, the increase of the overshoot was associated with a higher sensitivity of the firing rate of MVN neurons (particularly type B MVNn) to current injection performed at the resting membrane potential (i.e., while the neurons were spontaneously active).

In summary, our data show that all the changes in the membrane and response properties of MVNn that were observed after 7–10 days of compensation in previous studies were still present 3 wk later, i.e., 1 mo after the lesion. However, while these changes were restricted to type B MVNn after the first week of compensation, most of them concerned both the ipsilesional type A and B MVNn after 1 mo. No major discrepancy appeared despite the different stimulation and recording protocols used in the various studies. New modifications that were not present at all after just 7–10 days of

compensation were also observed, like the increase in the AHP amplitude and discharge regularity of type B MVNn or the increase of the sensitivity of the firing rate of MVN neurons to ramp-like current injections. As pointed out in the preceding text, the plastic processes triggered at the neuronal level by labyrinthectomy continue well after the first few days of compensation, long after the static deficits triggered by the lesion have disappeared. Because no data have been published about the responses to sinusoidal current injection displayed by ipsilesional MVNn after 7–10 days of compensation, we were not able to evaluate the time course of appearance of the modifications of these responses observed 1 mo after the lesion.

Functional implications of the long-term changes of the membrane properties of MVNn induced by UL

Because the vestibular nerve afferent fibers provide a permanent excitatory input to MVNn, the MVN neurons should be more depolarized in vivo than they are on slices. After the loss of vestibular nerve afferents induced in vivo by UL, the mean resting potential of the ipsilesional MVNn should then become more hyperpolarized. In the guinea pig, there is a complete in vivo recovery of the spontaneous discharge of the deafferented MVNn during the first week of compensation (Ris et al. 1995, 1997). On the other hand, the in vitro studies demonstrate only moderate modifications of the spontaneous resting discharge and resting membrane potential of the ipsilesional MVNn in slices taken after 1 wk of compensation, restricted to type B neurons (Him and Dutia 2001; Ris et al. 2001c, 2002). The general depolarization of the ipsilesional MVNn by 5–10 mV we report at 1 mo suggests that their resting discharge recovered in vivo is more sustained at that stage by changes in their intrinsic membrane properties. Because this depolarization is accompanied by a similar increase of the firing threshold of the neurons, the resting discharge recovered by the deafferented MVNn during the first week after the lesion in vivo would not be modified later on.

The long-term increase of the size of the AHP and regularity of discharge of type B neurons observed after 1 mo of vestibular compensation was associated with a trend for the proportion of type A MVNn, which displays a large, single component AHP, to augment after long-term deafferentation. All this could increase in vivo the stability of the spontaneous discharge recovered by the deafferented MVNn. Indeed, bigger AHPs should limit the sensitivity of MVNn to small amplitude synaptic inputs, as shown by Babalian et al. (1997). Stability of the spontaneous discharge is probably an essential requirement for a proper functioning of the vestibular system, and suppression of the labyrinthine afferents generates instability in central vestibular networks. Indeed, UL is associated with an increase in the irregularity of the spontaneous discharge of the ipsilesional, second-order MVNn recorded in isolated whole brains (Vibert et al. 1999a). Bilateral labyrinthectomy induces a strong instability of the resting posture and head position that decreases with time but never disappears (Ris and Godaux 1998). The increase of the size of the AHP and regularity of discharge of type B MVNn after long-term deafferentation was associated with a decrease of the strength of the double AHP displayed by these neurons. The proportion of type B MVNn displaying a double AHP also decreased. Altogether, after long-term deafferentation, the basic membrane properties of type B MVNn tended to become more similar to those of type A MVNn than in control slices.

In vivo studies have shown that UL induces major deficits of the vestibulospinal and vestibuloocular synergies. The horizontal vestibuloocular reflex (HVOR) improves over several weeks in the low- and middle-frequency range of head movements, between 0.1 and ~10 Hz, both in guinea pigs and monkeys (Gilchrist et al. 1998; Lasker et al. 2000; Vibert et al. 1993). However, the quality of the recovery decreases with the amplitude of the movement, and there is no dynamic recovery for high acceleration impulses corresponding to high-frequency stimuli.

The main change induced by long-term deafferentation was a significant increase in the sensitivity of MVNn to both ramp-like and sinusoidal currents delivered at the resting membrane potential, i.e., in the presence of action potentials. In both cases, this increase was stronger for type B than for type A MVNn. The higher sensitivity of ipsilesional MVNn was not due to the fact that they were more depolarized than the MVNn recorded in control slices. Indeed, responses to sinusoidal currents delivered during steady-state depolarization show that in control slices, depolarization induces a decrease, and not an increase, of the sensitivity of MVN neurons. The ramp-like currents we used were high-amplitude stimuli, but their main frequency component ranged from 0.2 Hz for the 5,000-ms ramps to 5 Hz for the 200-ms ramps. The fundamental frequency of ramps is therefore inside the low- and middle-frequency range of head movements, where the dynamic vestibular synergies recover in vivo (Gilchrist et al. 1998; Vibert et al. 1993). All this suggests that the increased overshoot displayed by the ipsilesional MVNn and the increased sensitivity of MVNn to ramp-like and sinusoidal currents might be involved in this recovery. This would be in accordance with the increased transmission by vestibuloocular pathways found in vivo by Broussard and Hong (1999). There was an apparent discrepancy between the higher sensitivity of the ipsilesional type B MVNn to ramp-like and sinusoidal currents and the increase of their AHP, which should make them less sensitive to current changes. However, while the increased AHP must give type B MVNn a greater stability and smaller sensitivity to small, random synaptic noise (see Babalian et al. 1997), it did not apparently alter their sensitivity to high-amplitude ramp-like and sinusoidal potential modulations that reach 5–10 mV or more in most cases.

Detailed analysis of the data obtained in control slices revealed that compared with type A MVNn, the peak frequency of resonance of type B MVNn was lower, whereas the amplitude of their resonance was similar or higher. In accordance with the model put forward by Minor et al. (1999) for the monkey HVOR, we have suggested (Ris et al. 2001b) that at high frequencies, type B MVNn might work *in a nonlinear way*, such as a signal detection mode, to amplify the contribution of vestibular nerve afferents. This should apply to guinea pigs because the HVOR dynamics and the way they are affected by UL appear roughly similar in all mammalian species (Broussard et al. 1999; Escudero et al. 1993; Gilchrist et al. 1998; Minor et al. 1999; Smith and Curthoys 1989). Because our sinusoidal stimulations were designed to evoke only linear responses, the decrease of the firing rate modulation displayed by type B MVNn >4 Hz might result from the progressive

involvement of nonlinear properties in the responses of type B MVNn at higher frequencies. In other words, type B MVNn would display linear responses over a smaller range of amplitude and frequencies than type A MVNn but would be the only cells able to respond to high-frequency, high-amplitude stimuli by working as signal detectors.

Remarkably, the increased sensitivity of the ipsilesional type B MVNn was associated with an increase of their peak frequency of resonance. However, in vivo studies in guinea pigs, monkeys, and humans have shown that the dynamic vestibular reflexes triggered by high-frequency stimuli like velocity steps were definitively impaired on the ipsilesional side after UL (Curthoys 2000; Gilchrist et al. 1998; Halmagyi et al. 1990; Lasker et al. 2000). This discrepancy might be due to the fact that we used low-amplitude sinusoidal currents to keep the responses of MVNn in the linear range. The increase in the peak frequency of resonance of the ipsilesional type B MVNn suggests that the increased amplitude of their AHP is associated with an extension of the frequency range of their linear responses like in A MVNn. In accordance with the fact that the basic properties of type B MVNn come closer to those of type A MVNn after one month of compensation (see preceding text), the dynamic response profiles of type A and B neurons become more similar than in control slices. This transformation of the ipsilesional type B MVNn might impair their nonlinear properties and thus could explain the suppression in vivo of the responses to high-amplitude, high-frequency head movements directed toward the ipsilesional side.

Conclusion

Because synaptic uncoupling conditions were not used, we cannot exclude that the changes in the membrane and response properties of MVNn we observed might indirectly be due to changes in neurotransmitter receptor activation. It is, however, unlikely because the increase in the discharge rate of extracellularly recorded, ipsilesional MVNn obtained on slices taken after 1 mo of compensation persisted in conditions of synaptic uncoupling (Vibert et al. 1999b).

As pointed out in the preceding text, only the membrane properties of type B MVNn were modified after 7–10 days of vestibular compensation. Even if most of these changes extended to type A MVNn 3 wk later, our data show that the type B MVNn were still more modified than type A MVNn by long-term deafferentation. In several respects, the static and dynamic membrane properties of type B MVNn became more similar to those of type A MVNn than in control slices, and the overall homogeneity of MVNn was increased. The fact that both the resting membrane potential and firing threshold of the neurons became more depolarized suggests that changes in active conductance compensated for the loss of excitatory afferents.

This work was supported by grants from the Centre National de la Recherche Scientifique (Direction des Relations Internationales), the CNES, the French Ministère des Affaires Etrangères, and the Queen Elizabeth Foundation. A. Uno was supported by the French Government (Boursier du Gouvernement Français 2001) and continued to receive support from the Osaka University Medical School while on leave from that institution. L. Ris is a scientific research worker of the Belgian Fonds National de la Recherche Scientifique.

REFERENCES

Babalian A, Vibert N, Assié G, Serafin M, Mühlethaler M, and Vidal PP. Central vestibular networks in the guinea pig: functional characterization in the isolated whole brain in vitro. *Neuroscience* 81: 405–426, 1997.

Broussard DM, Bhatia JK, and Jones GEG. The dynamics of the vestibulo-ocular reflex after peripheral vestibular damage. I. Frequency-dependent asymmetry. *Exp Brain Res* 125: 353–364, 1999.

Broussard DM and Hong JA. Increased transmission by direct vestibulo-ocular reflex pathways after peripheral vestibular damage: a preliminary report. *Acta Otolaryngol* 119: 58–61, 1999.

Cameron SA and Dutia MB. Cellular basis of vestibular compensation: changes in intrinsic excitability of MVN neurons. *Neuroreport* 8: 2595–2599, 1997.

Carleton SC and Carpenter MB. Afferent and efferent connections of the medial, inferior and lateral nuclei in the cat and monkey. *Brain Res* 278: 29–51, 1983.

Chen-Huang C, McCrea RA, and Goldberg JM. Contributions of regularly and irregularly discharging vestibular nerve inputs to the discharge of central vestibular neurons in the alert squirrel monkey. *Exp Brain Res* 114: 405–422, 1997.

Curthoys IS. Vestibular compensation and substitution. *Curr Opin Neurol* 13: 27–30, 2000.

Darlington CL, Dutia MB, and Smith PF. The contribution of the intrinsic excitability of vestibular nucleus neurons to recovery from vestibular damage. *Eur J Neurosci* 15: 171–1727, 2002.

Darlington CL, Gallagher JP, and Smith PF. In vitro electrophysiological studies of the vestibular nucleus complex. *Prog Neurobiol* 45: 335–346, 1995.

Darlington CL and Smith PF. The recovery of static vestibular function following peripheral vestibular lesions in mammals: the intrinsic mechanism hypothesis. *J Vestib Res* 6: 185–201, 1996.

Darlington CL, Smith PF, and Hubbard JI. Neuronal activity in the guinea pig medial vestibular nucleus in vitro following chronic unilateral labyrinthectomy. *Neurosci Lett* 105: 143–148, 1989.

de Waele C, Graf W, Josset P, and Vidal PP. A radiological analysis of the postural syndromes following hemilabyrinthectomy and selective canal and otolith lesions in the guinea pig. *Exp Brain Res* 77: 166–182, 1989.

Dieringer N. "Vestibular compensation": neural plasticity and its relations to functional recovery after labyrinthine lesions in frogs and other vertebrates. *Prog Neurobiol* 46: 97–129, 1995.

Dobbing J and Sands J. Growth and development of the brain and spinal cord of the guinea pig. *Brain Res* 17: 115–123, 1970.

Du Lac S and Lisberger SG. Membrane and firing properties of avian medial vestibular nucleus neurons in vitro. *J Comp Physiol [A]* 176: 641–651, 1995a.

Du Lac S and Lisberger SG. Cellular processing of temporal information in medial vestibular nucleus neurons. *J Neurosci* 15: 8000–8010, 1995b.

Dutia MB and Johnston AR. Development of action potentials and apamin-sensitive after-potentials in mouse vestibular nucleus neurons. *Exp Brain Res* 118: 148–154, 1998.

Escudero M, de Waele C, Vibert N, Berthoz A, and Vidal PP. Saccadic eye movements and the horizontal vestibulo-ocular and vestibulo-collic reflexes in the intact guinea pig. *Exp Brain Res* 97: 254–262, 1993.

Gacek RR, Khetarpal U, and Schoonmaker J. Morphological and neurochemical correlates of vestibular compensation. *Auris Nasus Larynx* 25: 193–201, 1998.

Gallagher JP, Lewis MR, and Shinnick-Galagher P. An electrophysiological investigation of the rat medial vestibular nucleus in vitro. In: *Contemporary Sensory Neurobiology*, edited by Correia MJ and Perachio AA. New York: Liss, 1985, p. 293–304.

Gilchrist DPD, Curthoys IS, Cartwright AD, Burgess AM, Topple AN, and Halmagyi GM. High-acceleration impulsive rotations reveal severe long-term deficits of the horizontal vestibulo-ocular reflex in the guinea pig. *Exp Brain Res* 123: 242–254, 1998.

Godaux ER and Ris L. Modification of low-threshold voltage-gated calcium channels during vestibular compensation in the guinea pig. *Soc Neurosci Abstr* 27: 298.5, 2001.

Goldberg JM, Highstein SM, Moschovakis AK, and Fernandez C. Inputs from regularly and irregularly discharging vestibular nerve afferents to

secondary neurons in the vestibular nuclei of the squirrel monkey. I. An electrophysiological analysis. *J Neurophysiol* 58: 700–718, 1987.

Halmagyi GM, Curthoys IS, Cremer PD, Henderson CJ, Todd MJ, Staples MJ, and D'Cruz DM. The human horizontal vestibulo-ocular reflex in response to high acceleration stimulation before and after unilateral vestibular neurectomy. *Exp Brain Res* 81: 479–490, 1990.

Hamann KF, Reber A, Hess BJM, and Dieringer N. Long-term deficits in otolith, canal, and optokinetic ocular reflexes of pigmented rats after unilateral vestibular nerve section. *Exp Brain Res* 118: 331–340, 1998.

Him A and Dutia MB. Intrinsic excitability changes in vestibular nucleus neurons after unilateral deafferentation. *Brain Res* 908: 58–66, 2001.

Jensen DW. Reflex control of acute postural asymmetry and compensatory symmetry after a unilateral vestibular lesion. *Neuroscience* 4: 1059–1073, 1979.

Johnston AR, MacLeod NK, and Dutia MB. Ionic conductances contributing to spike repolarization and after-potentials in rat medial vestibular nucleus neurons. *J Physiol* 481: 61–77, 1994.

Krawitz S, Fedirchuk B, Dai Y, Jordan LM, and McCrea DA. State-dependent hyperpolarization of voltage threshold enhances motoneuron excitability during fictive locomotion in the cat. *J Physiol* 532: 271–281, 2001.

Lasker DM, Hullar TE, and Minor LB. Horizontal vestibuloocular reflex evoked by high-acceleration rotations in the squirrel monkey. III. Responses after labyrinthectomy. *J Neurophysiol* 83: 2482–2496, 2000.

Minor LB, Lasker DM, Backous DD, and Hullar TE. Horizontal vestibuloocular reflex evoked by acceleration rotations in the squirrel monkey. I. Normal responses. *J Neurophysiol* 82: 1254–1270, 1999.

Moore LE, Hill RH, and Grillner S. Voltage-clamp frequency domain analysis of NMDA-activated neurons. *J Exp Biol* 175: 59–87, 1993.

Murphy GJ and Du Lac S. Postnatal development of spike generation in rat medial vestibular nucleus neurons. *J Neurophysiol* 85: 1899–1906, 2001.

Nacher J, Palop JJ, Ramirez C, Molowny A, and Lopez-Garcia C. Early histological maturation in the hippocampus of the guinea pig. *Brain Behav Evol* 56: 38–44, 2000.

Ris L, Capron B, de Waele C, Vidal PP and Godaux E. Dissociations between behavioral recovery and restoration of vestibular activity in the unilabyrinthectomized guinea pig. *J Physiol* 500: 509–522, 1997.

Ris L, Capron B, Vibert N, Vidal PP and Godaux E. Modification of pacemaker activity of vestibular neurons in brainstem slices during vestibular compensation in the guinea pig. *Eur J Neurosci* 13: 2234–2240, 2001a.

Ris L, de Waele C, Serafin M, Vidal PP, and Godaux E. Neuronal activity in the ipsilateral vestibular nucleus following unilateral labyrinthectomy in the alert guinea pig. *J Neurophysiol* 74: 2087–2099, 1995.

Ris L and Godaux E. Neuronal activity in the vestibular nuclei after contralateral or bilateral labyrinthectomy in the alert guinea pig. *J Neurophysiol* 80: 2352–2367, 1998.

Ris L, Hachemaoui M, and Godaux E. Effect of labyrinthectomy on the spike generator of vestibular neurons in the guinea pig. *Neuroreport* 13: 1875–1880, 2002.

Ris L, Hachemaoui M, Vibert N, Godaux E, Vidal PP, and Moore LE. Resonance of spike discharge modulation in neurons of the guinea pig medial vestibular nucleus. *J Neurophysiol* 86: 703–716, 2001b.

Ris L, Hachemaoui M, Vibert N, Vidal PP, Godaux E, and Moore LE. Increase in dynamic excitability of vestibular neurons in guinea pig brainstem slices during vestibular compensation. *Soc Neurosci Abstr* 27: 298.1, 2001c.

Sato F and Sasaki H. Morphological correlation between spontaneously discharging primary vestibular afferents and vestibular nucleus neurons in the cat. *J Comp Neurol* 333: 554–566, 1993.

Serafin M, de Waele C, Khateb A, Vidal PP, and Mühlethaler M. Medial vestibular nucleus in the guinea pig. I. Intrinsic membrane properties in brainstem slices. *Exp Brain Res* 84: 417–425, 1991a.

Serafin M, de Waele C, Khateb A, Vidal PP, and Mühlethaler M. Medial vestibular nucleus in the guinea pig. II. Ionic basis of the intrinsic membrane properties in brain stem slices. *Exp Brain Res* 84: 426–433, 1991b.

Sirkin DW, Precht W, and Courjon JH. Initial, rapid phase of recovery from unilateral vestibular lesion is not dependent on survival of central portion of vestibular nerve. *Brain Res* 302: 245–256, 1984.

Smith PF and Curthoys IS. Mechanisms of recovery following unilateral labyrinthectomy: a review. *Brain Res Rev* 14: 155–180, 1989.

Smith MR, Nelson AB, and Du Lac S. Regulation of firing response gain by calcium-dependent mechanisms in vestibular nucleus neurons. *J Neurophysiol* 87: 2031–2042, 2002.

Vibert N, Babalian A, Serafin M, Gasc JP, Mühlethaler M, and Vidal PP. Plastic changes underlying vestibular compensation in the guinea pig persist in isolated, in vitro whole brain preparations. *Neuroscience* 93: 413–432, 1999a.

Vibert N, Bantikyan A, Babalian A, Serafin M, Mühlethaler M, and Vidal PP. Post-lesional plasticity in the central nervous system of the guinea pig: a "top-down" adaptation process? *Neuroscience* 94: 1–5, 1999b.

Vibert N, Beraneck M, Bantikyan A, and Vidal PP. Vestibular compensation modifies the sensitivity of vestibular neurones to inhibitory amino acids. *Neuroreport* 11: 1921–1927, 2000.

Vibert N, de Waele C, Escudero M, and Vidal PP. The horizontal vestibuloocular reflex in the hemilabyrinthectomized guinea pig. *Exp Brain Res* 97: 263–273, 1993.

Vibert N, de Waele C, Serafin M, Babalian A, Mühlethaler M, and Vidal PP. The vestibular system as a model of sensorimotor transformations. A combined in vivo and in vitro approach to study the cellular mechanisms of gaze and posture stabilization in mammals. *Prog Neurobiol* 51: 243–286, 1997.

Yamanaka T, Him A, Cameron SA, and Dutia MB. Rapid compensatory changes in GABA receptor efficacy in rat vestibular neurons after unilateral labyrinthectomy. *J Physiol* 523: 413–424, 2000.

A.4 Conclusion

Notre étude a démontré que des changements importants des propriétés intrinsèques affectaient à long terme les neurones ipsilatéraux à la lésion. Ce premier travail expérimental nous a conduits à développer des techniques d'analyse et de classification objectives des neurones enregistrés, techniques désormais appliquées à l'ensemble des neurones enregistrés au laboratoire. Cette étude consiste en une quantification des propriétés membranaires intrinsèques des neurones vestibulaires, démarche adoptée par le L.N.R.S qui a pour but de permettre de modéliser au mieux les réponses de ces neurones (*voir discussion générale A.2*).

L'ensemble de nos résultats suggère que les propriétés des neurones de type B sont les plus affectées par la lésion. Nous pouvons résumer les changements qui affectent ces neurones en disant qu'ils tendent à rendre les propriétés des neurones de type B plus similaires à celles des neurones de type A, renforçant la « tonicité » globale et l'homogénéité des cellules au sein du noyau vestibulaire médian ipsilatéral.

Nous avons déjà souligné que le système vestibulaire fonctionne de manière bilatérale, et l'on connaît l'importance de l'équilibre des décharges de masse des noyaux ipsi et contralatéraux dans la physiologie du système vestibulaire. S'il est probable que la déafférentation affecte peu de manière directe le côté contralatéral, l'ensemble des changements provoqués par la lésion aboutit sans aucun doute à une modification de l'environnement fonctionnel de ces neurones contralatéraux. L'étude menée par Vibert et col. en 1999 après un mois de compensation suggérait une diminution de l'activité de ces neurones situés du côté non lésé. D'un point de vue fonctionnel, le côté contralatéral devient, suite à la lésion, le seul à recevoir des informations vestibulaires, et c'est donc tout naturellement que nous avons prolongé cette étude en enregistrant les neurones vestibulaires médians situés du côté contralatéral à la lésion.

B. Etude des propriétés membranaires des neurones vestibulaires médians contralatéraux enregistrés un mois après labyrinthectomie unilatérale : *Beraneck et col. 2004*

B.1 Contexte scientifique

Le fonctionnement du système vestibulaire dans le plan horizontal est classiquement décrit comme celui d'un système en « push-pull », c'est-à-dire que pour un mouvement particulier, un côté est excité alors que l'autre est inhibé. Le système commissural qui lie les noyaux vestibulaires situés de part et d'autre du tronc cérébral joue un rôle important dans ce fonctionnement. Suite à la labyrinthectomie unilatérale, le côté contralatéral à la lésion, souvent désigné comme le côté « sain », est le seul à pouvoir encore coder des informations issues des organes vestibulaires. On comprend donc l'importance que pourraient avoir d'éventuels changements des propriétés membranaires intrinsèques des neurones vestibulaires situés de ce côté dans la récupération post-lésionnelle de réflexes vestibulaires normaux.

Le nombre d'études menées *in vitro* sur le côté contralatéral est très sensiblement inférieur au nombre de celles qui se sont intéressées au côté déafférenté. La plupart des travaux suggérant des changements de ce côté sont issus d'expériences menées *in vivo* (Broussard et col. 1999b; Gilchrist et col. 1998; Halmagyi et col. 1990; Lasker et col. 2000; Murai et col. 2003; Vibert et col. 1993). Bien que différentes selon les espèces considérées, l'ensemble des données pourrait être ainsi résumé : on observe une amélioration des réflexes dynamiques lors de la rotation de la tête vers le côté opposé à la lésion, schématiquement au cours du 1er mois, conduisant à des réponses quasi-normales. Une asymétrie des réflexes selon que la rotation est dirigée vers le côté ipsi ou contralatéral persiste indéfiniment, surtout à haute fréquence. Les synergies vestibulaires récupèrent en effet surtout pour des mouvements de faible amplitude et de basse fréquence, les déficits liés à la lésion étant plus facilement révélés lorsque les paramètres des stimuli sont augmentés (*cf. discussion générale*).

Les rares études menées *in vitro* à partir d'enregistrements extracellulaires (Darlington et col. 1989; Vibert et col. 1999b) suggèrent à long terme une diminution de l'activité pacemaker spontanée des neurones contralatéraux. Il faut noter qu'aucune étude intracellulaire ne s'était jusque là intéressée spécifiquement à l'évolution des propriétés intrinsèques des neurones contralatéraux au cours de la compensation vestibulaire.

B.2 Buts de l'étude

Notre objectif principal en débutant cette expérience était d'obtenir une vue générale de l'état des neurones vestibulaires après un mois de compensation, en complétant les données obtenues du côté ipsilatéral. La question se posait de savoir si des changements des propriétés membranaires intrinsèques se produisaient également du côté contralatéral. Ce côté, même s'il n'a pas subi directement la déafférentation, peut-il toujours être qualifié de « sain » ? La labyrinthectomie unilatérale offre ici un modèle d'étude de l'évolution des propriétés membranaires de neurones ne subissant pas de déafférentations (contrairement aux neurones ipsilatéraux), mais dont l'équilibre fonctionnel des réseaux auxquels ils appartiennent est modifié, nous permettant d'aborder la problématique de la plasticité dépendante de l'activité (*cf. discussion*).

B.3 Résumé en français

Le phénomène de compensation vestibulaire qui se développe suite à une labyrinthectomie unilatérale conduit à une disparition presque complète des symptômes statiques consécutifs à la lésion. L'efficacité des réflexes d'origine vestibulaires associés aux mouvements de la tête reste cependant définitivement réduite. Le labyrinthe contralatéral à la lésion joue un rôle capital dans la génération de ces réponses dynamiques, ce qui nous a conduit à étudier les neurones situés dans le noyau vestibulaire médian contralatéral à la lésion après un mois de compensation vestibulaire. Nous avons caractérisé les types cellulaires et comparé les réponses des neurones de type A et de type B à des stimuli en sauts, rampes et sinusoïdes de courant de fréquences variées. Après un mois de compensation vestibulaire, la sensibilité de la décharge des neurones contralatéraux à l'injection de courant est augmentée, et leurs réponses fréquentielles étudiées à l'aide de sinusoïdes de courant présentent des décalages vers des déphasages positifs (avances de phase). Ces changements démontrent que des conductances actives des neurones ont été modifiées par la lésion. La

proportion de neurones de type B est augmentée par rapport à la normale. Les neurones de type A qui restent présentent des dynamiques de réponse plus proches de celles des neurones de type B. Les propriétés membranaires intrinsèques des neurones contralatéraux apparaissent donc globalement plus phasiques qu'en situation physiologique. Les propriétés de décharge des neurones ipsi et contralatéraux sont donc clairement différenciées après un mois de compensation vestibulaire.

En résumé, après un mois de compensation, les neurones ipsilatéraux à la lésion présentent tous des caractéristiques toniques proches de celles des neurones de type A, ce qui pourrait contribuer à restaurer la stabilité de l'activité spontané de ces neurones déafférentés. L'augmentation bilatérale de sensibilité de la décharge des neurones du NVM et l'acquisition, par les neurones contralatéraux, de propriétés de décharge plus proches de celles des neurones de type B, pourrait contribuer à la compensation par le labyrinthe contralatéral des déficits des réflexes dynamiques provoqués par la lésion.

J Neurophysiol 92: 1668–1684, 2004.
First published May 12, 2004; 10.1152/jn.00158.2004.

Unilateral Labyrinthectomy Modifies the Membrane Properties of Contralesional Vestibular Neurons

Mathieu Beraneck, Erwin Idoux, Atsuhiko Uno, Pierre-Paul Vidal, Lee E. Moore, and Nicolas Vibert
Laboratoire de Neurobiologie des Réseaux Sensorimoteurs, Centre National de la Recherche Scientifique-Université Paris 5, Unite Mixte de Recherche 7060, 75270 Paris Cédex 06, France

Submitted 18 February 2004; accepted in final form 10 May 2004

Beraneck, Mathieu, Erwin Idoux, Atsuhiko Uno, Pierre-Paul Vidal, Lee E. Moore, and Nicolas Vibert. Unilateral labyrinthectomy modifies the membrane properties of contralesional vestibular neurons. *J Neurophysiol* 92: 1668–1684, 2004. First published May 12, 2004; 10.1152/jn.00158.2004. Vestibular compensation after a unilateral labyrinthectomy leads to nearly complete disappearance of the static symptoms triggered by the lesion. However, the dynamic vestibular reflexes associated with head movements remain impaired. Because the contralesional labyrinth plays a prominent role in the generation of these dynamic responses, intracellular recordings of contralesional medial vestibular nucleus neurons (MVNn) were done after 1 mo of compensation. Their firing properties and cell type were characterized at rest, and their response dynamics investigated using step, ramp, and sinusoidal current stimulations. The sensitivity of the contralesional MVNn firing rates to applied current was increased, which, along with increased phase leads, suggests that significant changes in active conductances occurred. We found an increased proportion of the phasic type B neurons relative to the tonic type A neurons in the contralesional MVN. In addition, the remaining contralesional type A MVNn response dynamics tended to approach those of type B MVNn. Thus the contralesional MVNn in general showed more phasic response dynamics than those of control MVNn. Altogether, the firing properties of MVNn are differentially modified on the ipsilesional and contralesional sides of the brain stem 1 mo after unilateral labyrinthectomy. Ipsilesional MVNn acquire more "type A–like" tonic membrane properties, which would contribute to the stabilization of the spontaneous activity that recovers in the deafferented neurons during vestibular compensation. The bilateral increase in the sensitivity of MVNn and the acquisition of more "B-like" phasic membrane properties by contralesional MVNn should promote the restoration of the vestibular reflexes generated by the remaining, contralesional labyrinth.

INTRODUCTION

Vestibular compensation is defined as the regression of the oculomotor and postural syndrome that occurs after destruction of one labyrinth (Curthoys 2000; Darlington and Smith 1996; Dieringer 1995; Smith and Curthoys 1989). This syndrome includes a spontaneous ocular nystagmus and massive postural distortions observed in the absence of movement, and abnormalities of the vestibulo-ocular and vestibulo-spinal synergies observed during head movements. Whereas the static disturbances disappear in a few days in most vertebrate species, the dynamic reflexes remain impaired indefinitely. They improve over several weeks, but this recovery is limited to low acceleration and the low to middle frequency range of head movements, both in animals (Broussard et al. 1999b; Gilchrist et al. 1998; Lasker et al. 2000; Murai et al. 2003; Vibert et al. 1993) and humans (Allum and Ledin 1999; Brandt 2000; Curthoys and Halmagyi 1999).

The vestibular system works bilaterally, using sensory information from both labyrinths simultaneously for gaze and posture stabilization. Most subdivisions of the vestibular nuclei are linked by commissural fibers that interconnect the 2 vestibular complexes located on each side of the brain stem through monosynaptic or disynaptic pathways. Commissural connections are particularly extensive at the level of the medial and superior vestibular nucleus (Epema et al. 1988; Gacek 1978; Ito et al. 1985; Newlands et al. 1989). These commissural pathways are predominantly inhibitory but also include excitatory connections (Babalian et al. 1997; Highstein et al. 1987). The role of the contralesional, intact labyrinth and of commissural pathways in the rapid disappearance of the static symptoms triggered by unilateral labyrinthectomy is controversial (Cartwright and Curthoys 1996; Graham and Dutia 2001; see Curthoys and Halmagyi 1999; Dieringer 1995; Smith and Curthoys 1989). In contrast, the contralesional labyrinth is obviously essential for the recovery of the dynamic vestibular reflexes. Indeed, it provides all the remaining sensory vestibular information related to linear and angular head movements.

Few in vivo data are available on how the contralesional vestibular neurons are modified after unilateral labyrinthectomy, but they all suggest that substantial adaptive mechanisms are triggered during vestibular compensation. Immediately after the lesion, the spontaneous discharge of contralesional MVNn recorded in awake guinea pigs increases (Ris and Godaux 1998). This is probably attributable to the loss of the commissural inhibition normally provided by the ipsilesional MVNn, which are deprived of their vestibular excitatory drive (Curthoys and Halmagyi 1995; Darlington and Smith 1996; Dieringer 1995; Smith and Curthoys 1989). The spontaneous discharge of contralesional MVNn returns to normal within 1 wk. After several months, the contralesional vestibular neurons show structural changes (Gacek et al. 1998). In patients, caloric stimulation of the intact labyrinth reveals first a reduction of excitability during the first months after the lesion, then a recovery of normal values in about 1 yr, which afterward develops into a hyperexcitability during the next year (Fisch 1973). In monkeys, caloric response of the contralesional labyrinth to ice water is increased after 3 mo of vestibular compensation (Fetter and Zee 1988).

Address for reprint requests and other correspondence: N. Vibert, Laboratoire de Neurobiologie des Réseaux Sensorimoteurs, CNRS UMR 7060, Université Paris 5, 45 rue des Saints-Pères, 75270 Paris Cédex 06, France (E-mail: nivi@ccr.jussieu.fr).

The costs of publication of this article were defrayed in part by the payment of page charges. The article must therefore be hereby marked "*advertisement*" in accordance with 18 U.S.C. Section 1734 solely to indicate this fact.

 0022-3077/04 $5.00 Copyright © 2004 The American Physiological Society

Intracellular recordings in brain stem slices led to the identification of 2 types of MVNn, type A and type B neurons, based primarily on different action potential profiles (Gallagher et al. 1985; Johnston et al. 1994; Serafin et al. 1991a,b). Previous studies (Babalian et al. 1997; Ris et al. 2001) have shown that type A MVNn correspond to the tonic, regular vestibular neurons identified in vivo, and have a more stable spontaneous activity and more linear response dynamics. In contrast, type B MVNn correspond to the phasic, irregular vestibular neurons identified in vivo, and show more irregular spontaneous activity and a higher sensitivity to applied current. Recently, we showed that 1 mo after a unilateral labyrinthectomy, the intrinsic firing properties of ipsilesional MVNn were greatly modified (Beraneck et al. 2003a). The ipsilesional neurons were depolarized by 6–10 mV, and the static and dynamic membrane properties of type B neurons were more similar to those of type A neurons than in control slices. Altogether, the neurons on the ipsilesional side showed a more tonic behavior, which should increase the stability and regularity of the resting discharge that is restored in these MVNn during vestibular compensation.

In view of the prominent role of the contralesional labyrinth in the generation of vestibular synergies after unilateral labyrinthectomy, additional experiments were done on the static and dynamic membrane properties of contralesional MVN neurons after 1 mo of compensation. Statistical comparisons were made with identical measurements obtained on slices from normal animals, and on the ipsilesional side of slices taken 1 mo after unilateral labyrinthectomy (Beraneck et al. 2003a; Ris et al. 2001). Some of these data were previously published in abstract form (Beraneck et al. 2003b).

METHODS

Animals and surgical procedures

Experiments were carried out on pigmented guinea pigs of both genders (Elevage de la Garenne, Saint-Pierre d'Exideuil, France). The animals were handled in accordance with the European Communities Council Directive of November 24, 1986, and followed the procedures issued by the French Ministère de l'Agriculture.

Unilateral labyrinthectomies were performed under halothane anesthesia as described in Vibert et al. (1999a,b). Guinea pigs were allowed to compensate in a normal visual environment until their brain was removed after about 1 mo of compensation (mean of 32 days, range: 27 to 41 days) to prepare the slices. The 28 animals used in this experiment were 8–10 wk of age, and their weight ranged from 250 to 450 g (mean about 350 g). These parameters were similar to those of the animals used in our previous experiments (Beraneck et al. 2003a).

Intracellular electrophysiological recordings

After nembutal (pentobarbital) anesthesia, thick (500 μm), coronal brain stem slices were cut from previously labyrinthectomized animals and maintained using standard techniques (Gallagher et al. 1985; Serafin et al. 1991a; Vibert et al. 1999b). In most experiments, a cold (4°C) sucrose-containing artificial cerebrospinal fluid (sucrose ACSF) was used during the dissection and preparation of the slices (Devor et al. 2001; for details see Uno et al. 2003). During the recordings, however, the slices were superfused with normal ACSF maintained at 31–32°C (Serafin et al. 1991a; Vibert et al. 1999b). Use of the sucrose solution during the preparation of the slices increased the number of viable neurons recorded with microelectrodes. Because we obtained a few contralesional neurons (9 out of 74) without using the sucrose ACSF, we verified that neither their static nor their dynamic membrane properties were different from those of the contralesional MVNn obtained using the sucrose ACSF (see Uno et al. 2003).

Intracellular electrophysiological recordings were obtained with sharp, 3 M potassium acetate-containing glass microelectrodes from neurons within the contralesional medial vestibular nucleus (MVN). As in Beraneck et al. (2003a), recordings were restricted to the two 500-μm coronal slices corresponding to the middle third of the guinea pig MVN, at the level of the cerebellar peduncles. A few cells ($<$10%) were recorded in more caudal slices taken from the last third of the MVN. About 20% of the experiments were performed blind to the recording side to check for any experimenter-linked bias. It is likely that a large majority ($>$80%) of the MVNn recorded in slices are second-order vestibular neurons, given that 80–85% of the central vestibular neurons recorded in the MVN area of the isolated whole brain of guinea pig with similar electrodes were identified as second-order neurons (Babalian et al. 1997).

All measurements were done with an Axoclamp 2A system (Axon Instruments, Union City, CA) in the bridge mode, current-clamp configuration. The electrode resistance varied from 80 to 150 MΩ. Both series resistance (bridge balance) and capacitance compensation were checked throughout the recording of each individual neuron (Ris et al. 2001). The current stimulation and data acquisition were done with a PC-compatible computer using the Acquis 1 program (version 4.0, Bio-logic S.A., Gif-sur-Yvette, France) or MATLAB 6.5 (The MathWorks, Natick, MA). The data were analyzed using program scripts with Mathematica 4.0 (Wolfram Research, Champaign, IL) or MATLAB 6.5 (The MathWorks).

Basic membrane and firing properties of MVNn

Because most MVNn are spontaneously active on slices, the membrane potential was filtered with a 1-Hz low-pass filter to obtain an estimate of a "mean resting membrane potential" for each neuron. As in Beraneck et al. (2003a), all cells that had a resting potential more negative than -50 mV and a spike amplitude >50 mV were analyzed. We also analyzed the MVNn whose membrane potential ranged from -50 to -40 mV if their spike amplitude was 50 mV or more, with a normal spike width ranging from 0.7 to 2.2 ms (see Beraneck et al. 2003a).

Recordings of the neurons at rest were used to determine their mean spontaneous firing rate, the coefficient of variation (CV), and the amplitude of the spike. For each neuron, an average of the spike shape and following interspike interval was obtained by averaging successive spikes taken either at rest or during slight depolarizations, if the neurons were silent at rest. The spikes were synchronized to their thresholds, defined as the time the positive slope of the action potential reached 10 V/s (Krawitz et al. 2001). The averaged spike shape was used to determine the amplitude of the afterhyperpolarization (AHP) and the width of the spike at threshold (see Beraneck et al. 2003a).

The cell's firing threshold (i.e., the membrane potential for which the cell begins to fire action potentials) was measured as the potential reached by the neuron at the threshold of the first spike triggered by a slow, depolarizing current ramp (0.06 nA/s). In each cell, the presence and duration of long-lasting, subthreshold plateau potentials were determined. These plateau potentials were elicited by low-amplitude (0.1–0.2 nA), short-duration (10 ms) current pulses, while the neurons were hyperpolarized just below their firing threshold (Babalian et al. 1997; Serafin et al. 1991a,b).

Quantitative determination of the neuronal type

In previous publications, MVN neurons were classified as type A, B, B+LTS, and C neurons using only qualitative criteria. To assess reliably the long-term effects of unilateral labyrinthectomy on ipsi-

and contralesional MVNn, quantitative, objective criteria were developed to classify intracellularly recorded MVN neurons as briefly explained below (for a complete description see Beraneck et al. 2003a).

The first derivative of the averaged spike profile of each neuron was used to assess (in V/s) the A-like rectification and double AHP, the 2 main criteria previously used for the qualitative classification. All MVNn showing an A-like rectification with an amplitude <0.15 V/s were classified as type B neurons. The type B+LTS MVNn formed a subtype of these type B neurons showing low-threshold calcium spikes when released from a strong hyperpolarization. The MVNn that had an A-like rectification stronger than 0.15 V/s and no double AHP were classified as type A neurons. The few MVNn that showed both a double AHP and an A-like rectification >0.15 V/s were considered as type C neurons.

These criteria were previously used by Beraneck et al. (2003a) to classify and compare the neurons recorded on slices taken from normal animals (control slices), and on the ipsilesional side of slices taken from animals labyrinthectomized 1 mo before. The MVNn recorded in control slices included 47% type A neurons, 50% type B neurons (of which 9% were type B+LTS neurons), and 3% type C neurons.

Measurement of the input resistance of MVNn using current steps

The passive input resistance of each neuron was assessed using a series of hyperpolarizing current steps (1-s duration) of decreasing amplitudes. The cell was maintained by a steady-state hyperpolarization at a few mV (0–10) below its threshold for discharge. The whole cell resistance for each MVNn (input resistance = voltage deflection/current input) was estimated from the final steady-state amplitude of the hyperpolarizing steps.

Stimulation with depolarizing ramp currents

Increasing ramp currents of 0.3 nA amplitude were applied at 5 different slopes up to a final steady-state value, leading to a proportionate increase in the firing rate above the resting spontaneous activity (for details see Beraneck et al. 2003a). The slope of increase of the instantaneous firing rate of the cell (k_{IF} in spikes $\cdot$ $s^{-1} \cdot nA^{-1}$) was estimated during the depolarizing, ramplike portion of the applied current (Fig. 1*A*). The difference between the firing rate reached at the end of the applied depolarizing current and the final, stable discharge rate reached at the end of the plateau was measured as an overshoot in spikes/s (Fig. 1*A*). To assess how the level of polarization influenced the responses, the whole sequence of ramp stimulations was repeated from a hyperpolarized level of about 10 mV below the firing threshold. Of the 5 ramps applied to each cell, the 600-ms (slope of 0.5 nA/s) and 200-ms ramps (slope of 1.5 nA/s) gave the most significant results and were taken as the main indices of the response of MVNn to ramplike currents.

Sinusoidal current injections

A third series of stimuli consisted of current sine waves applied for 5,000 ms at frequencies ranging from 0.2 to 50 Hz (du Lac and Lisberger 1995; for details see Ris et al. 2001). The amplitude of the stimulus (ΔI, Fig. 1*B*) was adjusted to keep the membrane potential variation around 10 mV peak to peak. The sinusoidal currents applied in the presence of resting spontaneous activity led to a significant modulation of the firing rate. For each frequency of stimulation below or equal to about one third of the neuron's resting discharge, the modulation of the instantaneous firing rate (IF) of MVNn was fitted with a sine wave that was used to calculate the amplitude and phase of the IF modulation (ΔIF, Fig. 1*B*). When the frequency of stimulation passed a third of the neuron's firing rate, the amplitude of the IF modulation was calculated empirically as the difference between the minimum and maximum IF reached by the neuron during the stimulation. No phase measurements were made in this situation. The underlying membrane potential excursion (ΔV) was computed by a Fourier analysis of the total membrane potential response (Fig. 1*B*). The magnitude of the Fourier component corresponding to the stimulation frequency was taken as the potential response. ΔIF and ΔI were used to evaluate at 0.4 Hz the cell sensitivity to current injection by dividing ΔIF by the amplitude of the injected current (ΔIF/ΔI in spikes $\cdot$ $s^{-1} \cdot nA^{-1}$). The sensitivity of the firing rate of the cell to variations of the mean membrane potential ΔIF/ΔV was also measured, in spikes $\cdot$ $s^{-1} \cdot mV^{-1}$. The "active" impedance Z of the cell was calculated as the amplitude of the membrane potential change obtained for the 0.4-Hz stimulus divided by the amplitude of the injected current (ΔV/ΔI in MΩ). In general, a spike rate transfer function can be defined for each neuron as the ratio ΔIF/ΔI versus the stimulation frequency. In most experiments, a similar series of sinusoidal stimuli was given while the cell was maintained at a depolarized membrane potential by a steady-state current stimulation of 0.15–0.25 nA.

Most of the cells were also submitted to the same series of sinusoidal current injections while they were maintained at 10 to 20 mV below their disharge threshold, so that no spike was evoked by the stimulation. The amplitude and phase of the membrane potential change (ΔVh) was computed for each frequency, and the response to the 0.4-Hz stimulus was used to evaluate the impedance Zh of the cell maintained under a steady-state hyperpolarization (Zh = ΔVh/ΔI in MΩ). An impedance transfer function can be defined for each neuron as the ratio ΔVh/ΔI versus the stimulation frequency.

For each MVNn, the modulation of the firing rate (i.e., the amplitude of the spike rate transfer function) increased with stimulation frequency to reach a maximum at the peak frequency of resonance. Then, the modulation progressively decreased to lower levels. The "amplitude" of the resonance was defined as the ratio between the amplitude of the firing rate modulation at the peak frequency of resonance and the amplitude obtained at the lowest frequency (0.2 Hz). When the neurons were hyperpolarized to suppress action potentials, the amplitude of the resonance was measured for the membrane potential response. Both the impedance and spike rate transfer functions showed a small phase lead with respect to the injected current at the lowest frequencies of stimulation, which decreased to zero and became a phase lag at higher frequencies (Beraneck et al. 2003a). For all MVNn, we could therefore define as the "zero-crossing frequency" the lowest frequency for which a phase lag was measured.

Statistical analysis

Data presented in this study were obtained from a database of 74 MVNn recorded on the contralesional side of slices taken from animals labyrinthectomized about 1 mo before (contralesional neurons). All mean values are presented with their SD. Statistical analysis was carried out using the Systat 8.0 software (SPSS, Chicago, IL). For each parameter, normality of the distributions was assessed using one-sample Kolmogorov–Smirnov tests, with significance set at $P \leq 0.05$. Statistical comparisons were achieved through either parametric (for normal distributions including a minimum of 15 samples) or otherwise nonparametric tests, with the threshold for significance set at $P \leq 0.05$. Type B + LTS neurons were pooled together with the other B neurons for analysis. ANOVA or the nonparametric Kruskal–Wallis ANOVA was first performed to search for differences between the average values obtained for type A and B neurons recorded in control slices, and on both sides of slices taken from labyrinthectomized animals (which defined 6 categories of neurons). Comparisons (2×2) between the cell groups were then performed using Student's *t*-test or the nonparametric Mann–Whitney *U*-tests. Paired parametric (ANOVA followed by paired *t*-test) or nonparametric tests (Friedman

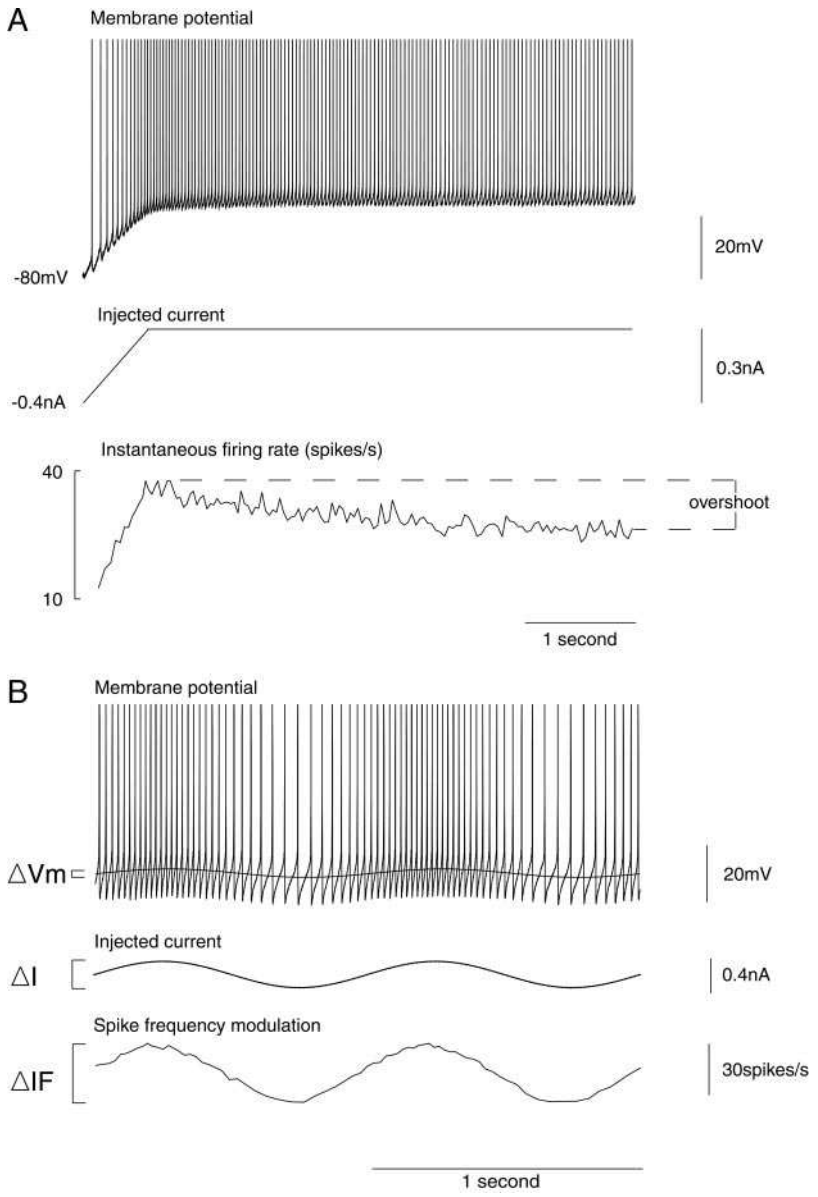


FIG. 1. Methods used to measure the firing rate responses of medial vestibular nucleus neurons (MVNn) to ramplike or sinusoidal current injection. *A*: typical example of a response evoked by a 600-ms ramp current of 0.3-nA amplitude delivered after steady-state hyperpolarization. Instantaneous firing rate was plotted to show how the overshoot was measured. *B*: typical example of a response to a 1-Hz sinusoidal current. ΔI is the amplitude of the injected current; ΔIF is the amplitude of the instantaneous firing rate response; ΔV is the amplitude of the mean membrane potential modulation underlying the firing rate response. All spikes shown were digitally clipped.

ANOVA followed by Wilcoxon signed-rank tests) were used to compare the responses evoked by ramps of different slopes, and to determine how the responses to ramps and sinusoidal currents were modified by the polarization level of the neurons.

RESULTS

Classification of contralesional MVNn based on action potential profiles

As described in METHODS, quantitative criteria were developed to categorize MVNn according to the measure of the A-like rectification and/or double AHP shown by each neuron (see METHODS; Beraneck et al. 2003a). Among the 74 contralesional MVNn we recorded (Fig. 2*A*), there were 20 type A neurons (27.0%) and 53 type B neurons (71.6%). Four of the type B neurons (7.5%) displayed low-threshold calcium spikes and were B+LTS MVNn. Only 1 contralesional MVNn (1.4%) was a type C neuron.

Compared with control slices, the proportions of the different types of neurons found in the contralesional MVN were significantly modified (Pearson chi-square test, $P = 0.007$, Fig. 2*B*). Although the number of type C cells stayed very low, there was an increase in the proportion of type B neurons matched by an equivalent decrease in the proportion of type A neurons. The proportion of B+LTS MVNn was not modified compared with control conditions (7.5 vs. 9.5%). Thus the ratio of type A to type B MVNn, which was roughly 1 in control conditions, changed to about 0.4 on the contralesional side after 1 mo of compensation. This contrasts with the ipsilesional side, where the proportion of type A MVNn tended to increase (Fig. 2*B*).

In addition, the parameters used to categorize MVNn, that is, the A-like rectification and the double AHP (Table 1) also confirmed these opposite changes between the 2 sides after 1 mo of compensation. The average measure of the double AHP of contralesional MVNn was multiplied by more than 2 compared with control MVNn ($P = 0.01$, Fig. 2*A*). In contrast, the double AHP of ipsilesional MVNn was divided by more than 2 compared with control conditions ($P = 0.01$; Beraneck et al.

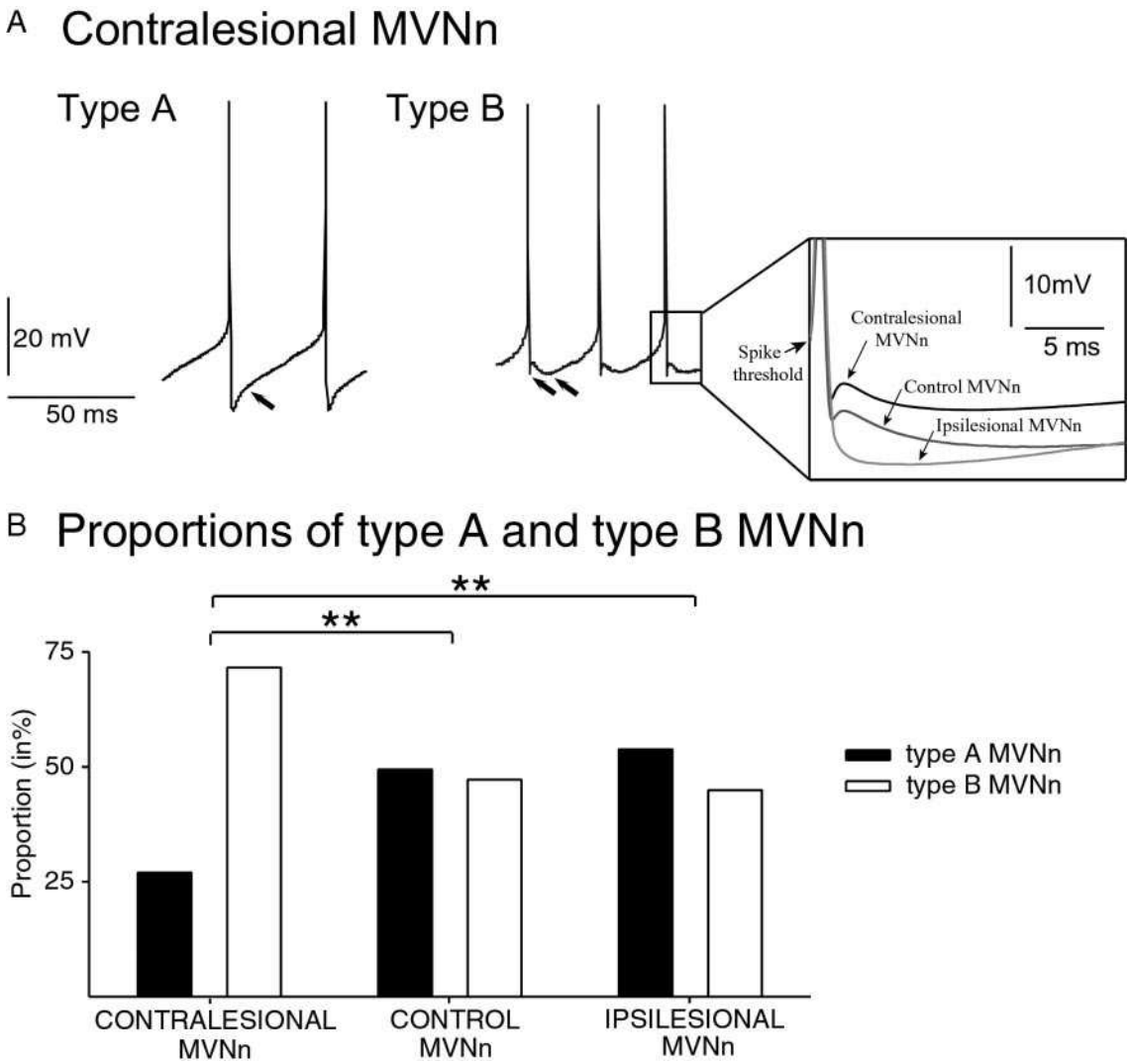


FIG. 2. Classification of MVNn after unilateral labyrinthectomy. *A*: spike profiles of typical type A and a type B MVNn recorded on the contralesional side of slices taken after 1 mo of vestibular compensation. Single arrow indicates the A-like rectification that characterizes type A MVNn. Double arrows indicate the fast and slow components of the double AHP typical of type B MVNn. *Inset* (on the *right*): superimposition at spike threshold of the typical averaged spike profiles obtained from type B neurons recorded in control slices, and on the contralesional and ipsilesional sides of slices after 1 mo of vestibular compensation. *B*: proportions of type A and type B neurons found among the MVNn recorded in control slices, and on the contralesional and ipsilesional sides of slices after 1 mo of vestibular compensation. Asterisks indicate significant differences between the different groups of MVNn ($P < 0.01$).

2003a). Whereas the double AHP of contralesional MVNn was increased, the average measure of their A-like rectification tended to decrease (Table 1) compared with control MVNn ($P = 0.08$), and was lower than that on the ipsilesional side (0.42 ± 0.58 V/s, $P = 0.02$).

In general, contralesional MVNn compared with control MVNn were characterized by an increased proportion of type B neurons, larger double AHPs and smaller A-like rectifications (Fig. 2). This is the opposite to that observed on the ipsilesional side (Beraneck et al. 2003a), that is, an increased proportion of type A neurons and a smaller double AHP.

Membrane potential and firing rate of contralesional MVNn

Contralesional MVNn had a mean resting membrane potential of -56.3 ± 5.4 mV (Table 1) and were slightly but significantly depolarized compared with control MVNn (-58.7 ± 8.5 mV, $P = 0.048$). This change was restricted to type B MVNn, whose resting membrane potential was depolarized by almost 5 mV ($P = 0.004$) compared with control type B neurons. The depolarization of contralesional type B neurons was accompanied by a significant depolarization of their firing threshold ($P = 0.003$, Table 1).

The mean resting discharge displayed by contralesional MVNn (24.8 ± 19.9 spikes/s) was similar to the one of control MVNn ($P = 0.56$, Table 1). Type A and B contralesional MVNn had the same mean resting discharge ($P = 0.68$). The increase in firing threshold that accompanied the depolarization of contralesional type B MVNn was consistent with the lack of an increase in their average firing rate. Interestingly, the distribution of the resting discharges of contralesional MVNn was modified compared with control slices (Fig. 3*A*). Specifically, 17.4% of the contralesional neurons were silent at rest (Fig.

TABLE 1. *Basic membrane and firing properties of control and contralesional MVNn*

Parameter	All Neurons		Type A		Type B	
	Control	Contralesional	Control	Contralesional	Control	Contralesional
Number of neurons	(n = 89)	(n = 74)	(n = 42)	(n = 20)	(n = 44)	(n = 53)
VM, mV	−58.7 ± 8.5	**−56.3 ± 5.4***	−56.8 ± 7.3	−56.8 ± 6.0	−60.8 ± 9.4	**−55.9 ± 5.1****
FR, spikes/s	26.2 ± 17.2	24.8 ± 19.9	29.1 ± 20.1	23.5 ± 21.2	24.3 ± 13.8	25.8 ± 19.5
CV, %	8.26 ± 9.48	6.70 ± 7.18	7.06 ± 9.61	6.33 ± 4.44	9.51 ± 9.59	6.82 ± 7.91
AHP, mV	16.8 ± 4.5	**14.8 ± 4.6***	19.6 ± 3.8	18.8 ± 4.6	14.0 ± 3.4	13.2 ± 3.6
Firing threshold, mV	−67.9 ± 10.5	**−61.9 ± 9.1****	−66.9 ± 10.7	−63.8 ± 9.8	−69.8 ± 10.7	**−61.5 ± 8.9****
Spike width, ms	1.15 ± 0.23	1.10 ± 0.18	1.25 ± 0.21	1.20 ± 0.16	1.06 ± 0.22	1.07 ± 0.18
Membrane resistance, MΩ	94.6 ± 45.3	86.2 ± 33.8	93.8 ± 39.9	93.9 ± 29.3	96.2 ± 54.9	84.7 ± 35.1
PNa^+, ms	33.5 ± 40.1	45.8 ± 74.0	15.2 ± 32.9	20.8 ± 42.7	56.9 ± 38.5	55.5 ± 81.5
A-like rect., V/s	0.36 ± 0.51	0.26 ± 0.48	0.72 ± 0.54	0.84 ± 0.62	0.02 ± 0.04	0.03 ± 0.05
Double AHP δ(dV/dt), V/s	0.38 ± 0.83	**0.85 ± 1.47****	0 ± 0	0 ± 0	0.73 ± 1.07	1.19 ± 1.63

Values are means ± SD. This table gives the values of the parameters characterizing the membrane and firing properties of all groups of control and contralesional MVNn. Asterisks indicate the values that are significantly different between the contralesional and control neurons. *$P < 0.05$, **$P < 0.01$, ***$P < 0.001$. In addition, the values that correspond to significant differences are shown in bold. The numbers of neurons shown at the top of the table apply to all parameters, except the firing threshold and membrane resistance. VM, resting membrane potential; FR, spontaneous firing rate; CV, coefficient of variation of the spontaneous firing rate; AHP, amplitude of the afterhyperpolarization; PNa^+, duration of the subthreshold plateau potentials.

3*B*), whereas silent neurons represented only 5.3% of MVNn in control conditions and 3.6% of ipsilesional MVNn. The proportion of silent neurons was 22.2% for contralesional type A MVNn and 14% for contralesional type B MVN neurons. Those silent contralesional neurons had more hyperpolarized resting membrane potentials (−60.5 ± 6.1 mV, $P = 0.008$), and more depolarized firing thresholds (−52.1 ± 3.9 mV, $P < 0.001$) than the other contralesional MVNn. In contrast, the proportion of neurons whose spontaneous firing rate ranged from 10 to 20 spikes/s was 11.6% among contralesional MVNn versus 23.7% among control MVNn (Fig. 3, *A* and *B*). The regularity of the spontaneous discharge of contralesional MVNn assessed by their average CV was not different from that of normal MVNn ($P = 0.31$, Table 1). There was no difference in the CV between type A and type B contralesional MVNn ($P = 0.78$), whereas in control slices the regularity of type A MVNn was significantly greater than that of type B MVN neurons. A similar disappearance of this difference in regularity was previously observed for ipsilesional neurons (Beraneck et al. 2003a).

Spike parameters, subthreshold plateau potentials, and input resistance

The afterhyperpolarization (AHP) of MVNn recorded on the contralesional side of slices after 1 mo of compensation had an average amplitude of 14.8 ± 4.6 mV (Table 1), and was significantly smaller than the AHP of MVNn recorded in control slices ($P = 0.016$). This decrease was related in part to the higher proportion of type B MVNn among contralesional neurons. Indeed, as on control slices, the AHP of contralesional type B MVNn was significantly smaller than that of type A neurons ($P < 0.001$). The decrease in the size of the AHP of contralesional MVNn was observed for both cell types, but was not significant when each type was considered individually ($P = 0.12$ for type A and $P = 0.15$ for type B MVNn). This decrease of the AHP of contralesional MVNn contrasts again with observations on the ipsilesional side where the size of the AHP of MVNn was higher than that in control slices (Beraneck et al. 2003a). In contrast, neither the amplitude nor the width of the spikes was modified compared with control MVNn (Table 1).

Subthreshold plateau potentials could be triggered in 23% of contralesional type A MVNn and 83% of contralesional type B MVN neurons. Neither the proportions of MVNn exhibiting subthreshold plateau potentials nor the duration of these plateau potentials was different from control values (Table 1).

Finally, the input resistance of contralesional MVNn measured with steps delivered in the presence of a steady-state hyperpolarization was 86.2 ± 33.8 MΩ (Table 1). It was similar to the one of control MVNn, but lower than that of ipsilesional MVNn ($P = 0.001$; Beraneck et al. 2003a).

Responses of contralesional MVNn to ramp currents

The basis of the change in the neuronal populations after a labyrinthectomy clearly lies in the intrinsic voltage-dependent conductances of vestibular neurons. Changes in these membrane properties can be demonstrated by probing the neurons with a range of ramp stimuli having different slopes providing low- and high-frequency stimulation. Contralesional type A MVNn showed significantly increased overshoots (Fig. 4*A*) and slopes of firing rate increase k_{IF} (Fig. 4*B*) in response to ramps delivered from rest. For the 600-ms ramp, the overshoot of contralesional type A MVNn increased nearly a factor of 3 compared with control type A MVNn ($P = 0.01$), and the k_{IF} increased by 33% ($P = 0.03$). Because the overshoots and slopes of contralesional type B MVNn did not increase significantly compared with control type B MVNn (Fig. 4), the significant difference observed between the overshoots of type A and type B MVNn in control slices disappeared. The k_{IF} measured on the 600-ms ramp became greater in type A than in type B contralesional MVNn ($P = 0.042$), which is the reverse of that observed in control slices where the k_{IF} of type A MVNn was lower than that of type B MVNn.

Interestingly, the slope of firing rate increase k_{IF} of contralesional type A MVNn was higher for the ramps delivered from rest than for those delivered from a hyperpolarized level (Fig. 5). A similar trend was observed for the overshoots, except for the 200-ms ramp. This contrasts with all other groups of MVNn recorded in control slices or on slices taken after 1 mo of compensation, for which the mean overshoots and k_{IF} measured on the ramps delivered from rest always tended to be

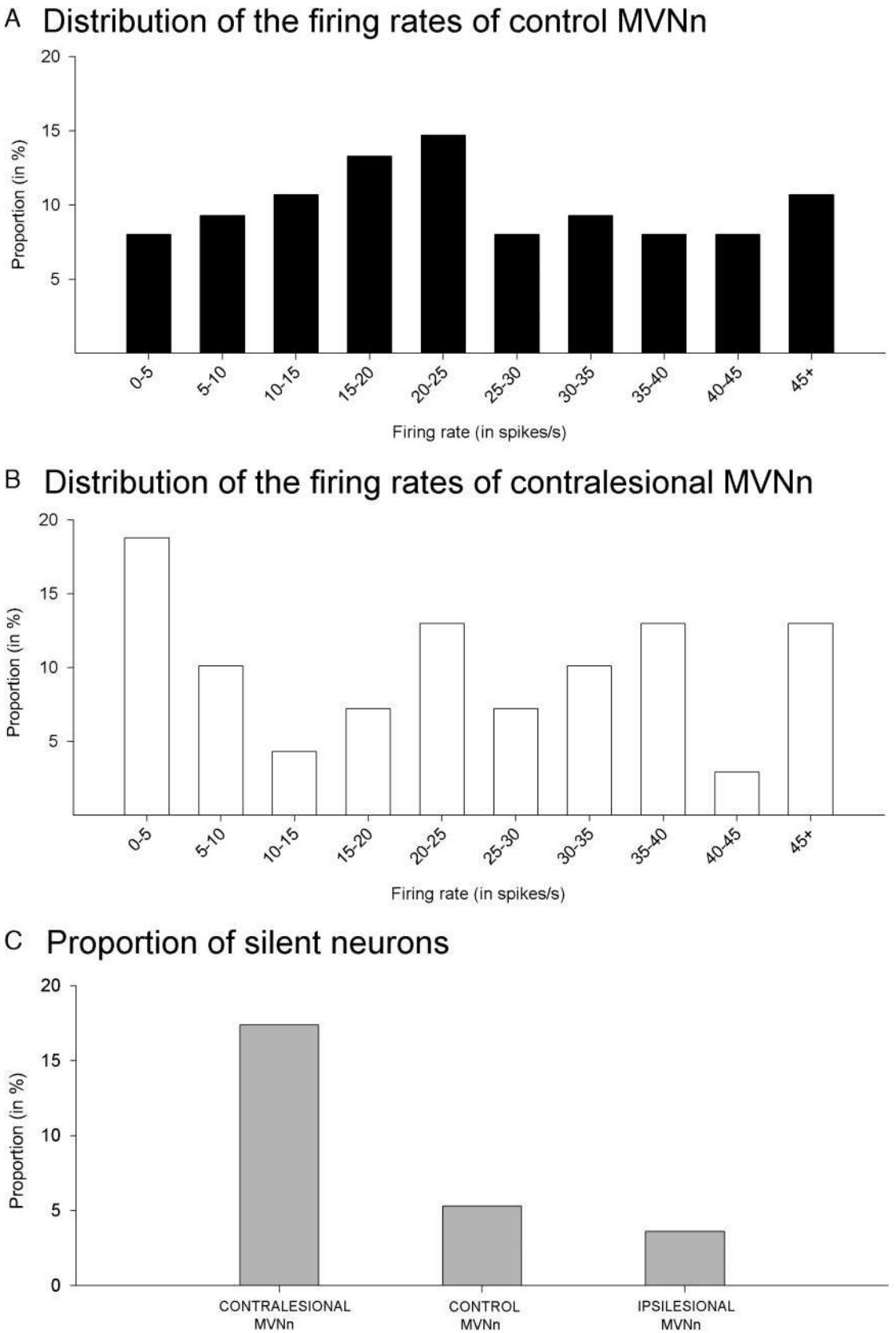


FIG. 3. Spontaneous activity of intracellularly recorded MVNn. *A*: histograms showing the distributions of the spontaneous firing rates obtained for control (A_1) and contralesional (A_2) MVNn. *B*: proportions of silent neurons recorded in control slices, and on the contralesional and ipsilesional sides of slices after 1 mo of vestibular compensation.

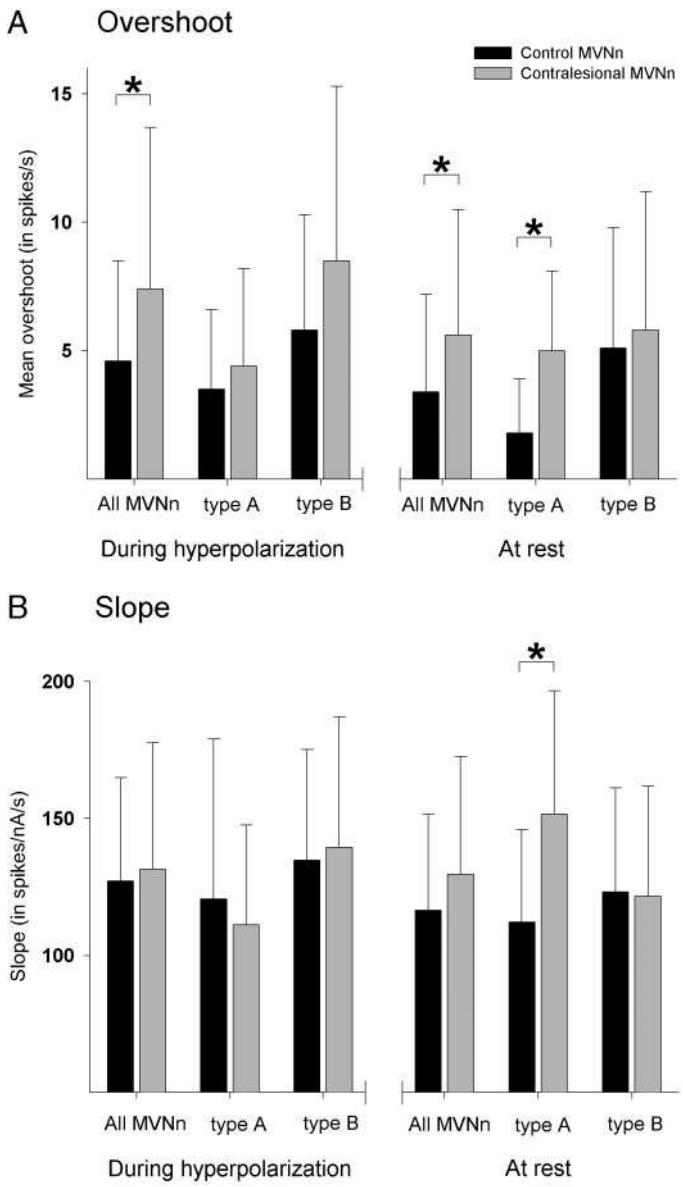


FIG. 4. Responses of MVNn to injection of 600-ms duration ramplike currents. *A*: mean overshoots obtained for control and contralesional MVNn after injection of a 0.5 nA/s ramplike current during steady-state hyperpolarization (on the *left*) or at the resting membrane potential (on the *right*). Asterisks indicate significant differences between control and contralesional MVNn ($P < 0.05$). *B*: mean slopes of increase k_{IF} of the firing rate vs. current obtained for control and contralesional MVNn after injection of a 0.5 nA/s ramplike current during steady-state hyperpolarization (*left*) or at the resting membrane potential (*right*). Asterisks indicate significant differences between control and contralesional MVNn ($P < 0.05$).

smaller (Beraneck et al. 2003a). This reveals a strong and unusual dependency of the sensitivity of contralesional type A MVNn on their membrane potential as revealed by high-amplitude ramp current stimulation (Fig. 5).

As suggested above, the modifications occurring in compensated MVNn appear to modify the voltage dependency of the ion channels responsible for spike discharge. This is illustrated by the lack of significant increases in the firing rate slopes for ramps elicited from hyperpolarized contralesional MVNn (Fig. 4*B*) compared with normal neurons. Nevertheless, the average overshoot (see Fig. 4*A*) evoked in contralesional MVNn by the 600-ms ramps delivered from a hyperpolarized level reached 7.4 ± 6.3 spikes/s and was increased compared with control conditions ($P = 0.015$, Fig. 4*A*). Because as in control slices, the overshoot of contralesional type B MVNn was greater than that of type A MVNn ($P = 0.04$, Fig. 4*A*), this increase was attributed in part to the higher proportion of type B MVNn among contralesional neurons. However, there was also a strong trend for the overshoot of contralesional type B MVNn to be higher than that in control type B MVNn ($P = 0.09$). In contrast, no significant change was observed for the overshoot elicited by the 200-ms ramp delivered from a hyperpolarized level in either type A or type B contralesional MVNn, possibly because the adaptive changes had reached some maximum value.

The increased overshoot displayed by contralesional MVNn in response to ramps is similar to that observed on the ipsilesional side (Beraneck et al. 2003a). However, the strong and selective increase of the k_{IF} of contralesional type A MVN for the ramps delivered from rest is specific to the contralesional side.

Impedance functions of contralesional MVNn measured with sinusoidal currents delivered during steady-state hyperpolarization and in the absence of action potentials

When measured at 0.4 Hz, the impedance of hyperpolarized contralesional MVNn decreased by 31% compared with control MVNn ($P = 0.001$, Table 2). This decrease was significant for all frequencies of sinusoidal stimulation from 0.2 to 50 Hz (Fig. 6A_1). This reflected a selective decrease of the impedance of contralesional type B MVNn, which was significantly lower than that of control type B MVNn (Fig. 7B_1) as well as contralesional type A MVNn over the whole range of frequencies tested (Table 2, Fig. 7). The decreased impedance of contralesional type B MVNn was not associated with any change in the peak frequency or amplitude of the resonance (Table 2). However, there was a selective increase of their zero-crossing frequency (Table 2), which reached a median value of 0.8 Hz instead of 0.3 Hz for control type B MVNn ($P = 0.02$). In accordance with this increase, contralesional type B MVNn displayed significantly bigger phase leads at low frequencies ($P = 0.035$ at 0.6 Hz) and smaller phase lags at intermediate frequencies ($P = 0.02$ at 2 Hz). In contrast, neither the phase nor the amplitude function of contralesional type A MVNn was modified compared with control conditions. These findings suggest that the marked decrease in the impedance of contralesional type B MVNn could be a result of the potentiation of a current activated during hyperpolarization.

The selective decrease in the impedance of contralesional type B MVNn neurons during steady-state hyperpolarization followed the trend previously observed for ipsilesional type B MVNn, but was more pronounced on the contralesional side. The increased zero-crossing frequency and associated phase changes obtained for contralesional type B MVNn were also observed on the ipsilesional side. However, the peak frequency of resonance of contralesional type B MVNn was not modified, contrary to findings on the ipsilesional side.

Impedance and spike rate transfer functions of contralesional MVNn: amplitude functions

The active impedance, Zrest, of contralesional MVNn measured at their resting membrane potential (45.8 ± 35.8 MΩ at

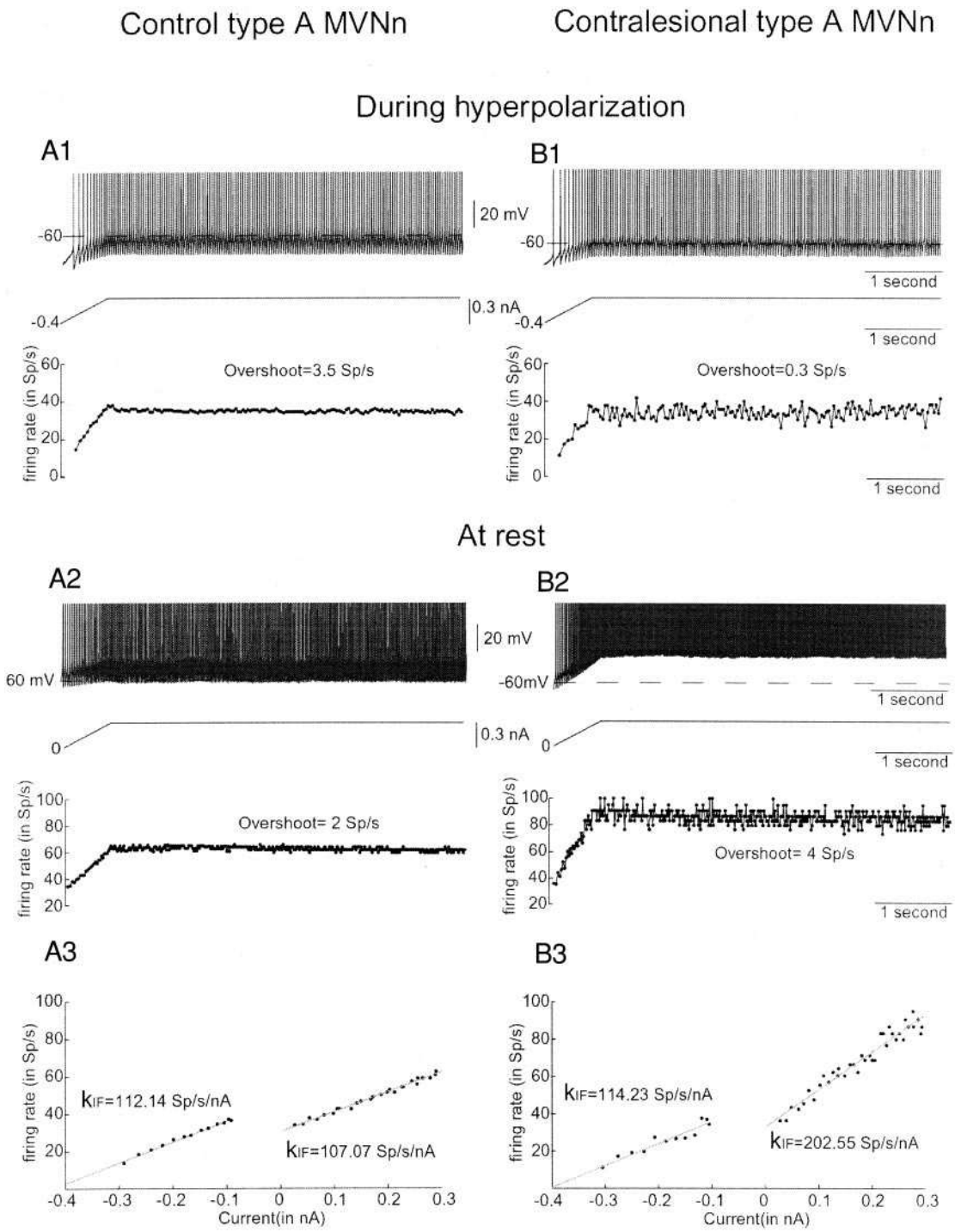


FIG. 5. Examples of responses of type A MVNn to 600-ms duration ramplike currents. *A*: typical membrane potential and firing rate responses of a type A control MVNn to injection of a 0.5 nA/s ramp current after hyperpolarization (A_1) or at rest (A_2). A_3: slopes of increase of the neuron's firing rate k_{IF} obtained in each case. *B*: typical membrane potential and firing rate responses of a type A contralesional MVNn to injection of a 0.5 nA/s ramp current after hyperpolarization (B_1) or at rest (B_2). B_3: slopes of firing rate increase k_{IF} obtained in each case. Note the higher k_{IF} obtained at rest.

0.4 Hz) was decreased by 22% compared with control MVNn (58.5 ± 33.9 MΩ, $P = 0.01$, Table 3). This decrease was observed at rest for both type A (−30%, $P = 0.02$) and type B (−24%) contralesional MVNn, in contrast to being restricted to type B neurons at hyperpolarized potentials (Table 3). During steady-state depolarization, the active impedance of contralesional MVNn decreased by 19% compared with control MVNn (but $P = 0.13$ only, Table 3).

In addition to this general decrease of their active impedance, the sensitivity ΔIF/ΔI of the discharge of contralesional MVNn to applied current increased compared with control MVNn, both at rest and during depolarization. This increase of

TABLE 2. *Membrane potential responses of MVNn to sinusoidal currents delivered during steady-state hyperpolarization, in the absence of action potentials*

Parameter	All Neurons		Type A		Type B	
	Control	Contralesional	Control	Contralesional	Control	Contralesional
Number of neurons	(n = 24)	(n = 48)	(n = 13)	(n = 12)	(n = 10)	(n = 35)
Zh, MΩ	131.2 ± 58.7	**90.8 ± 40.5****	127.9 ± 49.6	114.0 ± 39.5	140.7 ± 71.5	**83.9 ± 38.4****
Amplitude of resonance	1.18 ± 0.12	1.17 ± 0.17	1.19 ± 0.11	1.10 ± 0.07	1.17 ± 0.15	1.20 ± 0.20
Median peak f of resonance, Hz	1	1	1	1	0.7	0.8
Zero-crossing, Hz	0.4	0.8	0.4	0.8	0.3	**0.8***

Values are means ± SD. This table gives the values of the parameters characterizing the responses of contralesional and control MVNn to sinusoidal currents delivered during steady-state hyperpolarization. Asterisks indicate the values that are significantly different between the contralesional and control neurons. *$P < 0.05$, **$P < 0.01$, ***$P < 0.001$. In addition, the values that correspond to significant differences are shown in bold.

the average sensitivity of MVNn to current injection was either significant ($P \leq 0.05$) or visible as a strong trend (P values ranging from 0.05 to 0.1) for all frequencies of stimulation between 0.2 and 30 Hz at rest (Fig. 6B_1) and between 0.2 and 40 Hz during depolarization (Fig. 6C_1). As discussed in METHODS, this sensitivity is a spike rate transfer function of the MVNn firing rate modulation relative to the current input for the entire range of stimulation frequencies used. As a rule, the sensitivity of the discharge of contralesional MVNn to applied current increased more for type A than type B MVNn, particularly at low frequencies (Table 3, Fig. 7). Indeed, the sensitivity of type A MVNn to applied current was significantly increased for most frequencies between 0.2 and 20 Hz at rest (Fig. 7A_2), and between 4 and 50 Hz during depolarization. In contrast, the sensitivity of contralesional type B MVNn was increased only for high frequencies of stimulation ranging from 12 to 20 Hz at rest, and from 12 to 40 Hz during depolarization (Fig. 7B_2). Altogether, the significant difference in sensitivity to current that was observed between type A and type B control MVNn (Beraneck et al. 2003a) disappeared.

The increased sensitivity of the discharge of contralesional MVNn (ΔIF/ΔI) to current injection combined with the decrease in their active impedance (ΔV/ΔI) means that there was a strong increase in the sensitivity of their discharge relative to the membrane potential ΔIF/ΔV, both at rest and during depolarization. At 0.4 Hz, ΔIF/ΔV increased by 51% at rest ($P = 0.004$, Table 3), and by 57% during steady-state depolarization ($P = 0.025$). This increased sensitivity of contralesional neurons to membrane potential was observed for both types of MVNn (Table 3).

The amplitude of the resonance shown by contralesional MVNn was not modified compared with control values, either at rest or during steady-state depolarization (Table 3), nor was the peak frequency of resonance of contralesional type A MVNn. However, the median peak frequency of resonance of contralesional type B MVNn tended to increase (Table 3), and the significant difference between the peak frequency of resonance of type A and B MVNn observed in control slices (Beraneck et al. 2003a) was no longer present.

Interestingly, data from individual neurons demonstrated that most contralesional MVNn did not show the gradual decrease of the modulation of their firing rate by current injection usually observed for control and ipsilesional MVNn after the peak frequency of resonance (Beraneck et al. 2003a). In contrast, the modulation of spontaneous firing stopped rather abruptly, given that at higher frequencies of stimulation contralesional MVNn tended to synchronize their firing with the depolarizing phase of sinusoidal current injections. This phenomenon, which was previously described for lateral vestibular nucleus neurons (Uno et al. 2003), was observed for both types of contralesional MVNn.

Spike rate transfer functions of contralesional MVNn: phase functions

Just as active conductances can manifest themselves as a resonance in amplitude functions, phase functions show a phase lead at low frequencies, then cross zero near the peak resonant frequency, and finally show a phase lag that increases with higher frequencies. Compared with control MVNn, the phase functions of the firing rate modulation displayed by contralesional type A and type B MVNn were significantly modified. The median zero-crossing frequency of contralesional MVNn reached 3 Hz instead of 1 Hz at rest and 4 Hz instead of 1 Hz under steady-state depolarization (Table 3, $P < 0.001$ in both cases). Significant phase shifts toward higher phase leads and smaller phase lags were associated with this shift of the zero-crossing frequency. For the whole sample of contralesional MVNn, there was a significant change of the phase function for most frequencies of stimulation between 0.4 and 10 Hz at rest (Fig. 6B_2) and for all frequencies between 4 and 20 Hz under steady-state depolarization (Fig. 6C_2). The changes in phase functions were more important in type A than in type B MVNn. Indeed, the zero-crossing frequency of contralesional type A MVNn reached 6 Hz instead of 1 Hz in control slices at rest ($P = 0.001$) and 7 Hz instead of 2 Hz during steady-state depolarization ($P = 0.009$). As a result, the zero-crossing frequency of contralesional type A MVNn was higher than that of contralesional type B MVNn (Table 3), whereas the phase functions of control type A and type B MVNn were similar. Contralesional type A MVNn also displayed significantly larger phase leads and smaller lags than those of contralesional type B MVNn for frequencies of stimulation between 2 and 20 Hz at rest, and 2 and 30 Hz during depolarization.

Responses of contralesional MVNn to sinusoidal currents delivered in the presence of action potentials: comparison with the ipsilesional side

The increased sensitivity of the firing rate of contralesional MVNn to current was similar to that observed on the ipsilesional side (Beraneck et al. 2003a), but was associated with a

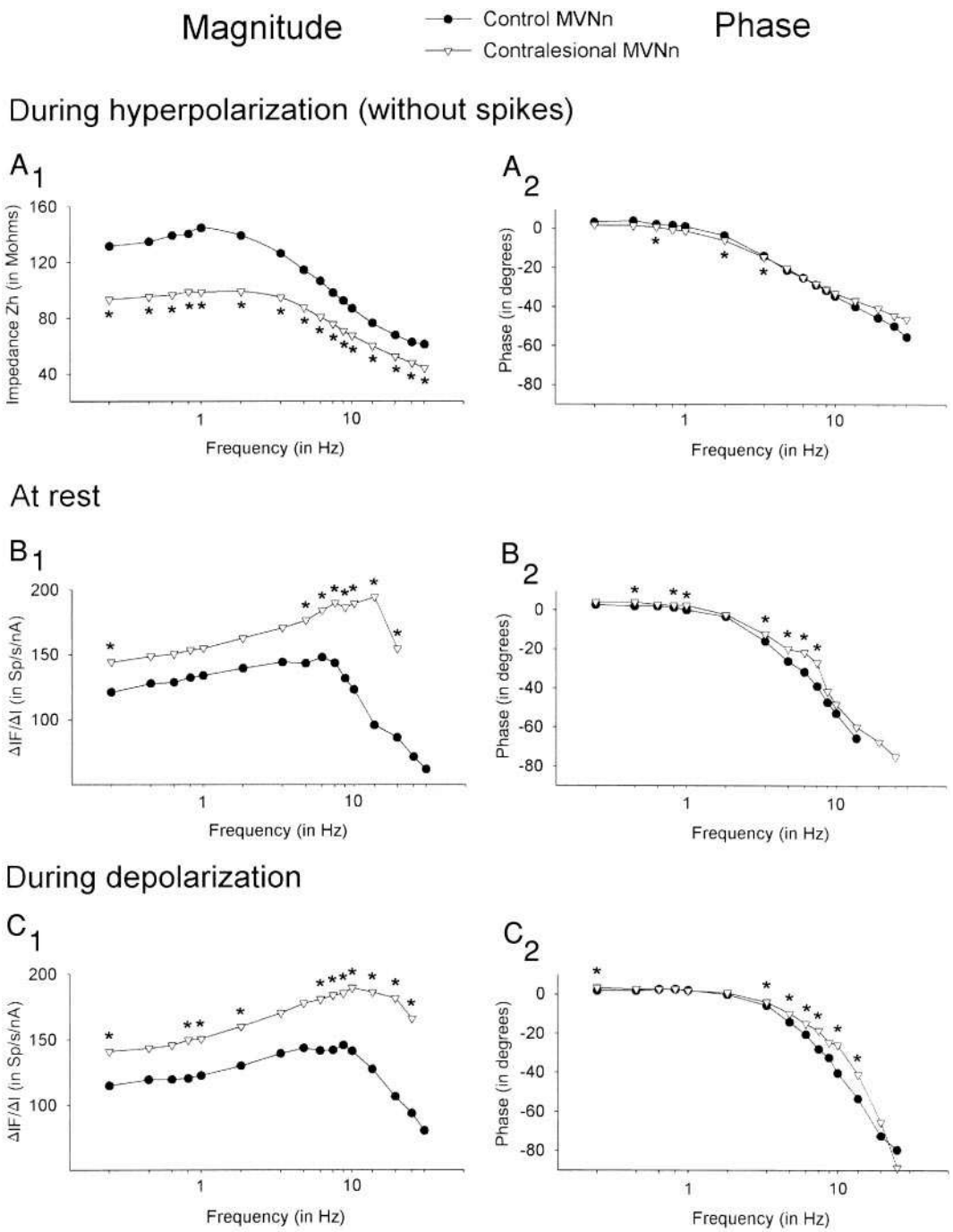


FIG. 6. Summary of the mean magnitude and phase of the membrane potential or firing rate modulations induced in MVNn by sinusoidal current stimulation. *A*: mean magnitude (A_1) and phase (A_2) of the membrane potential modulation shown by control and contralesional MVNn during steady-state hyperpolarization (in the absence of action potentials) as a function of the stimulation frequency. Because the amplitude of the injected current was constant for any given neuron, the membrane potential modulation is given as the impedance Zh of the cell (ΔVh/ΔI) as a function of frequency. *B*: mean magnitude (B_1) and phase (B_2) of the firing rate modulation (ΔIF/ΔI) shown by control and contralesional MVNn at their resting membrane potential as a function of the stimulation frequency of the sinusoidal current injection. *C*: mean magnitude (C_1) and phase (C_2) of the firing rate modulation (ΔIF/ΔI) shown by control and contralesional MVNn during steady-state depolarization as a function of the stimulation frequency. In all cases, SDs have been omitted for the sake of clarity. Asterisks indicate the values obtained on contralesional MVNn that were significantly different from those obtained in control neurons ($P < 0.05$).

stronger increase of the sensitivity of the discharge of contralesional MVNn to membrane potential (ΔIF/ΔV). Although a shift of the zero-crossing frequency was not observed on the ipsilesional side, ipsilesional MVNn did show a slight shift of their phase function and had larger phase leads and smaller phase lags compared with those of control MVN neurons. In general, the modifications of the phase functions were small for ipsilesional MVNn compared with those of contralesional MVNn. In addition, the most pronounced phase effects were on type A MVNn on the contralesional side, whereas they were

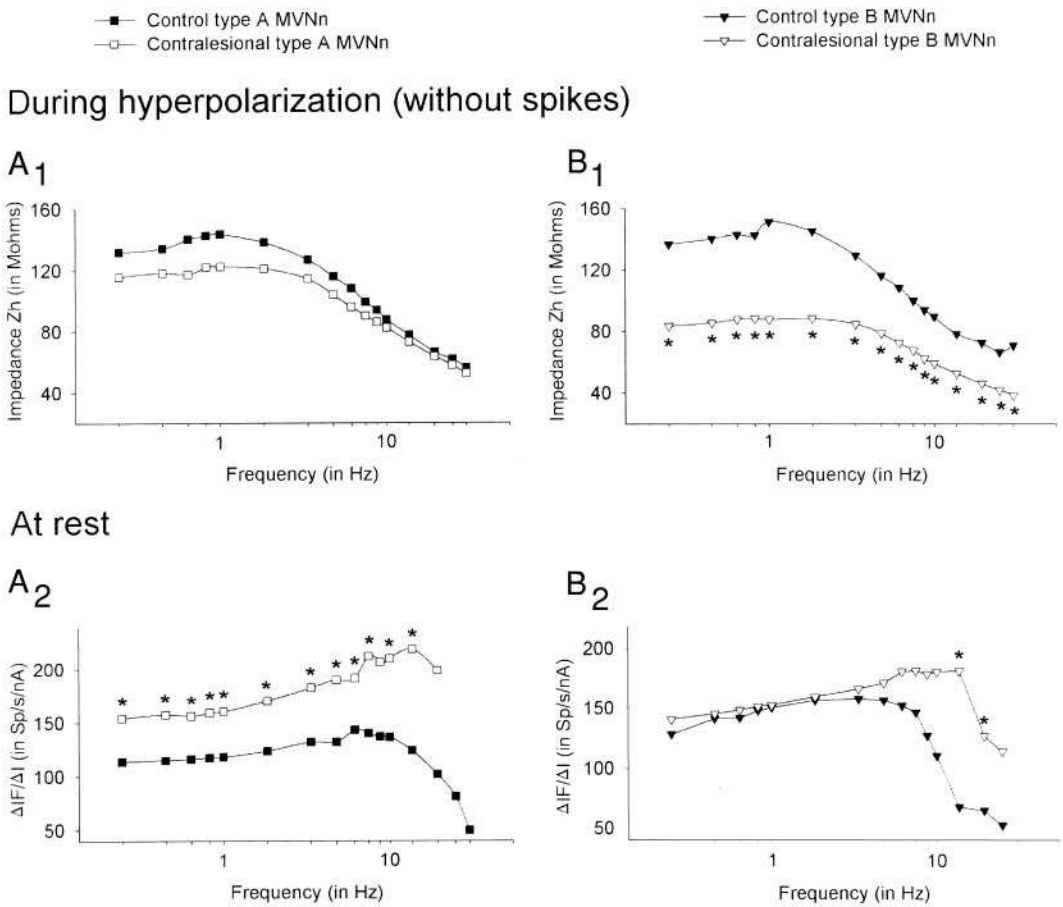


FIG. 7. Summary of the mean amplitude of the membrane potential or firing rate modulations induced in type A and type B MVNn by sinusoidal current stimulation. *Top 2 panels*: mean magnitude of the membrane potential modulation shown by type A (A_1) and type B (B_1) control and contralesional MVNn during steady-state hyperpolarization (in the absence of action potentials) as a function of the stimulation frequency. Because the amplitude of the injected current was constant for any given neuron, the membrane potential modulation is given as the impedance Zh of the cell ($\Delta Vh/\Delta I$) as a function of frequency. *Bottom 2 panels*: mean amplitude of the firing rate modulation ($\Delta IF/\Delta I$) shown by control and contralesional type A MVNn as a function of the stimulation frequency, at rest (A_2) and during steady-state depolarization (B_2). In all cases, SDs have been omitted for the sake of clarity. Asterisks indicate the values obtained on contralesional MVNn that were significantly different from those obtained in control neurons ($P < 0.05$).

TABLE 3. *Responses to sinusoidal currents delivered in the presence of action potentials*

	All Neurons		Type A		Type B	
Parameter	Control	Contralesional	Control	Contralesional	Control	Contralesional
Number of neurons	(n = 48)	(n = 43)	(n = 23)	(n = 10)	(n = 23)	(n = 33)
Zrest, MΩ	58.5 ± 33.9	**45.8 ± 35.7***	57.5 ± 20.9	**40.0 ± 31.2***	62.4 ± 43.6	47.5 ± 37.3
ΔF/ΔI rest, Sp/s/nA	130.5 ± 48.1	150.1 ± 52.7	116.2 ± 43.8	**150.9 ± 31.0***	145.1 ± 50.7	149.9 ± 58.1
ΔF/ΔV rest, Sp/s/mV	3.08 ± 2.05	**4.66 ± 3.12****	2.48 ± 1.35	**5.65 ± 3.52****	3.34 ± 1.82	4.36 ± 2.98
Amplitude of resonance at rest	1.31 ± 0.23	1.32 ± 0.30	1.28 ± 0.22	1.31 ± 0.19	1.35 ± 0.24	1.33 ± 0.33
Median peak f of resonance at rest, Hz	6	8	8	9	4	6
Zero crossing at rest, Hz	1	**3*****	1	**6****	1	2*****
Number of neurons	(n = 24)	(n = 35)	(n = 11)	(n = 8)	(n = 12)	(n = 27)
Zdepo, MΩ	47.9 ± 36.4	38.6 ± 41.1	46.8 ± 39.0	39.8 ± 32.2	49.7 ± 37.1	38.2 ± 44.0
ΔF/ΔI depo, Sp/s/nA	119.0 ± 38.1	**144.2 ± 51.9***	113.2 ± 34.2	149.5 ± 46.0	125.8 ± 43.2	142.7 ± 54.3
ΔF/ΔV depo, Sp/s/mV	3.96 ± 2.65	**6.23 ± 3.95***	4.44 ± 3.41	6.1 ± 4.04	3.64 ± 1.89	**6.27 ± 4.01****
Amplitude of resonance at depo	1.38 ± 0.15	1.43 ± 0.3	1.42 ± 0.18	1.50 ± 0.32	1.35 ± 0.11	1.41 ± 0.29
Median peak f of resonance at depo, Hz	10	12	12	13	8	12
Zero crossing at depo, Hz	1	**4*****	2	**7****	1	**4****

Values are means ± SD. This table gives the values of the parameters characterizing the responses of contralesional and control MVNn to sinusoidal currents delivered in the presence of action potentials. Asterisks indicate the values that are significantly different between the contralesional and control neurons. *$P < 0.05$, **$P < 0.01$, ***$P < 0.001$. In addition, the values that correspond to significant differences are shown in bold.

practically restricted to type B MVNn on the ipsilesional side (Beraneck et al. 2003a).

DISCUSSION

Summary of the long-term effects of unilateral labyrinthectomy on contralesional MVNn

The plasticity of intrinsic membrane properties is strikingly demonstrated in the nearly opposite changes observed in the excitability of ipsilesional and contralesional vestibular neurons after a unilateral labyrinthectomy. These complementary modifications are even apparent in the distributions of particular populations of neurons based solely on action potential profiles, that is, type A and B neurons described previously (Beraneck et al. 2003a). After 1 mo of vestibular compensation (Fig. 8), there was a strong increase in the proportion of type B MVNn and a concomitant decrease in the proportion of type A MVNn among contralesional neurons. The AHP of contralesional MVNn decreased, in contrast to the increase observed on the ipsilesional side. The dynamic responses of contralesional MVNn (i.e., spike rate transfer functions) were also modified. Although the active impedance of contralesional MVNn was decreased, the amplitude of the spike rate modulation increased. These findings are consistent with an increase in active voltage-dependent conductances manifested by an increase in the sensitivity of the discharge of contralesional MVNn to membrane potential, $\Delta IF/\Delta V$. There was also a significant phase shift toward greater phase leads and smaller lags over the observed frequency range. In general, the dynamic responses of contralesional type A MVNn were more modified than those of type B MVNn, in contrast to that observed on the ipsilesional side. In both cases, the response dynamics of MVN neurons became more homogeneous than in the control situation (Fig. 8).

Origin of the changes in the membrane and firing properties of contralesional MVNn induced by unilateral labyrinthectomy

There is a wide range of examples in the literature in which unilateral peripheral lesion produces bilateral effects (for review see Koltzenburg et al. 1999). The contralesional effects are usually qualitatively similar to those that occur on the ipsilesional side but often of different magnitude. The putative neuronal mechanisms include the release of trophic signals during stressful conditions, or altered patterns of neuronal activity attributed to the compensatory behavior of the animal. Gacek et al. (1996) demonstrated in cats that contralateral labyrinthectomy was followed by significant morphological changes of the superior vestibular nucleus neurons, including a decrease in cell size. Whether these morphological changes occur in the guinea pig and are linked to the modifications of the membrane properties we observed remains an open question. Supporting the trophic factor hypothesis, other studies by the same authors using knock-out mice suggest that neurotrophin 3 might be involved (for review see Gacek et al. 1998).

	Parameters	CONTRALESIONAL MVNn	IPSILESIONAL MVNn
At rest	Proportion type A	↓↓	↑
	Proportion type B	↑↑	↓
	A-like rectification	↓	=
	Strenght of the double AHP (type B)	↑	↓↓
	AHP amplitude	↓	↑↑ type B only
	Proportion of Silent neurons	↑	=
	Firing rate	=	↑ type B only
	Resting potential	↑ type B only	↑↑
	Firing threshold	↑ type B only	↑↑
	CV	=	↓ type B only
Current steps	Resistance	=	↑
Current ramps	Overshoot under hyperpolarization	↑	↑
	Current sensitivity under hyperpolarization	=	=
	Overshoot at rest	↑ type A only	↑ type A mainly
	Current sensitivity at rest	↑ type A only	↑
Sinusoidal Currents	Impedance under hyperpolarization	↓ type B only	=
	Impedance at rest	↓	=
	$\Delta IF/\Delta V$	↑↑	=
	$\Delta IF/\Delta I$	↑ type A mainly	↑ type B mainly
	Peak frequencies	=	↑ type B only
	Phase lead	↑↑ type A mainly	↑

FIG. 8. Summary of the main modifications of the contralesional and ipsilesional MVNn observed 1 mo after unilateral labyrinthectomy. This figure is an attempt to synthesize the main changes in the membrane properties and dynamic responses observed after 1 mo of vestibular compensation in either ipsilesional or contralesional MVNn. Upward and downward arrows indicate increases or decreases, respectively, compared with control conditions, whereas = indicates an absence of modification. Double arrows emphasize the strongest modifications.

Static membrane and firing properties of contralesional MVNn

A striking result of this study is the finding of an increase in the proportion of type B neurons among contralesional MVNn and a concomitant decrease in the proportion of type A neurons (Fig. 8). Because identical criteria were used to classify all contralesional, ipsilesional, or control MVNn, this change could not be the result of differences in the subjective assessment of neurons. The 2 experimenters who performed the recordings obtained similar ratios of type A to type B neurons. The proportion of cells that were silent at rest was similar among type A and B neurons, which indicate that there was no specific silencing of type A MVNn on the contralesional side.

Interestingly, on the ipsilesional side of slices taken after 1 mo of compensation, the proportion of type A neurons among MVNn tended to increase, whereas the remaining type B MVNn were modified and displayed more "type A–like" membrane properties (Beraneck et al. 2003a). In particular, the amplitude of the AHP of ipsilesional type B MVNn was selectively increased. Complementary modifications between the 2 sides were observed for the 2 parameters used to categorize MVNn (Fig. 8): A-like rectification (that characterizes type A MVNn) and double AHP (typical of B MVNn).

Serafin et al. (1991a), who used qualitative criteria to categorize MVNn in slices taken from normal guinea pig, obtained about 30–35% of type A, 50% of type B, and 15–20% of type C MVN neurons. The type C MVNn corresponded to those that showed "intermediate properties." Using the quantitative method of classification, most of the neurons previously considered as type C MVNn had no double AHP and an A-like rectification >0.15 V/s, and thus fell into the type A category. This led to an almost equal division of control MVNn between type A (47%) and B (50%) neurons (Beraneck et al. 2003a). We suggest that the changes in the ratio of type A to B MVNn observed on each side of the brain stem are linked mainly to modifications of the properties of these 20% of "intermediate" neurons that were qualitatively classified by Serafin et al. (1991a) as type C cells. On the ipsilesional side, the shift of MVNn toward more A-like properties did not significantly modify the ratio of type A to type B MVNn because most of the "intermediate" neurons that could have switched categories were already classified as type A MVNn in control slices. On the contralesional side in contrast, the shift of MVNn toward more B-like membrane properties, and in particular the decrease of the A-like rectification, led to a reclassification of the "intermediate" MVNn as type B neurons.

Thus our data suggest that during long-term postlesional plasticity, the intrinsic membrane properties of guinea pig MVNn can change in different ways, leading to a shift of the MVNn population toward either "A-like" (on the ipsilesional side) or "B-like" (on the contralesional side) properties. This is consistent with the "continuum theory" proposed by Du Lac and Lisberger (1995), which states that the membrane properties of MVNn are distributed between those of the 2 canonical A and B neuronal types. This "population shift" in the membrane properties that leads to substantial modifications of the ratio of type A to type B MVNn could depend on the species and/or the exact criteria used to categorize MVNn. In the rat and mouse, for instance (Dutia and Johnston 1998; Him and Dutia 2001; Johnston et al. 1994), contrary to the guinea pig, the type B MVNn make up the vast majority of the population and all show a double AHP during spontaneous firing.

Although long-term vestibular compensation induced a significant depolarization of the average resting membrane potential of ipsilesional MVNn, this effect was slight for contralesional MVNn and was restricted to type B cells (Fig. 8). In the rat (Him and Dutia 2001), an early depolarization of the ipsilesional, deafferented type B MVNn appears within the first week of compensation. This depolarization develops and extends progressively to type A neurons during the first month of compensation, consistent with findings in the guinea pig (see DISCUSSION in Beraneck et al. 2003a). Hence, the average resting membrane potential of both ipsilesional and contralesional type B MVNn appears to be more sensitive to unilateral labyrinthectomy (i.e., more dependent on the permanent activity of the vestibular sensory afferents than the resting potential of type A neurons).

The mean resting activity of contralesional MVNn was not modified compared with control slices, and tended to be less than that on the ipsilesional side (Fig. 8). The absence of a strong decrease in the spontaneous firing rate of the whole sample of MVNn contrasts with that found at the same stage of compensation using extracellular recordings (Vibert et al. 1999b). This discrepancy may be ascribed to the use of sharp electrode intracellular recording techniques, which may provoke an artificial increase of the neuronal firing rate (for a detailed discussion of that point see Beraneck et al. 2003a). However, it is noteworthy that the proportion of neurons silent at rest reached 17.5% among contralesional MVNn, and was thus higher than that obtained in control slices (5%) or on the ipsilesional side (3%). Accordingly, the proportion of contralesional MVNn whose spontaneous firing rate ranged from 10 to 20 spikes/s was half that of normal MVNn. This is consistent with both our extracellular study and that of Darlington et al. (1989), who observed in the guinea pig a marked decrease of the number of spontaneously active neurons on the contralesional side of slices 2 mo after the lesion.

After unilateral labyrinthectomy, the spontaneous discharge of contralesional MVNn recorded in vivo increases, before returning to normal in 1 wk (Ris and Godaux 1998). At the cellular level, the intrinsic depolarization of neurons that develops with time on the side of the lesion might partially sustain the spontaneous discharge that has been restored in deafferented MVNn (Beraneck et al. 2003a; Him and Dutia 2001). The increased proportion of silent and slowly discharging neurons in the MVNn could be the contralesional mirror of this phenomenon. The long-term plasticity of firing properties on the contralesional side might contribute to the decrease of the spontaneous discharge rate of contralesional MVNn observed in vivo, which should act to maintain the new balance of activity that is reached between both vestibular complexes 1 wk after the lesion (Ris and Godaux 1998).

The amplitude of the AHP of the whole population of contralesional MVNn decreased compared with control MVNn (Fig. 8), which should decrease the stability and regularity of their resting discharge. This and the increased sensitivity to membrane potential variations (see following text) should render contralesional MVNn more responsive to synaptic inputs (Babalian et al. 1997). On the ipsilesional side in contrast, there was an increase in the amplitude of the AHP of type B MVNn compared with control MVN neurons, which would

contribute to the stability of the spontaneous discharge that is restored in the deafferented MVNn during compensation (for discussion see Beraneck et al. 2003a). This suggests that after 1 mo of compensation, ipsilesional MVNn develop properties that maintain stable tonic activity, whereas contralesional MVNn become more sensitive to modulation of their activity by external inputs.

Dynamic response properties of contralesional MVNn

In contrast with the differential changes observed for the static membrane properties, the contralesional and ipsilesional MVNn showed rather similar changes of their responses to ramps of current compared with control MVNn (Fig. 8). The overshoot, which was higher in type B than in type A MVNn in control slices (Beraneck et al. 2003a; Ris et al. 2001), increased for both types of contralesional as well as ipsilesional MVNn for the ramps delivered during hyperpolarization. For the ramps delivered from rest, the increase of the overshoot occurred mainly in type A MVNn on the ipsilesional side, and was restricted to them on the contralesional side. The increased overshoot was associated with an augmentation of the slope of firing rate increase during the ramps. Thus on both sides, the MVNn recorded after 1 mo of compensation showed a higher sensitivity to large-amplitude current injections. Type A MVNn developed responses to ramp currents that resembled those normally seen in type B neurons (Fig. 5).

Consistent with these observations, we reported an increase, on both sides of the brain stem, in the sensitivity of the firing rate of neurons $\Delta IF/\Delta I$ to injection of sinusoidal currents (Fig. 8). On the ipsilesional side, this increased sensitivity was associated with a slight, nonsignificant increase in the sensitivity of the discharge of MVNn $\Delta IF/\Delta V$ to membrane potential. However, on the contralesional side, there was a marked and significant increase in the sensitivity of their discharge to membrane potential $\Delta IF/\Delta V$, which was presumably attributable to an increase of their voltage-dependent conductances, as indicated by the decrease in the active impedance $\Delta V/\Delta I$.

On both sides, the increased $\Delta IF/\Delta I$ was associated with a general phase shift of the responses toward greater phase leads and smaller phase lags, also suggesting a major involvement of voltage-dependent conductances (Fig. 8). On the ipsilesional side, this more active behavior might result from the fact that the resting membrane potential of MVNn was more depolarized than in control slices. However, this is not likely on the contralesional side, where only type B neurons were slightly depolarized. The fact that the phase shift was stronger on the contralesional side than on the ipsilesional side correlates with the greater dependency of the firing rate of contralesional neurons on the membrane potential ($\Delta IF/\Delta V$).

Although the neuronal properties at rest of contralesional type A MVNn were not different from those of control type A MVNn, their evoked responses were strongly modified. Interestingly, the amplitude of these changes depended on the level of their membrane potential. During steady-state hyperpolarization, contralesional and control type A MVNn showed very similar responses to sinusoidal current injections, whereas the active impedance of contralesional type B MVNn was already lower than normal. At rest or under steady-state depolarization, in the presence of action potentials, the sensitivity of type A contralesional MVNn to applied current was strongly increased and became very similar to that of type B neurons. Thus type A contralesional MVNn displayed enhanced dynamic properties and behaved like the phasic type B MVNn as soon as they discharged spikes. Interestingly, Uno et al. (2003) previously observed that, although the lateral vestibular nucleus neurons had membrane properties similar to a composite of type A and type B MVNn, they showed very different dynamic responses. Thus it appears that subtle changes in the membrane properties of central neurons are sufficient to strongly modify their dynamic responses.

When the amplitude of the firing rate modulation of contralesional MVNn by sinusoidal currents to increasing stimulation frequency reached the modulation limit imposed by their essentially constant spontaneous discharge rate, they tended to synchronize their discharge with high-frequency inputs more than control or ipsilesional MVN neurons. Interestingly, the control type B MVNn also show a better synchronization than that of the control type A MVNn (Ris et al. 2001).

Altogether, these data demonstrate that long-term plasticity after sensory deafferentation can lead to bilateral modifications of the membrane properties of central neurons. Most of the voltage-sensitive conductances expressed by neurons are potentially subject to persistent use-dependent modulation. In a recent review on intrinsic neuronal properties, Zhang and Linden (2003) suggested several specific K^+, Ca^{2+}, and Na^+ conductances as possible molecular substrates of long-term plasticity. In MVNn, recent studies by Du Lac and colleagues (Nelson et al. 2003; Smith et al. 2002) proposed that the level of intracellular calcium and the calcium-activated potassium conductances are major determinants of the excitability of MVN neurons.

Functional implications of the long-term changes of the membrane properties of contralesional MVNn during vestibular compensation

In vivo experiments on guinea pigs demonstrated that after unilateral labyrinthectomy, there is at first a similar decrease of the vestibulo-ocular responses triggered by head rotations directed toward either the lesioned or intact side (Gilchrist et al. 1998; Vibert et al. 1993). On the contralesional side, the decrease arises from the loss of the disinhibition normally coming from the deafferented side through commissural pathways. In guinea pigs, as in other vertebrates (Broussard et al. 1999b; Gilchrist et al. 1998; Lasker et al. 2000; Murai et al. 2003; Vibert et al. 1993), the vestibulo-ocular reflex triggered by rotations toward the contralesional side largely recovers within several weeks. In contrast with the behavior on the ipsilesional side, the quality of the recovery does not decrease with the amplitude of the movement, and high acceleration impulses directed toward the contralesional side trigger high-frequency responses similar to those obtained in intact animals. Many of the modifications of the membrane properties of contralesional MVNn reported here might be involved in this recovery. The increased sensitivity of the firing rate of neurons to membrane potential modulation and their smaller AHP should lead to more efficient responses of contralesional neurons to synaptic inputs. The increased sensitivity of the firing rate of contralesional MVNn to both ramplike and sinusoidal current stimulation was associated with a greater involvement of active conductances, which should increase both the efficacy

and frequency range of the neuronal responses. Altogether, the contralesional MVNn displayed a more phasic behavior than that of control MVNn. The proportion of the more phasic type B neurons among MVNn was increased, and the dynamic properties of the remaining tonic type A MVNn were strongly modified and resembled more those of type B neurons than in control slices. There was also an amplification of the nonlinear properties of MVNn such as the overshoot and synchronization capabilities. Contrary to changes on the ipsilesional side, where the type B MVNn tended to acquire the AHP and response dynamics of type A neurons (see DISCUSSION in Beraneck et al. 2003a), the ability of type B contralesional MVNn to respond to high-frequency, high-amplitude stimuli was not impaired.

In 1999 Minor et al. proposed a mathematical model of the vestibulo-ocular reflex dynamics where the system includes distinct linear and nonlinear pathways that would be mediated by different sensory vestibular afferents and central vestibular neurons. Based on their observations in the monkey and those of Broussard et al. (1999a,b) in the cat, Lasker et al. (2000) suggested that an extension of the nonlinear component of vestibular reflexes was responsible for the increase in contralesional gain after unilateral labyrinthectomy or canal plugging. This should apply to guinea pigs because the dynamics of the vestibulo-ocular reflex and the way they are affected by labyrinthectomy are similar in all mammalian species (Broussard et al. 1999b; Escudero et al. 1993; Gilchrist et al. 1998; Minor et al. 1999; Smith and Curthoys 1989). The changes observed on the contralesional side confirm at the cellular level the assumption of Lasker et al. (2000) concerning the enhancement of contralesional gain observed in vivo. It also strengthens the idea that in the intact MVN the tonic type A cells show relatively linear behavior, whereas the more phasic type B neurons have more marked nonlinear properties.

In conclusion, this study demonstrates that after 1 mo of vestibular compensation after unilateral labyrinthectomy, the properties of contralesional medial vestibular nucleus neurons (MVNn) are strongly modified. The increased proportion of silent neurons among contralesional MVNn might be involved in the permanent decrease of the spontaneous firing rate of MVNn observed during vestibular compensation in vivo. The marked improvement of vestibular related synergies observed in vivo for rotations toward the contralesional side could be sustained by the increased sensitivity of contralesional MVNn to current injection and membrane potential. The general shift of contralesional MVNn toward more B-like, phasic properties would explain the full recovery of vestibular responses triggered by high acceleration impulses directed toward the contralesional side.

Altogether, these data show that long-term vestibular compensation differentially affects ipsilesional and contralesional MVN neurons. However, the 2 sides continue to work synergistically. The 2 MVN switch from their normal "push–pull" mode of action to a system where the ipsilesional nucleus is mainly stabilizing the tonic activity responsible for normal posture, whereas the more dynamic responses of the contralesional nucleus allows more efficient modulation of this activity by the remaining sensory vestibular afferents.

GRANTS

This work was supported by grants from the French "Fond National pour la Science" (Action Concertée Incitative "Neurosciences Intégratives et Computationnelles") and from the Centre National d'Etudes Spatiales (National Center for Space Studies). M. Beraneck was supported by a grant awarded by the "Fondation pour la Recherche Médicale" (Bourse de Fin de Thèse FDT 20030627138). A. Uno was supported by the French Government (Boursier du Gouvernement Français) and the Osaka University Medical School while on leave from that institution.

REFERENCES

Allum JH and Ledin T. Recovery of vestibulo-ocular reflex-function in subjects with an acute unilateral peripheral vestibular deficit. *J Vestib Res* 9: 135–144, 1999.

Babalian A, Vibert N, Assie G, Serafin M, Muhlethaler M, and Vidal PP. Central vestibular networks in the guinea-pig: functional characterization in the isolated whole brain in vitro. *Neuroscience* 81: 405–426, 1997.

Beraneck M, Hachemaoui M, Idoux E, Ris L, Uno A, Godaux E, Vidal PP, Moore LE, and Vibert N. Long-term plasticity of ipsilesional medial vestibular nucleus neurons after unilateral labyrinthectomy. *J Neurophysiol* 90: 184–203, 2003a.

Beraneck M, Idoux E, Uno A, Vidal P-P, Moore LE, and Vibert N. Plasticité post-lésionnelle du système nerveux central adulte: étude électrophysiologique des propriétés membranaires des neurones vestibulaires contralatéraux à la lésion un mois après labyrinthectomie unilatérale. Abstract of the 6th Meeting of the Société des Neurosciences, Rouen, France, 2003b.

Brandt T. Management of vestibular disorders. *J Neurol* 247: 491–499, 2000.

Broussard DM, Bhatia JK, and Hong JA. The dynamics of the vestibulo-ocular reflex after peripheral vestibular damage. II. Comparison with dynamics after optically induced learning. *Exp Brain Res* 125: 365–374, 1999a.

Broussard DM, Bhatia JK, and Jones GE. The dynamics of the vestibulo-ocular reflex after peripheral vestibular damage. I. Frequency-dependent asymmetry. *Exp Brain Res* 125: 353–364, 1999b.

Carleton SC and Carpenter MB. Afferent and efferent connections of the medial, inferior and lateral vestibular nuclei in the cat and monkey. *Brain Res* 278: 29–51, 1983.

Cartwright AD and Curthoys IS. A neural network simulation of the vestibular system: implications on the role of intervestibular nuclear coupling during vestibular compensation. *Biol Cybern* 75: 485–493, 1996.

Chen-Huang C, McCrea RA, and Goldberg JM. Contributions of regularly and irregularly discharging vestibular-nerve inputs to the discharge of central vestibular neurons in the alert squirrel monkey. *Exp Brain Res* 114: 405–422, 1997.

Curthoys IS. Vestibular compensation and substitution. *Curr Opin Neurol* 13: 27–30, 2000.

Curthoys IS and Halmagyi GM. Vestibular compensation: a review of the oculomotor, neural, and clinical consequences of unilateral vestibular loss. *J Vestib Res* 5: 67–107, 1995.

Curthoys IS and Halmagyi GM. Vestibular compensation. *Adv Otorhinolaryngol* 55: 82–110, 1999.

Darlington CL and Smith PF. The recovery of static vestibular function following peripheral vestibular lesions in mammals: the intrinsic mechanism hypothesis. *J Vestib Res* 6: 185–201, 1996.

Darlington CL, Smith PF, and Hubbard JI. Neuronal activity in the guinea pig medial vestibular nucleus in vitro following chronic unilateral labyrinthectomy. *Neurosci Lett* 105: 143–148, 1989.

Devor A, Fritschy JM, and Yarom Y. Spatial distribution and subunit composition of GABA(A) receptors in the inferior olivary nucleus. *J Neurophysiol* 85: 1686–1696, 2001.

Dieringer N. "Vestibular compensation": neural plasticity and its relations to functional recovery after labyrinthine lesions in frogs and other vertebrates. *Prog Neurobiol* 46: 97–129, 1995.

du Lac S and Lisberger SG. Cellular processing of temporal information in medial vestibular nucleus neurons. *J Neurosci* 15: 8000–8010, 1995.

Dutia MB and Johnston AR. Development of action potentials and apamin-sensitive after-potentials in mouse vestibular nucleus neurones. *Exp Brain Res* 118: 148–154, 1998.

Epema AH, Gerrits NM, and Voogd J. Commissural and intrinsic connections of the vestibular nuclei in the rabbit: a retrograde labeling study. *Exp Brain Res* 71: 129–146, 1988.

Escudero M, de Waele C, Vibert N, Berthoz A, and Vidal PP. Saccadic eye movements and the horizontal vestibulo-ocular and vestibulo-collic reflexes in the intact guinea-pig. *Exp Brain Res* 97: 254–262, 1993.

Fetter M and Zee DS. Recovery from unilateral labyrinthectomy in rhesus monkey. *J Neurophysiol* 59: 370–393, 1988.

Fisch U. The vestibular response following unilateral vestibular neurectomy. *Acta Otolaryngol* 76: 229–238, 1973.

Gacek RR. Location of commissural neurons in the vestibular nuclei of the cat. *Exp Neurol* 59: 479–491, 1978.

Gacek RR, Khetarpal U, and Schoonmaker J. Morphological and neurochemical correlates of vestibular compensation. *Auris Nasus Larynx* 25: 193–201, 1998.

Gacek RR, Schoonmaker J, and Lyon M. Morphologic changes in contralateral superior vestibulo-ocular neurons following labyrinthectomy in the cat. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 105: 791–794, 1996.

Gallagher JP, Lewis MR, and Gallagher PS. An electrophysiological investigation of the rat medial vestibular nucleus in vitro. *Prog Clin Biol Res* 176: 293–304, 1985.

Gilchrist DP, Curthoys IS, Cartwright AD, Burgess AM, Topple AN, and Halmagyi M. High acceleration impulsive rotations reveal severe long-term deficits of the horizontal vestibulo-ocular reflex in the guinea pig. *Exp Brain Res* 123: 242–254, 1998.

Goldberg JM, Highstein SM, Moschovakis AK, and Fernandez C. Inputs from regularly and irregularly discharging vestibular nerve afferents to secondary neurons in the vestibular nuclei of the squirrel monkey. I. An electrophysiological analysis. *J Neurophysiol* 58: 700–718, 1987.

Graham BP and Dutia MB. Cellular basis of vestibular compensation: analysis and modelling of the role of the commissural inhibitory system. *Exp Brain Res* 137: 387–396, 2001.

Highstein SM, Goldberg JM, Moschovakis AK, and Fernandez C. Inputs from regularly and irregularly discharging vestibular nerve afferents to secondary neurons in the vestibular nuclei of the squirrel monkey. II. Correlation with output pathways of secondary neurons. *J Neurophysiol* 58: 719–738, 1987.

Him A and Dutia MB. Intrinsic excitability changes in vestibular nucleus neurons after unilateral deafferentation. *Brain Res* 908: 58–66, 2001.

Ito J, Matsuoka I, Sasa M, and Takaori S. Commissural and ipsilateral internuclear connection of vestibular nuclear complex of the cat. *Brain Res* 341: 73–81, 1985.

Johnston AR, MacLeod NK, and Dutia MB. Ionic conductances contributing to spike repolarization and after-potentials in rat medial vestibular nucleus neurones. *J Physiol* 481: 61–77, 1994.

Koltzenburg M, Wall PD, and McMahon SB. Does the right side know what the left is doing? *Trends Neurosci* 22: 122–127, 1999.

Krawitz S, Fedirchuk B, Dai Y, Jordan LM, and McCrea DA. State-dependent hyperpolarization of voltage threshold enhances motoneurone excitability during fictive locomotion in the cat. *J Physiol* 532: 271–281, 2001.

Lasker DM, Hullar TE, and Minor LB. Horizontal vestibuloocular reflex evoked by high-acceleration rotations in the squirrel monkey. III. Responses after labyrinthectomy. *J Neurophysiol* 83: 2482–2496, 2000.

Minor LB, Lasker DM, Backous DD, and Hullar TE. Horizontal vestibuloocular reflex evoked by high-acceleration rotations in the squirrel monkey. I. Normal responses. *J Neurophysiol* 82: 1254–1270, 1999.

Murai N, Tsuji J, Ito J, Mishina M, and Hirano T. Vestibular compensation in glutamate receptor delta-2 subunit knockout mice: dynamic property of vestibulo-ocular reflex. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 261: 82–86, 2004.

Nelson AB, Krispel CM, Sekirnjak C, and du Lac S. Long-lasting increases in intrinsic excitability triggered by inhibition. *Neuron* 40: 609–620, 2003.

Newlands SD, Kevetter GA, and Perachio AA. A quantitative study of the vestibular commissures in the gerbil. *Brain Res* 487: 152–157, 1989.

Ris L and Godaux E. Neuronal activity in the vestibular nuclei after contralateral or bilateral labyrinthectomy in the alert guinea pig. *J Neurophysiol* 80: 2352–2367, 1998.

Ris L, Hachemaoui M, Vibert N, Godaux E, Vidal PP, and Moore LE. Resonance of spike discharge modulation in neurons of the guinea pig medial vestibular nucleus. *J Neurophysiol* 86: 703–716, 2001.

Sato F and Sasaki H. Morphological correlations between spontaneously discharging primary vestibular afferents and vestibular nucleus neurons in the cat. *J Comp Neurol* 333: 554–566, 1993.

Serafin M, de Waele C, Khateb A, Vidal PP, and Muhlethaler M. Medial vestibular nucleus in the guinea-pig. I. Intrinsic membrane properties in brainstem slices. *Exp Brain Res* 84: 417–425, 1991a.

Serafin M, de Waele C, Khateb A, Vidal PP, and Muhlethaler M. Medial vestibular nucleus in the guinea-pig. II. Ionic basis of the intrinsic membrane properties in brainstem slices. *Exp Brain Res* 84: 426–433, 1991b.

Smith MR, Nelson AB, and Du Lac S. Regulation of firing response gain by calcium-dependent mechanisms in vestibular nucleus neurons. *J Neurophysiol* 87: 2031–2042, 2002.

Smith PF and Curthoys IS. Mechanisms of recovery following unilateral labyrinthectomy: a review. *Brain Res Brain Res Rev* 14: 155–180, 1989.

Uno A, Idoux E, Beraneck M, Vidal PP, Moore LE, Wilson VJ, and Vibert N. Static and dynamic membrane properties of lateral vestibular nucleus neurons in guinea pig brain stem slices. *J Neurophysiol* 90: 1689–1703, 2003.

Vibert N, Babalian A, Serafin M, Gasc JP, Muhlethaler M, and Vidal PP. Plastic changes underlying vestibular compensation in the guinea-pig persist in isolated, in vitro whole brain preparations. *Neuroscience* 93: 413–432, 1999a.

Vibert N, Bantikyan A, Babalian A, Serafin M, Muhlethaler M, and Vidal PP. Post-lesional plasticity in the central nervous system of the guinea-pig: a "top-down" adaptation process? *Neuroscience* 94: 1–5, 1999b.

Vibert N, de Waele C, Escudero M, and Vidal PP. The horizontal vestibulo-ocular reflex in the hemilabyrinthectomized guinea-pig. *Exp Brain Res* 97: 263–273, 1993.

Zhang W and Linden DJ. The other side of the engram: experience-driven changes in neuronal intrinsic excitability. *Nat Rev Neurosci* 4: 885–900, 2003.

B.4 Conclusion

En conclusion de cette étude, il apparaît évident que le côté contralatéral à la lésion n'est pas « sain », au sens où il subit également des modifications importantes d'un point de vue cellulaire. Ces deux études concernant la plasticité des propriétés membranaires intrinsèques des neurones vestibulaires après un mois de compensation nous ont permis de montrer que des modifications marquées se produisent aussi bien du côté déafférenté que du côté contralatéral. L'impression générale qui se dégage est que le côté ipsilatéral tend vers des propriétés globalement plus toniques, proches de celles des neurones de type A, alors que le côté contralatéral développe des réponses plus phasiques, tendant plutôt vers celles des neurones de type B. La conséquence fonctionnelle, telle qu'envisagée à travers ces études, est que le côté ipsilatéral évolue afin de favoriser la récupération d'une décharge de repos stable et proche de la normale, aidant ainsi au rétablissement d'un équilibre stable dans le système, alors que les changements du côté contralatéral vont favoriser la modulation de cet équilibre par les signaux vestibulaires dynamiques. L'ensemble des modifications observées souligne l'implication des propriétés membranaires intrinsèques des neurones dans la physiologie du système et dans sa plasticité à long terme.

Ces études concernant la plasticité post-lésionnelle des propriétés intrinsèques des neurones vestibulaires médians nous ont conduits à développer des méthodes de stimulation et d'analyse propres à décrire aussi bien les propriétés de repos des neurones que leurs réponses dynamiques (et notamment leurs réponses dans le domaine fréquentiel). La question se posait donc de savoir si les propriétés membranaires que nous avons caractérisées sont particulières aux neurones du noyau vestibulaire médian, ou si elles sont plus généralement exprimées dans d'autres noyaux vestibulaires. Nous avons donc entamé une série d'études des propriétés intrinsèques d'autres neurones vestibulaires centraux en condition physiologique, dont le but était de généraliser les connaissances acquises sur les propriétés intrinsèques des neurones à d'autres noyaux impliqués dans le traitement des informations vestibulaires, afin de comprendre le rôle des propriétés individuelles des neurones dans l'organisation globale des réseaux impliqués dans le contrôle du regard et de la posture.

C. Comparaison des propriétés de repos et des réponses dynamiques des neurones des noyaux vestibulaires médians et latéraux enregistrés chez le cobaye : *Uno et col. 2003*

C.1 Contexte scientifique

Comme nous l'avons précisé au cours de l'introduction, parmi les 4 noyaux vestibulaires, le noyau vestibulaire médian a été de loin le plus étudié *in vitro*. Ceci est dû en partie à une plus grande accessibilité expérimentale (grande densité cellulaire, noyau aisément localisable) à laquelle s'est ajouté un rôle clairement identifié dans les réflexes vestibulaires déclenchés par les mouvements horizontaux de la tête, qui sont par ailleurs plus simples à étudier comparés à d'autres types de réflexes vestibulaires. Les données électrophysiologiques concernant les autres noyaux vestibulaires sont au mieux parcellaires. Compte tenu des connaissances accumulées sur les propriétés membranaires intrinsèques des neurones enregistrés dans le noyau médian, il nous a semblé intéressant d'étendre nos études à d'autres neurones vestibulaires centraux.

Notre idée était de comparer les propriétés membranaires de neurones dont la fonction est aisément comparable, mais dont les rôles particuliers dans les synergies vestibulaires diffèrent, afin de tenter d'établir un lien entre les propriétés intrinsèques des neurones et leur implication physiologique. Notre attention s'est portée sur les neurones du noyau vestibulaire latéral : en effet, aucune description en intracellulaire ou en patch-clamp *in vitro* n'existait pour les neurones de ces noyaux. Par rapport aux neurones du NVM, les neurones du NVL sont intéressants car ils reçoivent surtout des afférences otolithiques, et participent essentiellement à la stabilisation posturale par l'intermédiaire du tractus vestibulo-spinal latéral (ils sont ainsi impliqués dans le contrôle moteur du cou, du tronc et des membres, Carleton et Carpenter 1983; Wilson et Melvill Jones 1979). Contrairement aux neurones du NVM, ils ne seraient que peu impliqués dans le contrôle du regard (Carleton et Carpenter 1983; Sarkisian 2000; Uchino et Isu 1992; Wilson et Melvill Jones 1979). Au sein de ce

noyau latéral, une population particulière est constituée par les neurones de Deiters, souvent nommés cellules géantes du fait de la taille de leur soma. Notre étude s'est plus précisément attachée à décrire les propriétés électrophysiologiques de ces neurones impliqués dans les réflexes vestibulo-spinaux (Sarkisian 2000).

C.2 But de l'étude

En débutant cette étude, nous voulions établir un lien entre les propriétés membranaires intrinsèques des neurones et leurs fonctions physiologiques. Un élément important de cette étude reposait dans la détermination des types cellulaires présents dans le NVL. Ce noyau comporte-t-il également des neurones aux propriétés intrinsèques hétérogènes comme le sont celles des neurones de type A et B du MVN ? Quelles sont les propriétés dynamiques de ces neurones impliqués dans les réflexes vestibulo-spinaux ?

C.3 Résumé en français

Les enregistrements intracellulaires in vitro des neurones vestibulaires centraux ont été largement restreints aux neurones du noyau médian. Nous avons enregistré sur tranches de tronc cérébral les cellules géantes de Deiters localisées dans le noyau vestibulaire latéral afin de déterminer leurs propriétés membranaires intrinsèques de repos et leurs réponses dynamiques, et les avons comparées à celles des neurones vestibulaires médians de type A et B. Contrairement aux neurones du NVM, les cellules de Deiters forment une population dont les propriétés sont homogènes, caractérisées par des potentiels d'action fins, une post-hyperpolarisation biphasique et de faible amplitude semblable à celle des neurones de type B du MVN, mais également par un courant de rectification transitoire de type I_A comparable à celui qui caractérise les neurones médians de type A. Les neurones du NVL ont une résistance d'entrée membranaire plus faible que celle des neurones du NVM, corrélée à une plus faible sensibilité aux injections de courant et ce pour une large gamme de fréquences. La principale différence entre les neurones du NVL et les neurones du MVN est révélée par les diagrammes de Bode qui montrent une faible résonance des neurones de Deiters comparés aux neurones du NVM. De plus, on observe un arrêt brusque de la modulation de l'activité spontanée des neurones du NVL par les courants sinusoïdaux à haute fréquence et non une décroissance progressive comme celà était le cas pour les neurones du NVM. Les neurones du NVL présentent à haute fréquence des capacités plus fortes de synchronisation de leur décharge de

potentiels d'action en réponse à l'injection de sinusoïdes de courant. Les études réalisées in vivo ont montré que les neurones du NVM sont principalement impliqués dans le contrôle du regard, alors que les cellules géantes de Deiters qui se projettent sur la moelle seraient principalement impliquées dans le contrôle de la posture. Nous proposons donc que les différences de propriétés membranaires des neurones du NVL et du NVM traduisent les particularités de leurs rôles physiologiques respectifs.

J Neurophysiol 90: 1689–1703, 2003.
First published May 21, 2003; 10.1152/jn.00201.2003.

Static and Dynamic Membrane Properties of Lateral Vestibular Nucleus Neurons in Guinea Pig Brain Stem Slices

Atsuhiko Uno,[1] Erwin Idoux,[1] Mathieu Beraneck,[1] Pierre-Paul Vidal,[1] Lee E. Moore,[1] Victor J. Wilson,[2] and Nicolas Vibert[1]

[1]*Laboratoire de Neurobiologie des Réseaux Sensorimoteurs, Centre National de la Recherche Scientifique UMR 7060, Université Paris 5, Centre Universitaire des Saints-Pères, 75270 Paris Cédex 06, France; and* [2]*The Rockefeller University, New York, New York 10021*

Submitted 3 March 2003; accepted in final form 8 May 2003

Uno, Atsuhiko, Erwin Idoux, Mathieu Beraneck, Pierre-Paul Vidal, Lee E. Moore, Victor J. Wilson, and Nicolas Vibert. Static and dynamic membrane properties of lateral vestibular nucleus neurons in guinea pig brain stem slices. *J Neurophysiol* 90: 1689–1703, 2003. First published May 21, 2003; 10.1152/jn.00201.2003. In vitro intracellular recordings of central vestibular neurons have been restricted so far to the medial vestibular nucleus (MVN). We performed intracellular recordings of large Deiters' neurons in the lateral vestibular nucleus (LVN) to determine their static and dynamic membrane properties, and compare them with those of type A and type B neurons identified in the MVN. Unlike MVN neurons (MVNn), the giant-size LVN neurons (LVNn) form a homogeneous population of cells characterized by sharp spikes, a low-amplitude, biphasic after-hyperpolarization like type B MVNn, but also an A-like rectification like type A MVNn. In accordance with their lower membrane resistance, the sensitivity of LVNn to current injection was lower than that of MVNn over a large range of frequencies. The main difference between LVNn and MVNn was that the Bode plots showing the sensitivity of LVNn as a function of stimulation frequency were flatter than those of MVNn, and displayed a weaker resonance. Furthermore, most LVNn did not show a gradual decrease of their firing rate modulation in the frequency range where it was observed in MVNn. LVNn synchronized their firing with the depolarizing phase of high-frequency sinusoidal current injections. In vivo studies have shown that the MVN would be mainly involved in gaze control, whereas the giant LVNn that project to the spinal cord are involved in the control of posture. We suggest that the difference in the membrane properties of LVNn and MVNn may reflect their specific physiological roles.

INTRODUCTION

During the last 25 yr, in vitro electrophysiological recordings have demonstrated that neurons of the central nervous system (CNS) exhibit highly variable intrinsic membrane properties. These properties allow individual neurons to transform the afferent information they receive (Llinás 1988) before transmitting it to their efferent target cells. To understand the physiology of central, vestibular-related pathways, several groups have therefore performed in vitro intracellular recordings of neurons in the vestibular nuclei of rats (Gallagher et al. 1985; Johnston et al. 1994), mice (Dutia and Johnston 1998), guinea pigs (Serafin et al. 1991a,b), or chicks (Du Lac and Lisberger 1995a) using brain stem slices. In addition Babalian et al. (1997) characterized the membrane properties of identified, second-order vestibular neurons recorded in the isolated whole brain of guinea pig. These recordings were all done in the medial vestibular nucleus (MVN), where the density of neurons is the highest and which is easier to locate on slices than the other vestibular subnuclei (for reviews see Darlington et al. 1995; Vidal et al. 1999).

In all species studied so far, these recordings have led to the identification of two main types of MVN neurons (MVNn), the type A and type B neurons, which differ in their action potential profile and membrane properties. It is generally admitted that MVNn represent a continuum of cells whose properties are distributed between those of type A and type B MVNn (Babalian et al. 1997; Beraneck et al. 2003; Du Lac and Lisberger 1995a; Johnston et al. 1994). In the guinea pig (Serafin et al. 1991a), as in other species, type A neurons are characterized by their single, deep after-hyperpolarization (AHP), and have on average a wider action potential than that of type B neurons. They display an A-like rectification when released from hyperpolarization, or in response to depolarizing current pulses given from a hyperpolarized level. This rectification is also visible as an inflection point delaying the depolarization of the neuron during interspike intervals. Interestingly, this A-like rectification is not blocked by 4-aminopyridine (4-AP) and is therefore not mediated by the rectifying A potassium conductance described in other neurons of the CNS (Hagiwara et al. 1961; Llinás 1988). Type B neurons have a biphasic, significantly smaller AHP, no sizable A-like rectification, and narrower action potentials. Some of the type B neurons, the B + LTS MVNn, display low-threshold calcium spikes when released from a strong hyperpolarization. We assume that a large majority (>80%) of the MVNn recorded in guinea pig slices are second-order vestibular neurons. Indeed, 80 to 85% of the neurons recorded in the MVN area of the isolated whole brain of guinea pig, using similar electrodes to those used in slices, could be identified as second-order vestibular neurons (Babalian et al. 1997). This high proportion of second-order cells is in agreement with anatomic (Carleton and Carpenter 1983; Sato and Sasaki 1993) and physiological studies (Chen-Huang et al. 1997; Goldberg et al. 1987).

Extracellular recordings of neurons in the other vestibular

Address for reprint requests: A. Uno, Laboratoire de Neurobiologie des Réseaux Sensorimoteurs, CNRS UMR 7060, Université Paris 5, 45 rue des Saints-Pères, 75270 Paris Cédex 06, France. (E-mail: auno@ent.med.osaka-u.ac.jp).

The costs of publication of this article were defrayed in part by the payment of page charges. The article must therefore be hereby marked "*advertisement*" in accordance with 18 U.S.C. Section 1734 solely to indicate this fact.

 0022-3077/03 $5.00 Copyright © 2003 The American Physiological Society

subnuclei—the superior, lateral, and inferior (or descending) vestibular nuclei—have been obtained in vivo, and recently in rat brain stem slices in vitro (Sun et al. 2002). However, to our knowledge, in vitro intracellular recordings of central vestibular neurons outside the MVN have never been performed. We have therefore decided to undertake intracellular recordings of neurons in the lateral vestibular nucleus (LVN) to determine their membrane properties and to see to what extent the results obtained in the MVN generalize to another group of vestibular neurons.

Anatomic and in vivo electrophysiological studies have shown that the afferent and efferent connections, as well as the functional role of LVN neurons (LVNn), were distinct from those of MVNn (for reviews see Carleton and Carpenter 1983; Uchino and Isu 1992; Wilson and Melvill-Jones 1979; Wilson and Peterson 1988). The MVN receives extensive canal and otolith input (Carleton and Carpenter 1984; Gacek 1969; Gstoettner et al. 1992; Walberg et al. 1958) and is strongly involved in relaying afferent signals coming from the horizontal semicircular canals (Sato and Sasaki 1993; Sato et al. 1989; Schaefer and Meyer 1992; Uchino and Isu 1992). The LVN also appears to receive input from both the otolith receptors and the semicircular canals (Boyle and Pompeiano 1980; Gstoettner et al. 1992; Wilson and Schor 1999). Input to the LVN includes strong signals from the vertical semicircular canals (Kasper et al. 1988), but the LVN would be less involved in relaying horizontal semicircular canal signals (Uchino and Isu 1992). Whereas the whole extent of the MVN is innervated by sensory nerve fibers coming from the ipsilateral labyrinth, the dorsal part of the LVN does not receive direct, monosynaptic vestibular input (for reviews see Carleton and Carpenter 1983; Gacek 1969; Korte 1979; Walberg et al. 1958). Another important difference is that extensive inhibitory commissural connections exist between the two MVN (Carleton and Carpenter 1983; Shimazu and Precht 1966), whereas there are no or only very few commissural connections at the level of the lateral vestibular nuclei (Epema et al. 1988; Uchino et al. 2001).

Axons from MVNn project both to various oculomotor nuclei through the medial longitudinal fasciculus and to the upper segments of the spinal cord through the medial vestibulospinal tract (Wilson and Melvill-Jones 1979). In contrast, the LVNn have mainly vestibulospinal projections through the lateral vestibulospinal tract, which reach all levels of the spinal cord (for reviews see Carleton and Carpenter 1983; Sarkisian 2000; Wilson and Melvill-Jones 1979). Whether the ascending tract of Deiters, which is involved in the control of eye movements, originates in the LVN is still a matter of controversy (see DISCUSSION). As well as projecting to the spinal cord, both the MVN and LVN receive numerous proprioceptive afferents from the neck, trunk, and limbs (Bankoul et al. 1995; Jian et al. 2002; Xiong and Matsushita 2001). Altogether, the MVN would be involved in both eye and head control, particularly in the horizontal plane. In contrast, the LVN appears to be mainly involved in the control of posture, particularly in response to linear displacements or gravito-inertial force variations including roll-and-pitch movements in the vertical plane.

Are the different connectivity and functional roles of the LVN and MVN matched by differences in the static and dynamic intrinsic, biophysical properties of their neurons? To answer that question, we determined some membrane properties and dynamic responses to various types of current injections of intracellularly recorded LVNn in guinea pig brain stem slices. The results were compared with those obtained for a set of 89 MVNn recorded under the same conditions (Beraneck et al. 2003). The data from the LVNn and MVNn were collected and analyzed using identical protocols (Ris et al. 2001).

METHODS

Preparation and maintenance of brain stem slices

Experiments were carried out on young adult, pigmented guinea pigs of both genders weighing 150–350 g (Elevage de la Garenne, Saint-Pierre d'Exideuil, France). The animals were handled in accordance with the European Communities Council Directive of November 24, 1986, and following the procedures issued by the French Ministère de l'Agriculture.

After sodium pentobarbital anesthesia (50 mg/kg), the animals were killed by decapitation, and thick (400–500 μm), coronal brain stem slices containing the LVN were cut and maintained using standard techniques (Serafin et al. 1991a; Vibert et al. 1999b). However, in most experiments, a cold (4°C) sucrose-containing artificial cerebrospinal fluid (sucrose ACSF) was used instead of our standard ACSF during the dissection and preparation of the slices. The slices containing the LVN were then transferred to individually oxygenated vials and incubated in the sucrose ACSF at room temperature for 15 min. Then, we replaced two thirds of the liquid in each incubation vial with the same volume of normal ACSF. This operation was repeated twice more at 10-min intervals. After this procedure, the slices were kept at room temperature, in what was almost exclusively normal ACSF, for at least 1 h until they were transferred to the recording chamber. During recordings, the slices were superfused as usual with normal ACSF maintained at 31–32°C (Serafin et al. 1991a; Vibert et al. 1999b). Compared with the normal ACSF (composition in mM: NaCl 124, $NaHCO_3$ 26, KCl 5, KH_2PO_4 1.25, $MgSO_4$ 1.3, $CaCl_2$ 2.4, glucose 10), the sucrose ACSF was obtained by replacing NaCl with an equimolar concentration of sucrose (i.e., 124 mM), in accordance with the method used by Devor et al. (2001). Use of the sucrose solution during the preparation of the slices was extremely beneficial for the viability of LVNn. The mechanism of this action of sucrose is not clearly understood, and the concentration of sucrose added in the ACSF to replace NaCl varies from preparation to preparation (Aghajanian and Rasmussen 1989; Moyer and Brown 1998; Rothman 1985; for review see Aitken et al. 1995). However, it is generally assumed that removal of NaCl from the ACSF reduces the sodium influx coincident with the tendency for neurons to depolarize during the initial and unavoidable anoxia that occurs with decapitation, dissection, and slicing. Furthermore, it minimizes excitotoxic cell swelling that results from passive chloride influx followed by cation and water entry.

As mentioned in the INTRODUCTION, data obtained from LVNn were compared with those obtained on a sample of previously recorded MVNn, obtained without using sucrose ACSF (Beraneck et al. 2003; Ris et al. 2001). Even though the LVNn were ultimately recorded in the same normal ACSF as MVNn, the question arises whether the use of sucrose ACSF during the dissection and first 35 min of incubation of the slices induced significant modifications of their membrane properties. Because we obtained a few LVNn (5 out of 42) without using sucrose ACSF, we verified that neither the static nor the dynamic membrane properties were different from those of the LVNn obtained using the sucrose ACSF. Although the use of sucrose ACSF led to a clear increase in the number of successful penetrations of LVNn, it did not modify the spontaneous discharge rate, resting membrane potential, or other membrane properties of the neurons.

Electrophysiological recordings

In a few preliminary experiments, LVNn were recorded from extracellularly, using 2 M NaCl-containing glass microelectrodes (resistance: 2–8 MΩ). During these extracellular recordings, many silent cells were visible during the descent of the electrode within the tissue. Indeed, the pressure of the electrode triggered firing in silent cells. When we saw well-isolated spikes triggered by electrode movements that did not persist when the electrode remained still, we recorded examples of these spikes and considered that the corresponding neuron had no spontaneous discharge and was silent at rest. In subsequent experiments, intracellular electrophysiological recordings were obtained with sharp, 3 M potassium acetate–containing glass microelectrodes from neurons within the LVN. We identified this nucleus using landmarks such as the shape of the 4th ventricle, the acoustic stria, and the inferior cerebellar peduncle. Intracellular injections of neurobiotin were performed for 12 out of the 42 neurons we studied (29%), to confirm that they were localized within the LVN boundaries (see following text). All measurements were done with an Axoclamp 2A system (Axon Instruments, Union City, CA) in either the bridge or switching discontinuous current clamp (DCC) mode (Moore et al. 1993). The electrode resistance varied from 80 to 150 MΩ. Both series resistance (bridge balance) and capacitance compensation were checked throughout the recording of each individual neuron (Ris et al. 2001). Part of the current injections and all data acquisition were performed with a PC-compatible computer using the "Acquis 1" program (version 4.0; Bio-logic S.A., Gif-sur-Yvette, France). The sampling rate used for acquisition varied between 2,000 and 5,000 Hz, depending on the length of the data acquisition sequence. Consequently, the amplitudes of the digitized spikes were variable. However, oscilloscope *traces* verified that the size of the action potential was constant at any given membrane potential. The data were analyzed using program scripts working under Mathematica 4.0 (Wolfram Research, Champaign, IL), or MATLAB 6.5 (The MathWorks, Natick, MA). The scripts used to quantify the properties and responses of LVNn were exactly the same as those used to analyze the data obtained from MVNn (Beraneck et al. 2003; Ris et al. 2001).

Basic membrane and firing properties of LVNn

Because the majority of LVNn are spontaneously active in slices, the membrane potential was filtered with a 1-Hz low-pass filter to obtain an estimate of its average "resting" level (i.e., of the mean level of its membrane potential in the absence of any current injection through the electrode). This was taken as the "mean resting membrane potential" of each neuron. For each cell this membrane potential value was corrected by measuring and subtracting the extracellular voltage offset found after withdrawal of the electrode from the neuron. No correction was made for the liquid junction potential, but this can be assumed to be constant between LVNn and MVNn because they were recorded using similar electrodes. Cells that had resting membrane potentials more negative than −50 mV and spike amplitudes higher than 50 mV were retained for further study. Six neurons that displayed smaller spike height (between 45 and 50 mV), but did not show any sign of deterioration (they exhibited normal membrane potentials and spike widths), were also included in the sample.

Recordings of the neurons at rest (i.e., with no holding current being injected through the recording electrode) were used to calculate mean spontaneous firing rate, its coefficient of variation (CV) expressed as a percentage, and to measure the mean amplitude of the spike. For each neuron, an average of the spike shape and the following interspike interval profile was obtained by averaging successive spontaneous spikes taken either at the resting membrane potential or while the cell was slightly depolarized (for the neurons that were silent at rest). The spikes (mean number about 90) were synchronized to their thresholds, taken at the point on the rising phase of the action potential where the slope of the potential trace reached an arbitrary threshold of 10 V/s (Krawitz et al. 2001). The averaged spike shape was used to determine the amplitude of the after-hyperpolarization (AHP) and the width of the spike (taken at threshold). The AHP amplitude was calculated as the membrane potential difference between the spike threshold and the membrane potential minimum after the falling phase of the spike (Fig. 2*A2*).

The cell's *firing threshold*, that is, the membrane potential at which the cell begins to fire action potentials (in mV), was assessed as the potential reached at the threshold of the first spike triggered by a slow, depolarizing current ramp (see *Injection of depolarizing ramplike currents*). The threshold of this first spike was measured in the same way as other spike thresholds; that is, it was taken at the point on the rising phase of the action potential where the slope of the *potential trace* reached an arbitrary threshold of 10 V/s. For each cell, we determined whether long-lasting, subthreshold plateau potentials could be triggered by low-amplitude (0.1–0.2 nA), short-duration (10 ms) current pulses delivered while the neuron was maintained just below its firing threshold (Babalian et al. 1997; Serafin et al. 1991a,b). If so, we measured their mean duration (Fig. 2*A4*).

For a few representative LVNn (see RESULTS below), some of the ionic conductances shaping the spike and AHP profile were assessed by pharmacological studies. The following drugs, obtained from Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France), were applied in the perfusion ACSF at known concentrations. Tetraethylammonium (TEA) was used at 5–10 mM, 4-AP at 1–2 mM, and apamin at 0.1–0.2 μM.

Quantitative analysis of the spike shape of central vestibular neurons

As presented in the INTRODUCTION, MVNn were first categorized into type A and type B using qualitative criteria. MVNn were characterized as a type A, type B, or type B with low-threshold calcium spikes (B + LTS) neurons according to their action potential profile (Serafin et al. 1991a). Neurons that displayed intermediate properties, or did not clearly fit into any of these two categories, were grouped as type C MVNn.

To remove possible biases in the classification of MVNn, we recently developed quantitative criteria to characterize them (Beraneck et al. 2003). For each neuron, the averaged spike profile obtained during spontaneous firing and its first derivative were used [as already done by Johnston et al. (1994)] to assess the presence of the A-like rectification and double AHP, the two main criteria used previously for the qualitative classification.

The presence of an A-like rectification characterizing type A MVNn is visible as an inflection of the *voltage trace* (V) within the interspike interval (see Fig. 2*A*). This inflection is better seen on the first derivative of the *voltage trace* (dV/dt) as a transient decrease of the rate of the depolarization leading to the next spike. In MVNn, the A-like rectification begins ≥2–3 ms after the end of the spike whatever the spontaneous discharge rate of the cell, and the derivative of the *voltage trace* remains positive. The strength of the A-like rectification was quantified as the algebraic decrease δ(dV/dt) in the rate of the interspike depolarization (dV/dt in V/s) associated with this phenomenon (Fig. 2*A3*). In the absence of any A-like rectification, this parameter was set at zero. Figure 2*B* demonstrates that the presence of an A-like rectification was not dependent on the rate of decay of the double-component AHP.

The presence of an early fast AHP followed by a delayed slow one (i.e., of the double-component AHP characterizing type B MVNn) was assessed on the averaged spike profile, and then confirmed using the first derivative (see Fig. 2*A* for the following description). Figure *A3* shows the first derivative of the *A2 voltage trace* (dV/dt in V/s). The strongly negative (< -1 V/s), initial parts of the derivative, which correspond to the falling phase of the spike, are not to scale. When a double AHP is present, its second component is seen as a

transient decrease of the rate of depolarization, which occurs within 2 ms of the end of the spike. During this period, the first derivative becomes transiently negative. The strength of the double AHP was quantified as the algebraic decrease $\delta(dV/dt)$ in the rate of the interspike depolarization (dV/dt in V/s) associated with the second component of the phenomenon. As shown on Fig. 2*A3*, this algebraic decrease is measured between the positive peak of the derivative, reached while the *potential trace* increases after the first component of the double AHP, and the minimum of the derivative reached during the second, transient hyperpolarization of the membrane potential. The strength of the double AHP was set at zero when no double AHP was present.

Quantitative values describing the strength of the A-like rectification and the strength of the double AHP were measured for the set of 89 MVNn recorded by Beraneck et al. (2003). Quantitative criteria for classification of MVNn in type A, type B, or type C neurons were designed (Beraneck et al. 2003). The MVNn displaying an A-like rectification lower than 0.15 V/s (50%) were classified as type B MVNn. The MVNn displaying an A-like rectification stronger than 0.15 V/s and no double AHP (47%) were classified as type A MVNn. The 3 MVNn (3%) that displayed both a double AHP and an A-like rectification greater than 0.15 V/s, which could not be unambiguously categorized as either type A or type B MVNn, were therefore considered as type C MVNn. To compare the spike profile of LVNn with those of type A and type B MVNn, the presence and strength of an A-like rectification and/or double AHP were assessed in the same way, using the very same Matlab scripts.

After the assessment of its basic membrane and firing properties, each LVNn was submitted to the stereotyped stimulation protocol described below. The instantaneous firing rate of the cell (IF in spikes/s) was estimated at any time with a Mathematica script that measured the time intervals between two successive action potentials. The time at the end of each interval between action potentials was used to indicate the time for each IF value.

Assessment of the passive input resistance of LVNn using current steps

The passive input resistance of each neuron was assessed using series of hyperpolarizing current steps of decreasing amplitudes. The cell was maintained by steady-state hyperpolarization at a few millivolts (mV = 0 to 10) below its threshold for discharge, to suppress spikes. Although the responses were multiexponential, their principal component could be approximated by a single exponential that provided an estimate of the whole cell resistance for each LVNn (input resistance = voltage deflection/current input).

Injection of depolarizing ramplike currents

Ramp currents of 0.3 nA amplitude were applied at five different slopes up to a final steady-state value, as described in detail in Ris et al. (2001), while the cell was maintained at about 10 mV below its firing threshold (Fig. 4*A*). In other words, the membrane potential at which the ramps were delivered was set relative to the firing threshold of each cell. The five slopes corresponded to times to reach the plateau of current of 5,000 ms (0.06 nA/s), 3,400 ms (0.09 nA/s), 1,800 ms (0.17 nA/s), 600 ms (0.5 nA/s), and 200 ms (1.5 nA/s), respectively. Because the whole stimulus was 5,000 ms long, there was no plateau after the slowest ramp, which was used, as stated above, to assess the cell's firing threshold. For each ramp we computed the rate of increase of the instantaneous firing rate of the cell (k_{IF} in spikes s^{-1} nA^{-1}), which gives an indication of the sensitivity of the cell to current injections. We also measured in each case the difference between the firing rate reached at the end of the depolarizing current injection and the stable discharge rate reached at the end of the plateau (overshoot in spikes/s). This parameter gives an indication of the nonlinear, dynamic properties of neurons. To assess how the level of polarization of LVNn influenced their responses, the whole sequence of ramp stimulations was repeated while the neuron was at its resting membrane potential (or held slightly above its firing threshold if the neuron was silent at rest) and spontaneously fired action potentials.

Injection of sinusoidal currents

A third series of stimuli consisted of current sine waves applied for 5,000 ms at various frequencies ranging from 0.2 to 50 Hz (Du Lac and Lisberger 1995b; for details see Ris et al. 2001). The amplitude of the stimulus (δI) was adjusted at the 0.2-Hz frequency to keep the membrane potential variation between 5 and 10 mV peak-to-peak, and was typically within the 0.05- to 0.15-nA range. The first series of sinusoidal currents was delivered while the cell was at its resting membrane potential (or held slightly above its firing threshold if the neuron was silent at rest) and spontaneously fired action potentials (Fig. 5*B*). For each frequency of stimulation inferior or equal to about one third of the neuron's background discharge, the modulation of the IF rate of MVNn was fitted with a sine wave that was then used to calculate the amplitude and the phase of the IF modulation (δIF, Fig. 5*B*). Ris et al. (2001) have shown that in this condition, the IF modulation of MVNn was linear. When the frequency of stimulation passed a third of the neuron's background discharge, it was inappropriate to continue fitting the modulation of the IF rate of MVNn with a sine wave because of sampling limitations. The amplitude of the IF modulation of MVNn was calculated in an empirical way as the difference between the minimum and maximum IF reached by the neuron during the 5 s of the stimulation. By definition this difference represents the raw peak-to-peak amplitude of the IF modulation induced by the injection of sinusoidal current, and eventually reaches a minimum as the frequency of stimulation approaches the background discharge rate. No phase measurements were obtained in this situation. Using this method, we could evaluate δIF from 0.2 Hz to a maximum stimulus frequency that varied from cell to cell according to its background discharge and the sensitivity of its discharge to current injection, but could reach 50 Hz in some cases.

The underlying mean membrane potential excursion (δV) was computed for each stimulus frequency using a Mathematica script, which performed a Fourier analysis of the total membrane potential response. The magnitude of the Fourier component corresponding to the stimulation frequency was taken as the potential response. However, this procedure was valid only when the components attributed to the shape and frequency of the action potentials were not overlapping those of the stimulation frequency. This requirement was true for frequencies below 1 Hz (Fig. 5*B*). δIF and δI were used to evaluate at 0.4 Hz the cell sensitivity to current injection by dividing δIF by the amplitude of the injected current ($\delta IF/\delta I$ in spikes s^{-1} nA^{-1}; Table 2). The sensitivity of the firing rate of the cell to variations of the mean membrane potential $\delta IF/\delta V$ was quantified in spikes s^{-1} mV^{-1}. We calculated the "active" impedance Z of the cell as the amplitude of the membrane potential change obtained for the 0.4-Hz stimulus divided by the amplitude of the injected current ($\delta V/\delta I$ in MΩ).

When possible, a similar series of sinusoidal stimuli was given while the cell was maintained at a depolarized membrane potential by a steady-state current injection of 0.15–0.25 nA, to assess how the level of discharge of MVNn modified their responses.

Some of the cells were also submitted to the same series of sinusoidal current injections while they were maintained at 10 to 20 mV below their threshold for discharge, so that no spike was evoked by the stimulation (Fig. 5*A*). The amplitude of the membrane potential change (δVh) was computed for each frequency using a Mathematica script, and was used to evaluate at each frequency the impedance Zh of the cell maintained under a steady-state hyperpolarization (Zh = $\delta Vh/\delta I$ in MΩ).

As reported by Ris et al. (2001), the amplitude of the modulation of the membrane potential or instantaneous firing rate of MVNn by sinusoidal currents displayed resonant properties. For each MVNn,

the response increased with increasing stimulation frequency to reach a maximum at what was defined as the *peak frequency of resonance* (*R-peak*). Then, the modulation progressively dropped to lower levels. The "*amplitude*" *of the resonance* (*R-ratio*) was defined as the ratio between the maximum amplitude of the firing rate modulation at the peak frequency of resonance and the amplitude obtained at the lowest frequency we used, 0.2 Hz. The resonant properties of LVNn were also assessed by another index: the ratio between the amplitudes of the firing rate modulation obtained at 4 Hz and 0.4 Hz (IF 4/0.4). The two ratios that characterized the resonance of LVNn were measured in the same way for the membrane potential when the neurons were hyperpolarized to suppress action potentials.

Histological procedures

In about one third of the experiments, neurobiotin tracer (Vector Laboratories, Burlingame, CA) was dissolved at 2% in the potassium acetate used to fill the intracellular electrodes. At the end of each experiment, neurobiotin was injected into an intracellularly recorded LVNn by passing depolarizing, rectangular current pulses of 1.0 nA amplitude and 200 ms duration at 2.5 Hz, for 20 min. Brain stem slices were then fixed by submersion in 4% paraformaldehyde in 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4) overnight. After several rinses with phosphate-buffered saline (PBS), sections were treated with 0.5% H_2O_2 in PBS for 2 h, rinsed 3 times with PBS, and then incubated overnight with 1/50 Vectorstain ABC Elite kit (Vector Laboratories) in PBS containing 0.2% Triton X-100. The neurobiotin-injected neurons were visualized by reaction with 0.05% diaminobenzidine (Sigma) in phosphate buffer for 10 min, and by further addition of 0.05% H_2O_2 for 5–10 min. The sections were mounted onto slides, dried, and coverslipped.

To precisely assess the boundaries of the LVN, two brains were taken from guinea pigs of the same age/weight as the animals we normally used. Transverse cryostat sections of 14 μm thickness were obtained from the brain stem at the level of the LVN, and colored with either cresyl violet or toluidine blue. The anatomic location of each of the neurons labeled with neurobiotin was assessed using this homemade "atlas" of the LVN. The borders between the different subnuclei of the vestibular nuclear complex were defined according to the cytoarchitectonic studies performed in the guinea pig by Gstoettner and Burian (1987) and Ris et al. (1999) (also see DISCUSSION). The size of each neurobiotin-labeled cell was assessed by measuring the maximum diameter of the soma along its long, major axis, and the minimum width of the soma along its short, minor axis. The mean soma diameter was then obtained by averaging these two values. Depending on its diameter, each cell was considered as either small (10–20 μm), medium (21–35 μm), large (36–60 μm), or giant (50–80 μm) (Gstoettner and Burian 1987).

Statistical analysis

Calculations of means $\pm$ SDs and further processing of all results were carried out using the Systat 8.0 software (SPSS, Chicago, IL) on a PC-compatible computer. The data obtained from LVNn were compared with those obtained for the set of 89 MVNn recorded in the same conditions by Beraneck et al. (2003). Statistical comparisons between numerical values were achieved through nonparametric tests, with the threshold for significance set at $P \leq 0.05$. Kruskal–Wallis ANOVA was first performed to search for significant differences between the mean values obtained for LVNn with respect to type A and type B MVNn (which defined 3 categories of neurons). Two by two comparisons between the 3 cell groups were then performed using Mann–Whitney *U* tests. Paired nonparametric tests (Friedman ANOVA followed by Wilcoxon signed-rank tests) were used to compare for each cell type the responses evoked by ramps of different slopes. They were also used to determine how the responses to ramps and sinusoidal currents were modified according to the level of steady-state polarization of the cell (2 levels for the ramps and 3 levels for the sinusoidal currents).

RESULTS

Data presented in this report were obtained using a database of 42 intracellularly recorded and 30 extracellularly recorded LVNn. Statistical comparisons with MVNn were performed using a database of 89 previously recorded MVNn, which included 42 type A and 44 type B neurons (Beraneck et al. 2003; Ris et al. 2001; see METHODS). Values are means $\pm$ SD.

Histological identification of the recorded cells

Because in slices the boundaries of the LVN are less easy to assess than those of the MVN, we injected 12 of the 42 neurons we recorded with 2% neurobiotin to check whether they were located in the LVN. All injected neurons were located inside the boundaries of the LVN, as shown in Fig. 1*A*. The ventromedial portion of the most caudal part of the LVN (vL in Fig. 1*A1*), from which the ascending tract of Deiters originates, is a controversial area that has been considered as part of either the LVN or MVN, depending on the authors (see DISCUSSION). However, there were no injected neurons in this area; they were all located within the main body of the LVN, clearly separated from MVN by the acoustic stria. The other, noninjected neurons were all obtained from the area where the injected neurons had been recorded, using landmarks such as the shape of the 4th ventricle, the acoustic stria, and the inferior cerebellar peduncle. The soma diameter of the LVNn injected with neurobiotin ranged from 45.0 to 74.1 μm around a mean of 61.2 $\pm$ 10.3 μm, which means that they were all large or giant cells (Fig. 1*B*). They were significantly larger than MVNn, which had a mean soma diameter of 31.4 $\pm$ 7.9 μm ($P = 0.004$, Fig. 1*C*).

Characterization of LVNn according to their firing and membrane properties (Table 1)

Twenty-nine out of the 42 intracellularly recorded LVNn (69%) spontaneously fired action potentials at rest (i.e., when no current was injected into the cell). Altogether, the spontaneous firing rate of LVNn varied from 0 to 64.7 spikes/s around a mean of 16.5 $\pm$ 18.9 spikes/s and a median of 10.6 spikes/s (including silent cells; second row of Table 1). When silent cells were not considered, the mean discharge of LVNn reached 23.9 $\pm$ 18.4 spikes/s for a median of 17.8 spikes/s (third row of Table 1). Extracellular recordings of LVNn gave quite similar results, given that 20 out of the 30 cells (67%) were spontaneously firing at rest. Altogether, the discharge rate of the 30 extracellularly recorded LVNn ranged from 0 to 66.0 spikes/s, with an average value of 14.8 $\pm$ 18.4 spikes/s and a median of 6.0 spikes/s (including silent cells). Compared with intracellularly recorded MVNn, the proportion of intracellularly recorded LVNn that were silent at rest was much higher (31 vs. 7%). In accordance with this difference, the spontaneous firing rate of LVNn was significantly lower than that of both types of MVNn when silent cells were included (second row of Table 1). When silent cells were not considered, the spontaneous firing rate of LVNn still tended to be lower than that of MVNn, but this trend did not reach significance ($P = 0.14$; third row of Table 1).

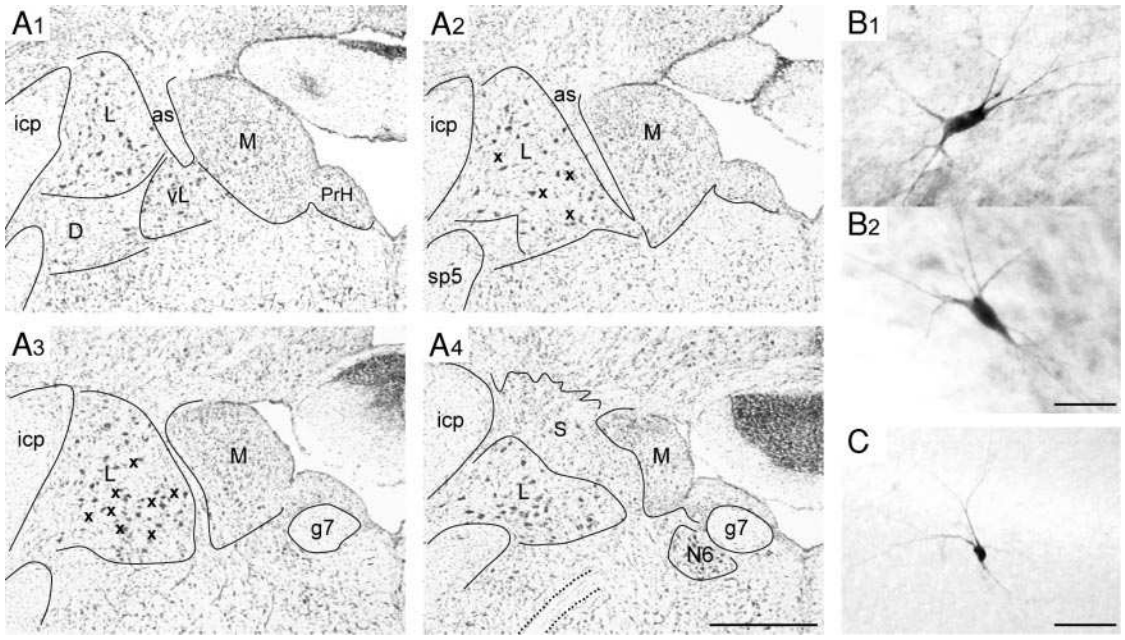


FIG. 1. Anatomic characterization of lateral vestibular nucleus (LVN) and location of neurobiotin-injected neurons. *A*: cresyl violet–stained brain stem sections of guinea pig including LVN are presented from caudal to rostral levels (*A1–A4*). Interval between each section is 224 μm. L, lateral vestibular nucleus; vL, ventro-medial portion of caudal part of LVN; M, medial vestibular nucleus; D, descending vestibular nucleus; S, superior vestibular nucleus; PrH, prepositus hypoglossi nucleus; icp, inferior cerebellar peduncle; sp5, spinal trigeminal tract; as, acoustic stria; g7, genu of facial nerve; N6, abducens nucleus. Crosses indicate approximate locations of 12 neurobiotin-injected LVN neurons (LVNn). Scale bar = 1 mm. *B1* and *B2*: high-magnification view of two representative, intracellularly recorded LVNn filled with neurobiotin at end of experiment. Scale bar = 100 μm. *C*: example of neurobiotin-injected medial vestibular nucleus neuron (MVNn) showed at same magnification as in *B*.

The firing rate of spontaneously active LVNn tended to be more irregular than in MVNn. The coefficient of variation (CV) of LVNn was not significantly different from the CV of type B MVNn, but was significantly higher than the CV of type A MVNn (Table 1, Fig. 2, *A1* and *D*). There was a significant, negative relationship between the CV and spontaneous firing rate of LVNn (correlation coefficient $r = -0.43$, $P = 0.02$). In spite of their lower spontaneous firing rate, the average resting membrane potential of LVNn was -59.4 ± 4.6 mV and was not significantly different from the resting membrane potential of either type of MVNn (Table 1). In accordance with this discrepancy, LVNn had a more depolarized firing threshold than that of MVNn. On average, the firing threshold of LVNn (i.e., the membrane potential at which they begin to fire action potentials spontaneously) was only slightly more hyperpolarized than their resting membrane potential.

When looking at the shape of the action potential and following AHP, the LVNn we recorded formed a more homogeneous population than MVNn did. Forty out of 42 (95%) displayed a very sharp spike, with a width at threshold <1 ms. Although the amplitudes of LVNn and MVNn spikes were similar, the spikes of LVNn were significantly narrower than the spikes of either type A or type B MVNn with a mean width of 0.89 ± 0.10 ms (Table 1). Ninety percent of the LVNn displayed during spontaneous firing a double-component AHP similar to the one observed in type B MVNn (Table 1, Fig. 2,

TABLE 1. *Comparisons between the basic membrane and firing properties of LVN and MVN neurons*

	LVNn (n = 42)	MVNn (n = 89)	MVN-A (n = 42)	MVN-B (n = 44)
VM (mV)	−59.4 ± 4.6	−58.7 ± 8.5	−56.8 ± 7.3	−60.7 ± 9.4
FR (spikes/s, including silent cells)	16.5 ± 18.9 10.6	26.2 ± 17.2 22.9**	29.1 ± 20.1 30.0**	24.3 ± 13.8 21.3**
FR (spikes/s, excluding silent cells)	23.9 ± 18.4 17.8	27.7 ± 16.5 23.6	32.6 ± 18.3 31.0	24.3 ± 13.8 21.3
CV (%)	13.2 ± 20.6	8.3 ± 9.5	7.1 ± 9.6*	9.5 ± 9.6
Firing threshold (mV)	−59.5 ± 13.4 (n = 35)	−67.9 ± 10.5** (n = 39)	−66.9 ± 10.7 (n = 19)	−69.8 ± 10.7** (n = 18)
Spike amplitude (mV)	54.5 ± 5.27	55.2 ± 7.5	54.6 ± 7.4	55.1 ± 7.3
Spike width (ms)	0.89 ± 0.10	1.15 ± 0.23***	1.25 ± 0.21***	1.06 ± 0.22***
AHP (mV)	13.9 ± 2.6	16.5 ± 4.4**	19.3 ± 3.8***	13.9 ± 3.4
D-AHP (V/s)	0.88 ± 0.96	0.38 ± 0.84***	0***	0.73 ± 1.07
A-like rectification (V/s)	0.09 ± 0.10	0.36 ± 0.51**	0.72 ± 0.54***	0.02 ± 0.04***
Resistance (MΩ)	58.8 ± 18.4 (n = 33)	94.6 ± 45.3*** (n = 50)	93.8 ± 39.9*** (n = 26)	96.2 ± 54.9** (n = 21)
Subthr. plateau (ms)	36.4 ± 39.5 (n = 34)	33.5 ± 40.1 (n = 25)	15.2 ± 32.9** (n = 13)	56.9 ± 38.5 (n = 11)

VM: values are mean ± SD of the resting membrane potential. FR: values are mean ± SD and median of the spontaneous firing rate of the sample including or excluding silent cells. CV, coefficient of variation of the spontaneous firing rate; D-AHP, strength of the double AHP; Subthr. plateau, duration of the subthreshold plateau potentials. Statistical difference with respect to LVNn: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

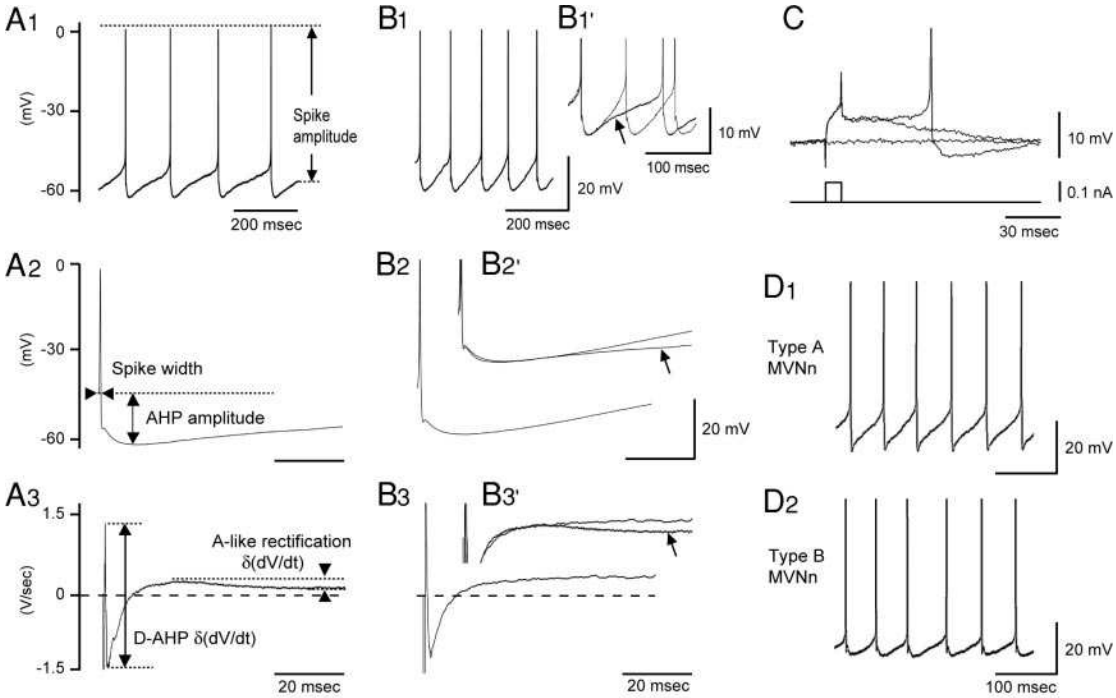


FIG. 2. Characterization of intracellularly recorded LVNn compared with MVNn. *A*: example of spontaneous discharge of LVNn is shown in *A1*. Amplitude of spike was measured between peak of spike and mean resting membrane potential. *A2*: averaged spike profile of neuron shown in *A1*. Note presence of double-component after-hyperpolarization (AHP). Width of spike was taken at threshold (i.e., at point on rising phase of action potential where slope of potential trace reached arbitrary threshold of 10 V/s. AHP amplitude was calculated as membrane potential difference between spike threshold and membrane potential minimum after falling phase of spike. *A3*: first derivative of *A2 voltage trace* (*dV/dt*). Falling phase of spike is not to scale. Both double-component AHP and A-like rectification are visible as transient decreases of *dV/dt trace*. Their strengths were quantified as algebraic decrease δ(dV/dt) in rate of interspike depolarization (dV/dt in V/s) associated with each phenomenon. *B, left, B1–B3 traces*: spontaneous discharge (*B1*), averaged spike profile (*B2*), and first derivative of averaged spike profile (*B3*) for LVNn displaying no A-like rectification. Note characteristic thin spike and double-component AHP. *Right*: *B1′–B3′ traces* are superimposed on those obtained for another LVNn displaying very similar thin spike and double AHP, but also a sizable A-like rectification. Superimposition of averaged spike profiles (*B2′*) and their first derivatives (*B3′*) demonstrate that A-like rectification is independent of rate of decay of slow AHP. A-like rectification results in decrease of spontaneous discharge rate of LVNn when present (*B1′*). Arrows indicate *traces* corresponding to LVNn displaying a sizable A-like rectification. *C*: example of subthreshold plateau potential induced in LVNn by low-amplitude, short-duration current pulses delivered while neuron was maintained just below its firing threshold. *Upper trace*: 3 superimposed *voltage traces* obtained with and without current step shown on *lower trace*. Spike was digitally clipped. *D*: examples of spontaneous firing of type A (*B1*) and type B (*B2*) MVNn.

A and *D*). In accordance with these results, the overall amplitude of the AHP of LVNn was comparable to the value obtained for type B MVNn, and lower than in type A MVNn (Table 1). About one quarter of LVNn (10 out of 42) displayed an A-like rectification stronger than 0.15 V/s, which was the criterion used to define the type A MVNn (Fig. 2, *A*, *B*, and *D*). Altogether, 25 of the LVNn (60%) showed a measurable A-like rectification ranging from 0.05 to 0.33 V/s, and there was a continuous distribution of the neurons in terms of the strength of their A-like rectification. The average strength of the A-like rectification of LVNn reached 0.09 ± 0.10 V/s (Table 1) and was much lower than in type A MVNn ($P < 0.001$), but also significantly higher than in type B MVNn ($P < 0.001$). Figure 2*B* shows that the presence and amplitude of the A-like rectification was independent of the rate of decay of the double-component AHP.

Although 10% of type B MVNn displayed low-threshold calcium spikes (LTS) and could be classified as B + LTS MVNn, we could not find any LTS in LVNn. However, most LVNn (30 out of 35, 86%) displayed subthreshold plateau potentials after short-duration, small depolarizing current pulses delivered from just below the firing threshold (Fig. 2*C*). This type of plateau potential was also found in 91% of type B MVNn, and was shown to result from the activation of tetrodotoxin-sensitive, persistent sodium currents (Serafin et al. 1991b). The duration of the plateau potentials triggered in LVNn varied from 0 to 102.2 ms around a mean of 36.4 ± 39.5 ms and was comparable to what was observed in type B (Table 1).

The passive input resistance of LVNn was estimated from their response to hyperpolarizing current pulses delivered from a slightly hyperpolarized potential in the absence of spontaneous firing. The resistance of the LVNn ranged from 31.2 to 106.1 MΩ, around an average value of 58.8 ± 18.4 MΩ, and was significantly lower than the input resistance of either type of MVNn (Table 1).

Altogether, the 42 LVNn we recorded constituted a homogeneous population of cells displaying very sharp spikes, strong double-component AHP, and often a weak A-like rectification.

Ionic conductance contributing to spike repolarization and AHP

Blockers of different potassium channels were applied to six representative LVNn to assess their respective contribution in

shaping the spike and AHP profile, as has already been done for MVNn (Johnston et al. 1994; Serafin et al. 1991b). 4-AP, which antagonizes the voltage-sensitive A potassium conductance (K_A) and the delayed rectifier (K_V), delayed the repolarization of the action potential. Consequently, the amplitude and width of the action potential were increased, whereas the first, early component of the double-AHP disappeared (Fig. 3*A*). As in type A MVNn (see INTRODUCTION), 4-AP did not modify the A-like rectification observed in some LVNn during the interspike interval (not shown). Tetraethylammonium, which antagonizes high- and small-conductance Ca^{2+}-sensitive K^+ channels (BK and SK) in addition to the delated-rectifier K_V, delayed the repolarization of the action potential and induced the appearance of a plateau potential after the peak of each action potential. The amplitude and width of the action potential were increased as with 4-AP (Fig. 3*B*). The amplitude of the AHP was reduced, and its latency, duration, and shape were completely modified. The selective SK channel blocker apamin induced a selective decrease of the second, late component of the AHP, without modifying the shape of the action potential (Fig. 3*C*). In summary, the pharmacological effects of the potassium channel blocker were similar to those previously observed in type B MVNn (Johnston et al. 1994; Peusner et al. 1998).

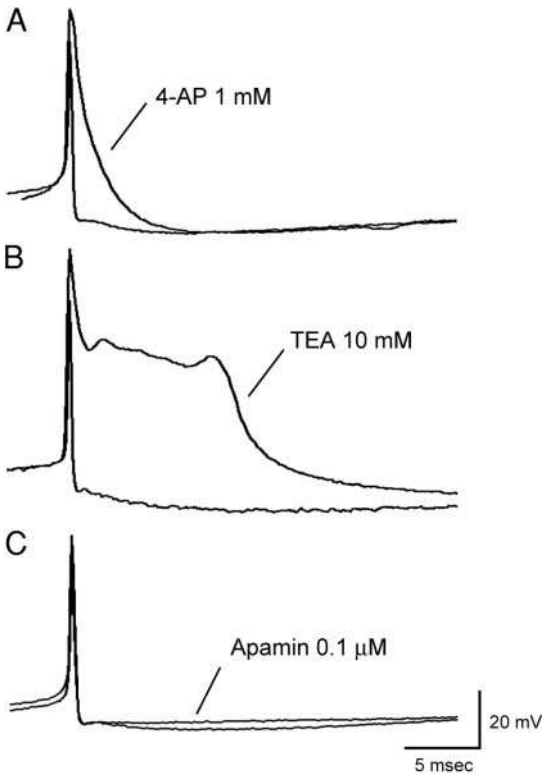


FIG. 3. Effects of different potassium channels blockers on spike shape of LVNn. *A*: example of effect of 4-aminopyridine (4-AP) on representative LVNn. *Spike traces* before and after drug application are superimposed. Note increase in amplitude and width of action potential, and disappearance of early component of double AHP. *B*: example of effect of tetraethylammonium on representative LVNn. Note plateau potential after peak of action potential. *C*: example of effect of apamin on representative LVNn. Note absence of modification of shape of action potential and selective decrease of second, late component of double AHP.

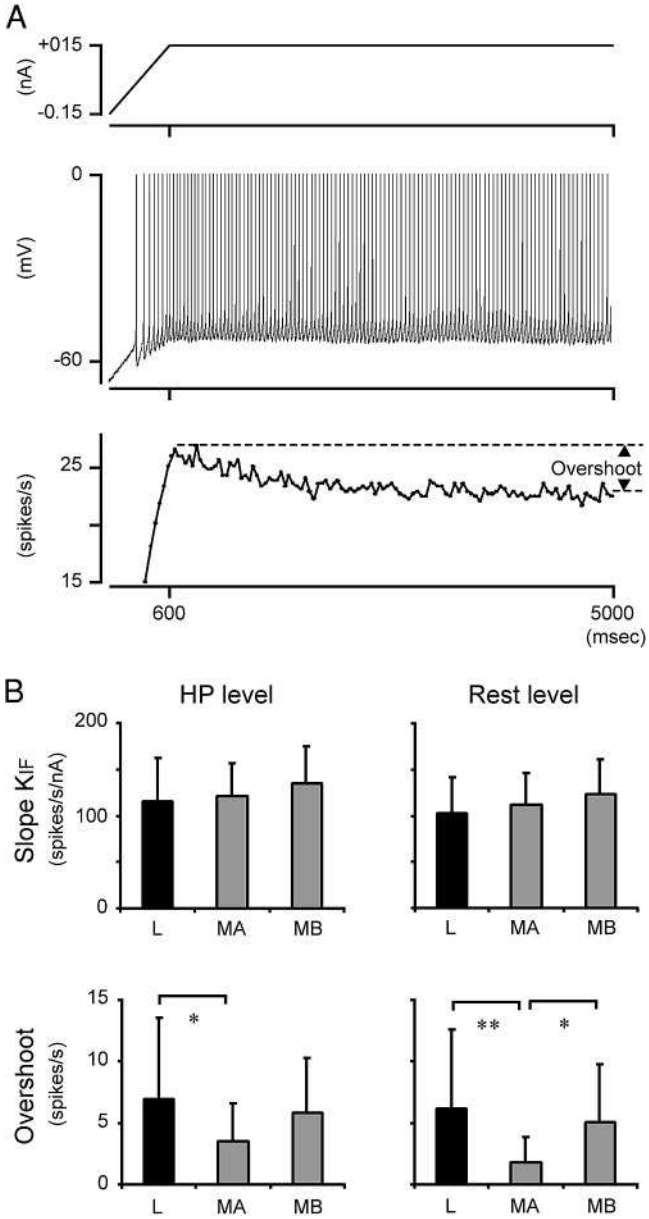


FIG. 4. Responses of LVNn to 600-ms duration ramplike currents. *A*: typical response of LVNn maintained under steady-state hyperpolarization. *Top*: profile of ramp current of 0.3-nA amplitude injected over 600 ms up to final steady-state value. *Middle*: membrane potential response to injected current. *Bottom*: plot of instantaneous firing (IF) rate response obtained for neuron displayed above, showing how overshoot was measured. *B*, *top panels*: mean rates of increase k_{IF} (slope) of IF vs. current obtained for LVNn (*L*) and both types of MVNn (MA and MB) in response to 600-ms ramps delivered during steady-state hyperpolarization (*left*) or at resting membrane potential (*right*). Note absence of significant difference between LVNn and MVNn. *Bottom panels*: mean overshoots obtained for LVNn and both types of MVNn in response to 600-ms ramps delivered during steady-state hyperpolarization (*left*) or at resting membrane potential (*right*). Asterisks indicate significant differences between different groups of neurons (*$P < 0.05$, **$P < 0.01$).

Responses of LVNn to the injection of depolarizing ramplike currents

Out of the 5 ramps applied to each cell, the 600-ms (slope of 0.5 nA/s) ramp gave the most significant results and was taken as the main index of the response of LVNn to ramplike currents. Figure 4*A* shows the typical response of an LVNn to

a 600-ms ramp delivered from a hyperpolarized level, below the firing threshold. In most LVNn tested (25 out of 27), the instantaneous firing (IF) frequency reached at the end of the ramp was higher than the one observed at the end of the current plateau; that is, an overshoot was observed (Fig. 4*A*). The mean overshoot of LVNn (6.9 ± 6.6 spikes/s) was similar to the one displayed by type B MVNn, and significantly higher than the one displayed by type A MVNn ($P = 0.014$, Fig. 4*B*). The same was true for the ramps delivered from the resting membrane potential (Fig. 4*B*). Whatever the level of polarization of the neurons, the sensitivity of LVNn to steep, ramplike current injection, given by k_{IF}, was similar to that of both types of MVNn, as shown in Fig. 4*B* (*upper panels*).

The slope of increase of the firing rate in response to the injected current (k_{IF}) and the overshoot were higher when the slope of the ramp increased. For example, the mean values obtained for 600-ms ramps delivered from a hyperpolarized level ($k_{IF} = 114.9 \pm 47.0$ spikes s^{-1} nA^{-1}, overshoot = 6.9 ± 6.6 spikes/s) were significantly higher than those obtained for 3,400-ms ramps ($k_{IF} = 98.7 \pm 39.6$ spikes s^{-1} nA^{-1}, $P = 0.004$; overshoot = 2.0 ± 1.9 spikes/s, $P < 0.001$). The same increase of the mean k_{IF} and overshoot of LVNn with the slope of the ramp was observed for the ramps delivered from the resting membrane potential. However, compared with the ramps delivered from a hyperpolarized level, the mean overshoots and k_{IF} of the ramps delivered from rest tended to be smaller for all slopes.

Responses of LVNn to injections of sinusoidal currents delivered during steady-state hyperpolarization, in the absence of action potentials

When sinusoidal currents were delivered in the absence of action potentials, LVNn responded by a sinusoidal modulation of their membrane potential (Fig. 5*A*). In accordance with their lower input resistance, the impedance Zh of LVNn was significantly lower than that of both types of MVNn at all frequencies tested (Fig. 5*C*). At 0.4 Hz, for instance, Zh was 58.7 ± 20.2 MΩ for LVNn versus 131.2 ± 58.7 MΩ for MVNn ($P < 0.001$, Table 2 HP level). As was the case for MVNn, the membrane potential modulation δVh of LVNn displayed a small resonance at a median peak frequency of 0.7 Hz. This median peak frequency was comparable to the one obtained for type A and type B MVNn (Fig. 5*C*, Table 2). Although the Zh 4/0.4 ratio was not significantly different between LVNn and MVNn, the amplitude of the resonance of LVNn (1.08 ± 0.08)

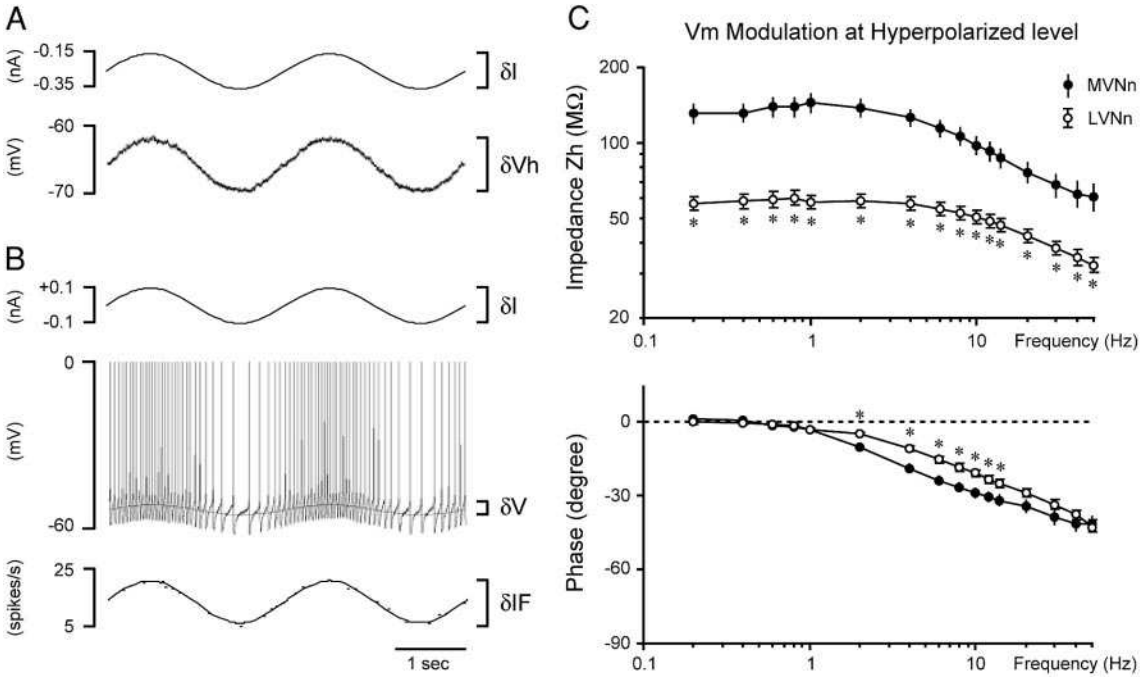


FIG. 5. Responses of LVNn to injection of sinusoidal currents: methods and results obtained during steady-state hyperpolarization, in absence of action potentials. *A*: measurement of membrane potential modulation induced by sinusoidal current injection during steady-state hyperpolarization, in absence of action potentials. *Top*: profile of 0.4-Hz sinusoidal current injected into neuron; δI, amplitude of current modulation. *Bottom*: typical membrane potential response of LVNn. δVh, amplitude of modulation of membrane potential. Bars on *right* show how δI and δVh were measured. *B*: measurement of instantaneous spike frequency modulation induced by sinusoidal current. *Top trace*: profile of 0.4-Hz sinusoidal current injected into neuron; δI, amplitude of current modulation. *Middle*: membrane potential response of LVNn. δV, amplitude of modulation of mean membrane potential underlying firing rate response. *Bottom trace*: corresponding instantaneous firing rate modulation (δIF) calculated and fitted with sine wave to obtain magnitude and phase shifts of firing rate response at different stimulating frequencies. All spikes are shown digitally clipped at 0 mV. Bars on *right* show how δI, δIF, and δV were measured. *C*: magnitude and phase of responses of LVNn to injection of sinusoidal currents during steady-state hyperpolarization. *Top graph*: mean magnitude of membrane potential modulation displayed by LVNn and whole sample of MVNn as function of stimulation frequency. Because amplitude of injected current was constant for any given neuron, modulation is given as impedance Zh of cell (δVh/δI) as function of frequency. Mean values shown with SE, but many of error bars are not visible because of their short length. Asterisks indicate values significantly different from those obtained on MVNn ($P < 0.05$). *Bottom graph*: mean phase of membrane potential modulation displayed by LVNn and MVNn recorded under steady-state hyperpolarization as function of stimulation frequency. Values are means ± SE; asterisks indicate values significantly different from those obtained on MVNn ($P < 0.05$).

TABLE 2. *Comparisons between the responses to sinusoidal currents of LVN and MVN neurons*

		LVNn	MVNn	MVN-A	MVN-B
Hyperpol level	Zh at 0.4 Hz (MΩ)	58.7 ± 20.2 (n = 28)	131.2 ± 58.7*** (n = 24)	127.9 ± 49.6*** (n = 13)	140.7 ± 71.5** (n = 10)
	Zh 4/04 (ratio)	0.98 ± 0.09	0.97 ± 0.13	0.97 ± 0.11	0.96 ± 0.16
	Median R-peak frequency (Hz)	0.7	1.0	1.0	0.7
	R-ratio	1.08 ± 0.08	1.18 ± 0.13**	1.19 ± 0.11**	1.17 ± 0.15
Rest level	Z at 0.4 Hz (MΩ)	29.8 ± 17.8 (n = 48)	58.5 ± 33.9*** (n = 23)	57.5 ± 20.9*** (n = 23)	62.4 ± 43.6**
	δIF/δV at 0.4 Hz (spikes s^{-1} mV^{-1})	5.29 ± 5.12	3.08 ± 2.05*	2.48 ± 1.35**	3.34 ± 1.82
	δIF/δI at 0.4 Hz (spikes s^{-1} nA^{-1})	105.4 ± 39.2	130.5 ± 48.1*	116.2 ± 43.8	145.1 ± 50.7**
	IF 4/04	0.94 ± 0.19	1.10 ± 0.16**	1.08 ± 0.17*	1.12 ± 0.15**
	Median R-peak frequency (Hz)	0.8	6.0**	8.0**	4.0*
	R-ratio	1.20 ± 0.21	1.31 ± 0.23*	1.28 ± 0.22	1.35 ± 0.24*
Depo level	Z at 0.4 Hz (MΩ)	19.1 ± 15.8 (n = 21)	47.9 ± 36.4** (n = 24)	46.8 ± 39.0* (n = 11)	49.7 ± 37.1** (n = 12)
	δIF/δV at 0.4 Hz (spikes s^{-1} mV^{-1})	9.59 ± 10.05	3.96 ± 2.65**	4.44 ± 3.41*	3.64 ± 1.89**
	δIF/δI at 0.4 Hz (spikes s^{-1} nA^{-1})	99.7 ± 36.5	119.0 ± 38.1	113.2 ± 34.2	125.8 ± 43.2
	IF 4/04	1.04 ± 0.14	1.18 ± 0.07***	1.18 ± 0.07**	1.18 ± 0.07**
	Median R-peak frequency (Hz)	8.0	10.0	12.0*	8.0
	R-ratio	1.29 ± 0.23	1.38 ± 0.15*	1.42 ± 0.18*	1.35 ± 0.11

Values are means ± SD; n = number of neurons. Statistical difference with respect to LVNn: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

was significantly lower than the amplitude of the resonance obtained for the whole sample of MVNn ($P = 0.006$, Table 2). However, these results demonstrate that the membrane of LVNn as well as MVNn does not behave in a purely passive way at moderately hyperpolarized levels. In accordance with its slight resonance, the membrane potential response of LVNn displayed a small, nonsignificant phase lead with regard to the injected current at the lowest frequencies of stimulation, which became a phase lag at higher frequencies (Fig. 5*C*). The phase lags obtained for LVNn were significantly lower than those measured for the whole sample of MVNn at intermediate frequencies (from 2 to 14 Hz), which is mainly attributed to the lower impedance of LVNn. Indeed, independently of the amplitude of the resonance, the lower impedance of LVNn resulted in higher "corner frequencies" and in a shift of the phase lags to higher frequencies compared with those of MVNn.

Responses of LVNn to injections of sinusoidal currents delivered at (or just above) the resting membrane potential

When sinusoidal currents were delivered in the presence of action potentials, LVNn responded by a sinusoidal modulation of their membrane potential and firing rate (Fig. 5*B*). As pointed out in METHODS, the mean membrane potential excursion could be reliably estimated for frequencies ≤1 Hz. In accordance with the lower input resistance of LVNn, their active impedance Z (δV/δI) measured at 0.4 Hz was significantly lower than the one obtained for either type of MVNn ($P < 0.001$ for type A and $P = 0.002$ for type B MVNn, Table 2). In terms of instantaneous firing rate, the sensitivity of LVNn to sinusoidal current injection was 105.4 ± 39.2 spikes s^{-1} nA^{-1} at 0.4 Hz, which was significantly lower than that for type B MVNn ($P = 0.006$), but comparable to the value obtained for type A MVNn (Table 2). Indeed, compared with type A MVNn, the lower active impedance of LVNn was compensated by a higher sensitivity of their discharge to membrane potential variations (δIF/δV, $P = 0.007$, Table 2).

The sensitivity to sinusoidal current δIF/δI of LVNn was significantly lower than that of the whole sample of MVNn for all frequencies below 10 Hz (Fig. 6*A2*). Over this range of frequencies, the sensitivity to sinusoidal current of LVNn was always significantly lower than that of type B MVNn, but only tended to be lower than that of type A MVNn, except at 4 and 8 Hz. However, the main difference between LVNn and MVNn was that the sensitivity of LVNn did not vary as much over the whole range of frequencies tested. In other words, compared with both type A and type B MVNn, the Bode plot showing the variation of δIF/δI with frequency was flatter (Fig. 6, *A1* and *A2*). The ratio between δIF at 4 Hz and 0.4 Hz (IF 4/04) was significantly lower for LVNn than that for either type A or type B MVNn (*P* values of 0.025 and 0.006, respectively; Table 2). The amplitude of the resonance (*R-ratio*) was also significantly lower for LVNn than for the whole sample of MVNn ($P = 0.039$, Table 2). Furthermore, data from individual neurons (Fig. 6*A1*) showed that most LVNn did not show the gradual decrease of their firing rate modulation by current injection usually observed for MVNn after the peak frequency of resonance (Fig. 6*A2*). This sudden stop of the modulation of spontaneous firing arose from the fact that LVNn tended to completely synchronize their firing with the depolarizing phase of sinusoidal current injections as soon as the frequency of stimulation became higher than about half of their spontaneous firing rate. The peak frequency of resonance (*R-peak*) of LVNn was extremely variable around a median of 0.8 Hz (see the data for individual neurons on Fig. 6*A1*), but was nonetheless lower than that of type A and type B MVNn (*P* values of 0.009 and 0.013, respectively; Table 2).

The firing rate modulation of LVNn displayed a small, but significant phase lead with regard to the injected current at 0.2 Hz ($P = 0.002$, one-sample *t*-test) and 0.4 Hz ($P = 0.01$). This phase lead decreased to zero and became a phase lag at higher frequencies (Fig. 6*A3*). Compared with the phase values obtained for the membrane potential modulation during steady-state hyperpolarization, both the phase lead observed at low frequency and the phase lag obtained at high frequency tended to be greater. In accordance with their lower peak frequency of resonance, LVNn displayed a larger phase lag than that of MVNn at 0.8, 1, and 2 Hz (Fig. 6*A3*). At 2 Hz, for instance, the

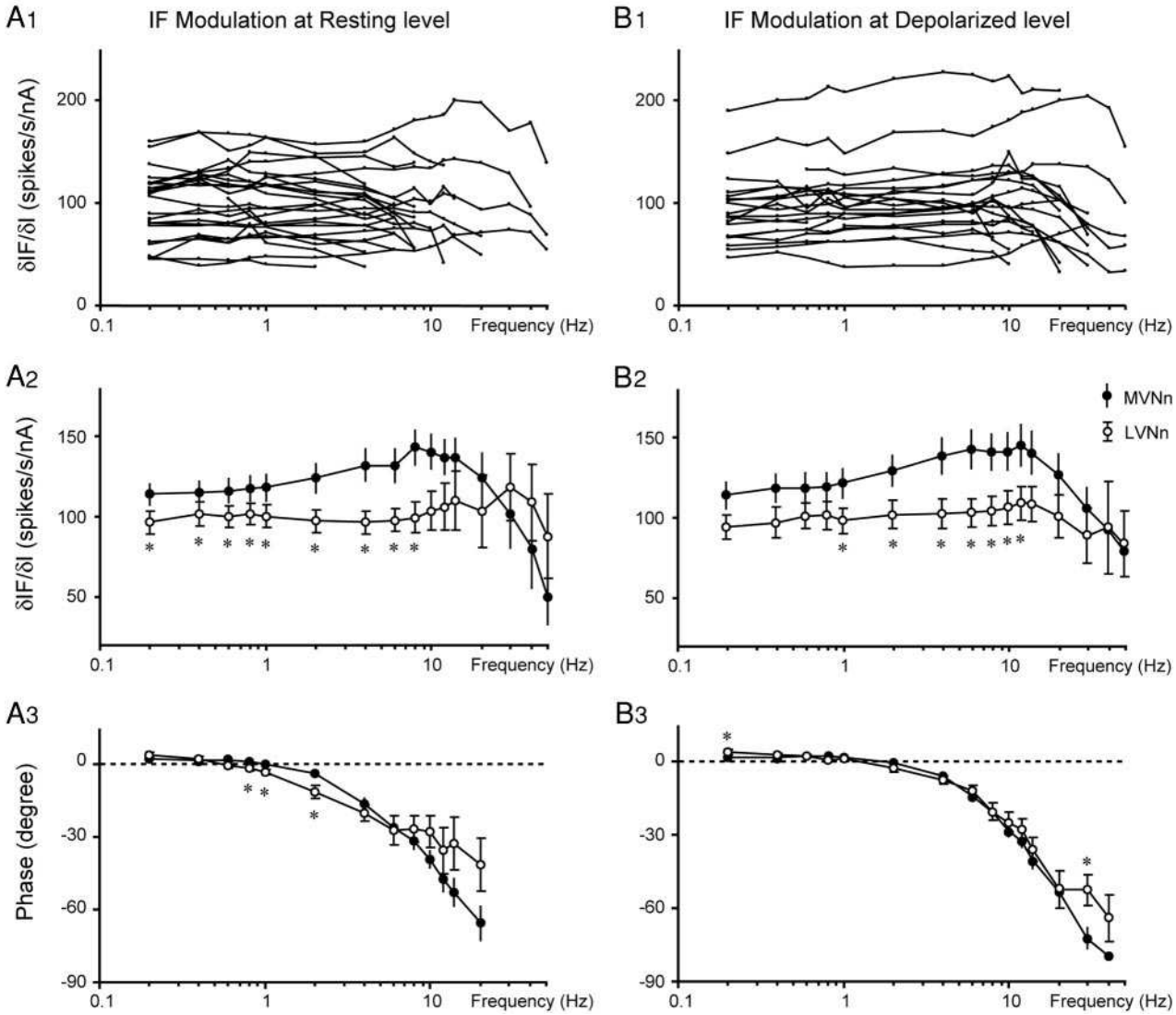


FIG. 6. Responses of LVNn to injection of sinusoidal currents in presence of action potentials. *A*: superimposed curves in A1 show amplitude of firing rate modulation (δIF/δI) displayed at their resting membrane potential by individual LVNn as function of stimulation frequency. Note general flatness of curves and sudden stop of their modulation at high frequency. *A2*: mean amplitude of firing rate modulation displayed by LVNn and whole sample of MVNn at their resting membrane potential as function of stimulation frequency. *A3*: mean phase of firing rate modulation (δIF/δI) displayed by LVNn and MVNn recorded at their resting membrane potential as function of stimulation frequency. Error bars and asterisks have same meaning as in Fig. 5*C*. *B*: *B1– B3 plots* are similar to *A1–A3 plots*, but show firing rate modulations obtained for LVNn and whole sample of MVNn during steady-state depolarization.

phase lag of LVNn reached $-11.3 \pm 13.3°$ versus $-1.8 \pm 7.0°$ for type A MVNn ($P = 0.003$) and $-4.7 \pm 9.9°$ for type B MVNn ($P = 0.076$).

Responses of LVNn to injections of sinusoidal currents during steady-state depolarization

The LVNn maintained under steady-state depolarization displayed a significantly higher spontaneous discharge than that at their resting membrane potential. Thus sinusoidal modulation of this spontaneous discharge was maintained up to higher frequencies of sinusoidal current injection (Fig. 6*B*). As at rest, the active impedance (δV/δI) of LVNn measured at 0.4 Hz was significantly lower than that obtained for either type of MVNn ($P = 0.013$ for type A and $P = 0.003$ for type B MVNn, Table 2 Depo level). In terms of instantaneous firing rate, the sensitivity of LVNn to sinusoidal current injection tended to be lower than that for type B MVNn ($P = 0.072$), and was comparable to the value obtained for type A MVNn (Table 2). Compared with both type A and type B MVNn, the lower active impedance of LVNn was compensated by a higher sensitivity of their discharge to membrane potential variations (δIF/δV, *P* values of 0.041 and 0.009, respectively; Table 2).

The sensitivity to sinusoidal current δIF/δI of LVNn was significantly lower than that of the whole sample of MVNn for all frequencies between 1 and 14 Hz (Fig. 6*B2*). Over this range of frequencies, the sensitivity to sinusoidal current of LVNn was significantly lower than that of type B MVNn from 2 to 10 Hz, but significantly lower than that of type A MVNn only at 4 and 6 Hz. As at rest, the Bode plot showing the

variation of δIF/δI with frequency was flatter for LVNn than that for either type of MVNn (Fig. 6, *B1* and *B2*). The IF 4/04 ratio was significantly lower for LVNn than that for type A or type B MVNn ($P = 0.002$ in both cases; Table 2). The amplitude of the resonance (*R-ratio*) was also significantly lower for LVNn than that for the whole sample of MVNn ($P = 0.019$, Table 2). As at the resting membrane potential, data from individual neurons (Fig. 6*B1*) showed that most LVNn did not show the gradual decrease of their firing rate modulation observed for MVNn after the peak frequency of resonance (Fig. 6*B2*). The peak frequency of resonance (*R-peak*) of LVNn was again very variable, but significantly higher than at the resting membrane potential, with a median value of 8 Hz. The median peak frequency of resonance of LVNn was significantly lower than that of type A MVNn ($P = 0.046$), but similar to that of type B MVNn ($P = 0.30$, Table 2).

Compared with the phase values obtained at the resting membrane potential, LVNn displayed a significant phase lead ≤0.6 Hz ($P < 0.001$, one sample *t*-test) instead of 0.4 Hz. In addition, LVNn had a smaller phase lag at intermediate frequencies (Fig. 6*B3*), in accordance with their higher frequency of resonance. As a consequence, the significant difference observed at rest between the phase lag displayed by LVNn and MVNn at 2 Hz disappeared ($P = 0.23$; Fig. 6*B3*).

DISCUSSION

Compared with MVNn, LVNn form a more homogeneous population of cells characterized by very sharp spikes, and a low-amplitude, biphasic AHP similar to the double AHP of type B MVNn. They are, however, often endowed with a low-strength A-like rectification resembling the one characterizing type A MVNn. Although their input membrane resistance was half that of MVNn, the sensitivity of their firing rate to *large* ramplike current injection was not significantly different. The overshoot induced in LVNn by steep ramps was similar to that of type B MVNn, and greater than that of type A MVNn. The sensitivity of LVNn to *small-amplitude*, sinusoidal current injection was significantly lower than that of the whole sample of MVNn over a wide range of frequencies. The difference was more significant with type B MVNn than with type A MVNn. The main difference between LVNn and MVNn was that the Bode plots showing their sensitivity as a function of the frequency of stimulation were flatter than those of MVNn, and displayed a much weaker resonance. Furthermore, in most LVNn it was not possible to measure the gradual decrease of the firing rate modulation observed in MVNn past their peak frequency of resonance because they synchronized their firing with the depolarizing phase of high-frequency sinusoidal current injections. The answer to the first question posed in the INTRODUCTION, therefore, is that the properties observed in numerous studies of MVNn in slices do not necessarily generalize to other cell groups in the vestibular nuclei.

Location and identification of the recorded neurons

Before addressing the static and dynamic membrane properties of LVNn in more detail, we need to discuss whether the neurons we recorded from were in the LVN, and whether they can be more precisely identified. In cytoarchitectonic studies of the mammalian vestibular nuclei, the LVN has been classically defined as that part of the vestibular complex that contains a large number of multipolar, giant-size cells, that is, the Deiters' neurons (Brodal and Pompeiano 1957). In general, the boundaries of the LVN are quite easy to define, but there is a controversy concerning the border between the ventro-lateral part of the MVN and the ventro-medial part of the caudal LVN (for review see Ris et al. 1999). Indeed, the area denoted vL in Fig. 1*A1* has been reported to belong either to the LVN (Brodal and Pompeiano 1957; Mehler and Rubertone 1985) or to the magnocellular part of the MVN (Epema et al. 1988; Gerrits et al. 1985) in the rabbit, cat, and rat. Two cytoarchitectonic studies performed in the guinea pig have concluded that this vL area was part of the LVN (Gstoettner and Burian 1987; Ris et al. 1999), but other authors disagree (Graf et al. 2002). Although we agree that, in the guinea pig, vL cannot be incorporated into the MVN on cytoarchitectonic criteria, this area appears to be the origin of the ascending tract of Deiters, which is involved in the control of eye movements (Graf et al. 2002; Nguyen et al. 1999). In this respect, then, it belongs more to the MVN, which has both oculomotor and spinal projections, than to the LVN, whose neurons project almost exclusively to the spinal cord (Carleton and Carpenter 1983; Sarkisian 2000).

The 12 representative neurons that were injected with neurobiotin were all localized within the boundaries of the LVN, and none of them was in the controversial vL area. Indeed, they were all recorded more rostrally, at a level where the LVN and MVN are clearly separated from one another by the acoustic stria (Fig. 1, *A2* and *A3*). Because all neurons we recorded were localized using the same landmarks, this suggests that most of them were LVNn, and were not involved in the control of eye movements by the ascending tract of Deiters.

All LVNn injected with neurobiotin were large or giant neurons, with a mean soma diameter of ≥45 μm. Together with the strong homogeneity of their membrane properties, this suggests that most of the LVNn we recorded had a similar size and were Deiters' neurons much bigger than the usual MVNn (compare Fig. 1*B* and 1*C*). In the guinea pig as in other vertebrates, however, the LVN is characterized by a morphological variety of cells (Gstoettner and Burian 1987; Mehler and Rubertone 1985; Pompeiano 1991; Ris et al. 1999). In addition to the typical giant cells (Deiters' cells), the nucleus also contains small and medium-size cells that were apparently not recorded in this study. This sampling bias was probably attributable to the fact that bigger neurons were much easier to penetrate with intracellular recording electrodes than the smaller cells. This bias was not a problem in the MVN, given that MVNn are all densely packed, small to medium-size cells (Gstoettner and Burian 1987).

Basic membrane and firing properties of LVNn compared with those of MVNn

As mentioned above, the homogeneity of the membrane properties of LVNn we recorded contrasts with the heterogeneity of MVNn. Considering together the spike shape, membrane resistance, and spontaneous firing properties of LVNn, they were different from those of either type A or type B MVNn. In a sense, the large LVNn, which tended to display both the double AHP of type B MVNn and the A-like rectification of type A MVNn, looked like a composite of type A and type B MVNn. Although LVNn express the same strong per-

sistent sodium currents as type B MVNn, none of the LVNn displayed the LTS that characterize the B + LTS MVNn. The homogeneity of LVNn may reflect the fact that most of the neurons we penetrated were probably large or giant Deiters' neurons.

LVNn have the same mean membrane potential as that of MVNn, but their average discharge rate tends to be lower. This difference has been observed by others authors in vitro (Sun et al. 2002). Furthermore, both extracellular and intracellular recordings show that about one third of LVNn are silent at rest in vitro. This proportion is higher than the proportion of silent neurons found among intracellularly recorded MVNn (7%), as well as among MVNn recorded extracellularly in an in vitro whole brain preparation (12%; Vibert et al. 1999a). In accordance with their lower discharge rate, the spontaneous discharge of LVNn was more irregular than that of MVNn. Actually, there was a significant negative relationship between the coefficient of variation of the LVNn we recorded and their spontaneous firing rate. Surprisingly, in vivo recordings suggest the average resting frequency of neurons in LVN is similar to, or higher than, that of neurons in the MVN (Ris et al. 1995; Ryu and McCabe 1971). This discrepancy suggests that the resting activity of LVNn in vivo may depend more than that of MVNn on the excitatory inputs they receive from the vestibular nerve, and from other structures like the medullary reticular formation and cerebellar fastigial nucleus. Alternatively, the discrepancy between in vivo and in vitro data may be explained by the fact that we recorded large Deiters' neurons among LVN cells. Indeed, extracellular recordings in the cat have shown that in the LVN, the spontaneous firing rate of identified vestibulospinal neurons was inversely related to their conduction velocity, and hence presumably to their size (Pompeiano 1991). In other words, the largest LVNn would have significantly lower spontaneous discharge rates than those of the other vestibulospinal neurons within the LVN. Similarly, the low input membrane resistance and active membrane impedance displayed by LVNn compared with MVNn must correspond to their bigger size.

According to the results obtained with potassium channel antagonists, the pharmacology of giant LVNn is completely in agreement with what has been found in MVNn (Johnston et al. 1994; Peusner et al. 1998). No fundamental difference was found in the types of potassium currents that shape the action potential and interspike interval.

Responses of LVNn to ramplike and sinusoidal currents

In accordance with their much lower input resistance and active impedance, the sensitivity of the firing rate of large-size LVNn to small-amplitude sinusoidal current injections was significantly lower than that of the whole sample of MVNn. Separate comparisons with each type of MVNn demonstrated that there was a significant difference between LVNn and type B MVNn, but that the trend for LVNn to display a lower sensitivity than that of type A MVNn was often not significant. This means that, at least compared with type A MVNn, the lower active impedance of LVNn was compensated by a higher sensitivity of their discharge to membrane potential variations ($\delta IF/\delta V$). This looks even truer for large-amplitude, ramplike current injections, given that the trend for the sensitivity of the firing rate of LVNn to be lower than that of MVNn disappeared for such stimuli. In addition, the overshoot displayed by LVNn in response to steep ramps was similar to that of type B MVNn, and significantly higher than that of type A MVNn.

The amplitude of the response of LVNn to current injections was pretty flat over a large range of frequency, with a smaller resonance than that in both types of MVNn. This was not attributed to the lower mean spontaneous discharge rate of LVNn, given that the shape of the Bode plot was not modified when the LVNn were maintained continuously depolarized and therefore had a much higher spontaneous firing rate. As pointed out above, the LVNn we recorded looked like a composite of type A and type B MVNn but were not endowed with radically different membrane properties. This means that just subtle changes in the membrane properties of central neurons are sufficient to modify the profile of their dynamic responses. This is in accordance with results obtained using realistic neuronal models of each type of MVNn (Av-Ron and Vidal 1999; Ris et al. 2001), which show that the dynamics of their responses to current injection can be strongly modified by small changes in one or two of their ionic conductances. In addition, the amplitude of the firing rate modulation of LVNn by sinusoidal currents was limited to a certain cutoff frequency, above which there was no indication of a progressive fall as seen in MVNn past their peak frequency of resonance. This suggests that LVNn tend to synchronize their discharge very efficiently with high-frequency inputs (more than both types of MVNn). Interestingly, the type B MVNn, with their sharper spikes and larger overshoot, already tended to show a better synchronization than did type A neurons (Ris et al. 2001).

Do the different membrane properties displayed by LVNn and MVNn reflect their distinct functional role?

In many respects, and despite their lower sensitivity to current injections, LVNn resemble more type B MVNn than type A MVNn. Indeed, both groups of neurons display similar spike shapes, a high sensitivity of the firing rate to membrane potential variation, and strong nonlinear properties like the overshoot and persistent sodium current. Because the LVNn we recorded are probably mainly vestibulospinal neurons, it is tempting to speculate that among MVNn, type B neurons might correspond to vestibulospinal neurons, whereas type A neurons might be vestibuloocular neurons. However, this is probably not the case because in data from the isolated whole brain, a similar proportion of type A and type B MVNn have been identified as vestibulospinal neurons (Vibert et al. 1997; and unpublished data). In addition, the picture is complicated by the fact that the MVN includes a nonnegligible proportion of vestibulo-oculo-spinal neurons that project both to the oculomotor system and the spinal cord (for reviews see Uchino and Isu 1992; Vibert et al. 1997). We think more of the type A and type B MVNn as mediating parallel pathways going both to the oculomotor and postural systems, but having different dynamic properties (Ris et al. 2001).

Although some of the differences between LVNn and MVNn (such as the different membrane resistance) probably result from their very different sizes, the distinct dynamics displayed by LVNn in response to current injections cannot be directly inferred from their anatomy. Indeed, as mentioned above, realistic neuronal models of MVNn show that the

resonant properties of neurons can be modified by slight changes of specific ion conductance (Av-Ron and Vidal 1999; Ris et al. 2001). This suggests that the difference between the resonance displayed by MVNn and LVNn might reflect their distinct functional roles, that is, LVNn are mainly involved in the control of posture, whereas MVNn are rather involved in eye–head coordination and gaze control.

The LVNn we recorded presumably constitute a specific subset of the neurons present in the LVN. According to Boyle and Pompeiano (1980), and Kasper et al. (1988), neurons of the cat LVN contain in vivo a population of cells whose responses to whole body rotations in the vertical plane (i.e., amplitude of the modulation of the firing rate and phase with regard to position) remain relatively unmodified with changes in frequency. These positional responses were attributed to stimulation of macular receptors. Recently Angelaki and Dickman (2000) studied, in monkeys, properties of central otolith neurons that respond to linear accelerations of the head. Among these neurons recorded in the rostral vestibular nuclei, at least 3 groups of central response dynamics were described. *1*) "High-pass" neurons exhibited increasing gains and phase values as a function of frequency. *2*) "Flat" neurons were characterized by relatively flat gains and constant phase lags (20–55°). *3*) A few neurons ("low-pass") were characterized by decreasing gain and phase as a function of frequency. Because the response dynamics of the large LVNn we recorded appears very similar to that of the so-called flat neurons, it is tempting to speculate that the latter might correspond to the giant vestibulospinal Deiters' cells of the LVN.

We thank Dr. Mauro Serafin (University of Geneva) for help in putting together the neurobiotin tracer injections and associated histological procedures.

DISCLOSURES

This work was supported by grants from the Centre National de la Recherche Scientifique (Direction des Relations Internationales) and the Centre National d'Etudes Spatiales. Dr. Uno was supported by the French Ministère des Affaires Etrangères (Boursier du Gouvernement Français 2001) and continued to receive support from the Osaka University Medical School while on leave from that institution.

REFERENCES

Aghajanian GK and Rasmussen K. Intracellular studies in the facial nucleus illustrating a simple new method for obtaining viable motoneurons in adult rat brain slices. *Synapse* 3: 331–338, 1989.

Aitken PG, Breese GR, Dudek FF, Edwards F, Espanol MT, Larkman PM, Lipton P, Newman GC, Nowak TS Jr, Panizzon KL, Raley-Susman KM, Reid KH, Rice ME, Sarvey JM, Schoepp DD, Segal M, Taylor CP, Teyler TJ, and Voulalas PJ. Preparative methods for brain slices: a discussion. *J Neurosci Methods* 59: 139–149, 1995.

Angelaki DE and Dickman JD. Spatiotemporal processing of linear acceleration: primary afferent and central vestibular neurons responses. *J Neurophysiol* 84: 2113–2132, 2000.

Av-Ron E and Vidal PP. Intrinsic membrane properties and dynamics of medial vestibular neurons: a simulation. *Biol Cybern* 80: 383–392, 1999.

Babalian A, Vibert N, Assié G, Serafin M, Mühlethaler M, and Vidal PP. Central vestibular networks in the guinea pig: functional characterization in the isolated whole brain *in vitro. Neuroscience* 81: 405–426, 1997.

Bankoul S, Goto T, Yates B, and Wilson VJ. Cervical primary afferent input to vestibulospinal neurons projecting to the cervical dorsal horn: an anterograde and retrograde tracing study in the cat. *J Comp Neurol* 353: 529–538, 1995.

Beraneck M, Hachemaoui M, Idoux E, Ris L, Uno A, Godaux E, Vidal PP, Moore L, and Vibert N. Long-term plasticity of ipsilesional medial vestibular nucleus neurons after unilateral labyrinthectomy. *J Neurophysiol* 90: 184–203, 2003.

Boyle R and Pompeiano O. Reciprocal responses to sinusoidal tilt of neurons in Deiters' nucleus and their dynamic characteristics. *Arch Ital Biol* 118: 1–32, 1980.

Brodal A and Pompeiano O. The vestibular nuclei in the cat. *J Anat* 91: 438–454, 1957.

Carleton SC and Carpenter MB. Afferent and efferent connections of the medial, inferior and lateral nuclei in the cat and monkey. *Brain Res* 278: 29–51, 1983.

Carleton SC and Carpenter MB. Distribution of primary vestibular fibers in the brainstem and cerebellum of the monkey. *Brain Res* 294 :281–298, 1984.

Chen-Huang C, McCrea RA, and Goldberg JM. Contributions of regularly and irregularly discharging vestibular nerve inputs to the discharge of central vestibular neurons in the alert squirrel monkey. *Exp Brain Res* 114: 405–422, 1997.

Darlington CL, Gallagher JP, and Smith PF. In vitro electrophysiological studies of the vestibular nucleus complex. *Prog Neurobiol* 45: 335–346, 1995.

Devor A, Fritschy JM, and Yarom Y. Spatial distribution and subunit composition of $GABA_A$ receptors in the inferior olivary nucleus. *J Neurophysiol* 85: 1686–1696, 2001.

Du Lac S and Lisberger SG. Membrane and firing properties of avian medial vestibular nucleus neurons *in vitro. J Comp Physiol A Sens Neural Behav Physiol* 176: 641–651, 1995a.

Du Lac S and Lisberger SG. Cellular processing of temporal information in medial vestibular nucleus neurons. *J Neurosci* 15: 8000–8010, 1995b.

Dutia MB and Johnston AR. Development of action potentials and apamin-sensitive after-potentials in mouse vestibular nucleus neurons. *Exp Brain Res* 118: 148–154, 1998.

Epema AH, Gerrits NM, and Voogd J. Commissural and intrinsic connections of the vestibular nuclei in the rabbit: a retrograde labeling study. *Exp Brain Res* 71: 129–146, 1988.

Gacek RR. The course and central termination of first-order neurons supplying vestibular endorgans in the cat. *Acta Otolaryngol Suppl* 254: 1–66, 1969.

Gallagher JP, Lewis MR, and Shinnick-Galagher P. An electrophysiological investigation of the rat medial vestibular nucleus *in vitro.* In: *Contemporary Sensory Neurobiology*, edited by Correia MJ and Perachio AA. New York: A. R. Liss, 1985, p. 293–304.

Gerrits NM, Voogd J, and Magras IN. Vestibular afferents of the inferior olive and the vestibulo-olivo-cerebellar climbing fiber pathway to the flocculus in the cat. *Brain Res* 332: 325–336, 1985.

Goldberg JM, Highstein SM, Moschovakis AK, and Fernandez C. Inputs from regularly and irregularly discharging vestibular nerve afferents to secondary neurons in the vestibular nuclei of the squirrel monkey. I. An electrophysiological analysis. *J Neurophysiol* 58: 700–718, 1987.

Graf W, Gerrits N, Yatim-Dhiba N, and Ugolini G. Mapping the oculomotor system: the power of transneuronal labeling with rabies virus. *Eur J Neurosci* 15: 1557–1562, 2002.

Gstoettner W and Burian M. Vestibular nuclear complex in the guinea pig: a cytoarchitectonic study and map in three planes. *J Comp Neurol* 257: 176–188, 1987.

Gstoettner W, Burian M, and Cartellieri M. Central projections from singular parts of the vestibular labyrinth in the guinea pig. *Acta Otolaryngol* 112: 486–495, 1992.

Hagiwara S, Kusano K, and Saito N. Membrane changes of Onchodium nerve cells in potassium-rich media. *J Physiol* 155: 470–489, 1961.

Jian BJ, Shintani T, Emanuel BA, and Yates BJ. Convergence of limb, visceral and vertical semicircular canal or otolith inputs onto vestibular nucleus neurons. *Exp Brain Res* 144: 247–257, 2002.

Johnston AR, MacLeod NK, and Dutia MB. Ionic conductances contributing to spike repolarization and after-potentials in rat medial vestibular nucleus neurons. *J Physiol* 481: 61–77, 1994.

Kasper J, Schor RH, and Wilson VJ. Response of vestibular neurons to head rotations in vertical planes. I. Response to vestibular stimulation. *J Neurophysiol* 60: 1753–1764, 1988.

Korte GE. The brainstem projection of the vestibular nerve in the cat. *J Comp Neurol* 184: 279–292, 1979.

Krawitz S, Fedirchuk B, Dai Y, Jordan LM, and McCrea DA. State-dependent hyperpolarization of voltage threshold enhances motoneurone excitability during fictive locomotion in the cat. *J Physiol* 532: 271–281, 2001.

Llinás RR. The intrinsic electrophysiological properties of mammalian neurons: insights into central nervous system function. *Science* 242: 1654–1664, 1988.

Mehler WR and Rubertone JA. Anatomy of the vestibular nucleus complex. In*: The Rat Nervous System*, edited by Paxinos G. New York: Academic Press, 1985, p. 185–219.

Moore LE, Hill RH, and Grillner S. Voltage-clamp frequency domain analysis of NMDA-activated neurons. *J Exp Biol* 175: 59–87, 1993.

Moyer JR Jr and Brown TH. Methods for whole-cell recording from visually preselected neurons of perirhinal cortex in brain slices from young and aging rats. *J Neurosci Methods* 86: 35–54, 1998.

Nguyen LT, Baker R, and Spencer RF. Abducens internuclear and ascending tract of Deiters inputs to medial rectus motoneurons in the cat oculomotor nucleus: synaptic organization. *J Comp Neurol* 405: 141–159, 1999.

Peusner KD, Gamkrelidze G, and Giaume C. Potassium currents and excitability in second-order auditory and vestibular neurons. *J Neurosci Res* 53: 511–520, 1998.

Pompeiano O. The role of different size vestibulospinal neurons in the static control of posture. *Arch Ital Biol* 129: 21–41, 1991.

Ris L, de Waele C, Serafin M, Vidal PP, and Godaux E. Neuronal activity in the ipsilateral vestibular nucleus following unilateral labyrinthectomy in the alert guinea pig. *J Neurophysiol* 74: 2087–2099, 1995.

Ris L, Saussez S, Gerrits N, Godaux E, and Pochet R. The subdivisions of the guinea pig vestibular complex revealed by acetylcholinesterase staining. *J Vestib Res* 9: 73–81, 1999.

Ris L, Hachemaoui M, Vibert N, Godaux E, Vidal PP, and Moore LE. Resonance of spike discharge modulation in neurons of the guinea pig medial vestibular nucleus. *J Neurophysiol* 86: 703–716, 2001.

Rothman SM. The neurotoxicity of excitatory amino acids is produced by passive chloride influx. *J Neurosci* 5: 1483–1489, 1985.

Ryu JH and McCabe BF. Types of neuronal activity in the lateral vestibular nucleus. *Acta Otolaryngol* 72: 288–291, 1971.

Sarkisian VH. Input-output relation of Deiters' lateral vestibulospinal neurons with different structures of the brain. *Arch Ital Biol* 138: 295–353, 2000.

Sato F and Sasaki H. Morphological correlation between spontaneously discharging primary vestibular afferents and vestibular nucleus neurons in the cat. *J Comp Neurol* 333: 554–566, 1993.

Sato F, Sasaki H, Ishizuka N, Sasaki S, and Mannen H. Morphology of single primary vestibular afferents originating from the horizontal semicircular canal in the cat. *J Comp Neurol* 290: 423–439, 1989.

Schaefer KP and Meyer DL. Eye and head movements as specialized functions of vestibular circuits. In: *The Head-Neck Sensory Motor System*, edited by Berthoz A, Vidal PP, and Graf W. New York: Oxford University Press, 1992, p. 241–243.

Serafin M, de Waele C, Khateb A, Vidal PP, and Mühlethaler M. Medial vestibular nucleus in the guinea-pig. I. Intrinsic membrane properties in brainstem slices. *Exp Brain Res* 84: 417–425, 1991a.

Serafin M, de Waele C, Khateb A, Vidal PP, and Mühlethaler M. Medial vestibular nucleus in the guinea-pig. II. Ionic basis of the intrinsic membrane properties in brainstem slices. *Exp Brain Res* 84: 426–433, 1991b.

Shimazu H and Precht W. Inhibition of central vestibular neurons from the contralateral labyrinth and its mediating pathway. *J Neurophysiol* 29: 467–492, 1966.

Smith MR, Nelson AB, and Du Lac S. Regulation of firing response gain by calcium-dependent mechanisms in vestibular nucleus neurons. *J Neurophysiol* 87: 2031–2042, 2002.

Sun Y, Waller HJ, Godfrey DA, and Rubin AM. Spontaneous activity in rat vestibular nuclei in brain slices and effects of acetylcholine agonists and antagonists. *Brain Res* 934: 58–68, 2002.

Uchino Y and Isu N. Properties of vestibulo-ocular and/or vestibulo-collic neurons in the cat. In: *The Head-Neck Sensory Motor System*, edited by Berthoz A, Vidal PP, and Graf W. New York: Oxford University Press, 1992, p. 266–272.

Uchino Y, Sato H, Zakir M, Kushiro K, Imagawa M, Ogawa Y, Ono S, Meng H, Zhang X, Katsuta M, Isu N, and Wilson VJ. Commissural effects in the otolith system. *Exp Brain Res* 136: 421–430, 2001.

Vibert N, Babalian A, Serafin M, Gasc JP, Mühlethaler M, and Vidal PP. Plastic changes underlying vestibular compensation in the guinea-pig persist in isolated, *in vitro* whole brain preparations. *Neuroscience* 93: 413–432, 1999a.

Vibert N, Bantikyan A, Babalian A, Serafin M, Mühlethaler M, and Vidal PP. Post-lesional plasticity in the central nervous system of the guinea-pig: a "top-down" adaptation process? *Neuroscience* 94: 1–5, 1999b.

Vibert N, de Waele C, Serafin M, Babalian A, Mühlethaler M, and Vidal PP. The vestibular system as a model of sensorimotor transformations. A combined in vivo and in vitro approach to study the cellular mechanisms of gaze and posture stabilization in mammals. *Prog Neurobiol* 51: 243–286, 1997.

Vidal PP, Vibert N, Serafin M, Babalian A, Mühlethaler M, and de Waele C. Intrinsic physiological and pharmacological properties of central vestibular neurons. In: *Advances in Oto-rhino-laryngology. Vestibular Dysfunction and its Therapy*, edited by Büttner U. Basel, Switzerland: Karger, 1999, vol. 55, p. 26–81.

Walberg F, Bowsher D, and Brodal A. The termination of primary vestibular fibers in the vestibular nuclei of the cat: an experimental study with silver methods. *J Comp Neurol* 110: 391–419, 1958.

Wilson VJ and Melvill-Jones G. *Mammalian Vestibular Physiology*. New York: Plenum Press, 1979.

Wilson VJ and Peterson BW. Vestibular and reticular projections to the neck. In: *Control of Head Movement*, edited by Peterson BW and Richmond FJ. New York: Oxford University Press, 1988, p. 129–140.

Wilson VJ and Schor RH. The neural substrate of the vestibulocollic reflex. What needs to be learned. *Exp Brain Res* 129: 483–493, 1999.

Xiong G and Matsushita M. Ipsilateral and contralateral projections from upper cervical segments to the vestibular nuclei in the rat. *Exp Brain Res* 141: 204–217, 2001.

C.4 Conclusion

Ce travail constitue une étude visant à étendre nos connaissances des propriétés intrinsèques des neurones vestibulaires médians aux neurones présents dans les noyaux voisins. Nous disposons ainsi d'un premier élément de comparaison permettant de lier ces propriétés au rôle physiologique des neurones. Pour des raisons techniques, nous avons enregistré principalement les cellules géantes du LVN, il est important de noter que celles-ci ne constituent probablement qu'un type particulier parmi les neurones présents au sein de ce noyau. L'homogénéité des propriétés membranaires observées ne reflète donc probablement pas la diversité des cellules qui composent en fait ce noyau. Cette homogénéité semble cependant en accord avec l'unité fonctionnelle des neurones de Deiters, majoritairement impliqués dans le contrôle postural : ils participent au faisceau vestibulo-spinal latéral qui se projette sur les muscles lombaires et cervicaux. Cette spécification fonctionnelle est importante, car les caractéristiques d'inertie des systèmes vestibulo-oculomoteurs et vestibulo-spinaux jouent sans doute un rôle dans le traitement des informations d'origine vestibulaire : les muscles du tronc et du cou sont en effet à l'origine de mouvements de segments du corps autrement plus importants que ceux des mouvements des yeux qui ne souffrent que peu de contraintes mécaniques, le système vestibulo-spinal présente donc une inertie importante par rapport à celle du système vestibulo-oculomoteur (Angelaki et Dickman 2000; Green et Galiana 1998).

Il est clair à la vue des résultats que les propriétés membranaires des neurones situées au sein des différents noyaux vestibulaires peuvent varier. De par leurs propriétés intrinsèques enregistrées au repos ainsi que par les propriétés pharmacologiques, les neurones de Deiters ressemblent à un composite des propriétés des neurones de type A et de type B rencontrés dans le NVM. Pourtant les propriétés dynamiques de ces cellules du NVL sont différentes de celles du NVM, ce qui démontre qu'on ne peut pas facilement déduire le comportement dynamique d'une cellule à partir de ses propriétés enregistrées au repos. En accord avec nos résultats obtenus sur les neurones du NVM, cette étude démontre que de subtils changements de conductances sont sans doute suffisants pour modifier drastiquement la dynamique des cellules. Globalement, la comparaison des propriétés de ces neurones situés dans des noyaux proches, impliqués dans des fonctions vestibulaires différentes, montre comment la physiologie particulière des cellules d'un noyau va conduire à la modulation de l'expression du répertoire de leurs conductances.

D. Comparaison des propriétés membranaires intrinsèques des neurones vestibulaires centraux chez la grenouille et le cobaye : *Straka et col. 2004*

D.1 Contexte scientifique

Parmi les préparations utilisées *in vitro*, celles qui consistent en l'isolation du cerveau entier constituent sans aucun doute des outils de choix en vue de l'identification physiologique du rôle de différents types cellulaires. Comme nous l'avons évoqué en introduction, ce type de préparation est utilisé avec grand succès par H. Straka chez la grenouille. Straka et col. ont ainsi étudié de nombreux paramètres capitaux pour la compréhension du système vestibulaire, concernant par exemple la convergence des signaux otolithiques et canalaires, ou encore la physiologie des afférences d'origine vestibulaire en fonction du diamètre des fibres (*voir introduction p.33*). Malgré de nombreuses années d'études effectuées sur cette préparation, aucune description exhaustive des propriétés intrinsèques des neurones vestibulaires secondaires n'avait été effectuée, alors que le cerveau entier de grenouille rend possible une exploration plus étendue que ne le peuvent des préparations de tranches de tronc cérébral. Parmi les avantages les plus importants, la possibilité d'identifier fonctionnellement et de localiser précisément les neurones enregistrés au sein des noyaux vestibulaires constituent des aspects particulièrement attractifs. Une autre préparation de cerveau entier, de cobaye cette fois, est utilisée au sein du L.N.R.S. et a permis de décrire les propriétés des neurones vestibulaires secondaires chez cette espèce. L'avantage de la préparation chez la grenouille réside dans sa relative solidité en comparaison de ce qui peut être réalisé chez les mammifères, ce qui rend possible l'enregistrement d'un grand nombre de neurones ; la même préparation peut notamment survivre pendant plusieurs jours consécutifs. Cette préparation présente également l'avantage majeur de rendre possible une stimulation spécifique des nerfs issus des différents organes vestibulaires, rendant possible une identification fonctionnelle très précise des neurones vestibulaires secondaires enregistrés.

D.2 But de l'étude

Notre principale idée en débutant cette collaboration avec Hans Straka, avec lequel j'ai travaillé pendant 6 mois à Munich, était d'obtenir chez la grenouille des mesures des propriétés intrinsèques membranaires des neurones vestibulaires secondaires comparables à celles dont nous disposons chez le cobaye. La principale question sous-jacente est celle de la conservation au cours de l'évolution d'une organisation similaire des voies de traitement vestibulaires chez les vertébrés. Les neurones de type A et de type B constituent-ils une particularité des Rongeurs, ou sont-ils une nécessité dans l'organisation du système qui justifierait que nous retrouvions leurs équivalents chez une espèce éloignée d'un point de vue phylogénique?

Ce travail constitue donc une tentative d'élargissement de nos connaissances des propriétés membranaires intrinsèques des neurones vestibulaires centraux, qui doit aboutir à un enrichissement mutuel des études du système vestibulaire chez le cobaye et la grenouille.

D.3 Résumé

Les propriétés membranaires et de décharge des neurones vestibulaires secondaires de la grenouille ont été déterminées sur une préparation de cerveau entier isolé in vitro de grenouille adulte. Les neurones vestibulaires secondaires étaient identifiés par leurs réponses monosynaptiques à des stimulations électriques séparées des nerfs utriculaire et lagénaire (la lagéna des grenouilles est fonctionnellement équivalente au saccule des mammifères), et des nerfs issus de chaque canal semi-circulaire. Les neurones vestibulaires secondaires étaient aussi séparés en neurones vestibulo-oculaires ou vestibulo-spinaux, en fonction de la présence ou non dans chaque neurone de potentiels d'action antidromiques évoqués par stimulation électrique de la moelle épinière et des noyaux oculomoteurs. Un ensemble de différences dans les propriétés membranaires passives, la forme du potentiel d'action, et les décharges évoquées par des sauts ou des rampes de courant ont permis de différencier clairement deux grands types de neurones vestibulaires secondaires chez la grenouille. Les neurones du groupe le plus important (78 % des neurones dits "phasiques") se caractérisent par leur réponse transitoire à un saut de courant dépolarisant de longue durée ; la dépolarisation provoque une bouffée de quelques potentiels d'action (jusqu'à 5) à haute fréquence, mais aucune décharge n'est ensuite maintenue pendant le reste du saut de courant. Inversement, les neurones de l'autre groupe (22 % des neurones dits "toniques") répondent aux sauts de courant

dépolarisants par une décharge continue de potentiels d'action dont la fréquence ne présente qu'une légère adaptation. Ces différences de réponses sont associées à des propriétés membranaires passives et des formes de potentiels d'action distinctes. Malgré ces propriétés différentes, les neurones phasiques et toniques ne sont pas séparés anatomiquement, et présentent une connectivité afférente et efférente similaire.

J Neurophysiol 92: 845–861, 2004.
First published March 24, 2004; 10.1152/jn.00107.2004.

Second-Order Vestibular Neurons Form Separate Populations With Different Membrane and Discharge Properties

H. Straka,[1,2] M. Beraneck,[1,2] M. Rohregger,[1] L. E. Moore,[2] P.-P. Vidal,[2] and N. Vibert[2]
[1]*Department of Physiology, Ludwig-Maximilians-Universitöt München, 80336 Munich, Germany; and* [2]*Laboratoire de Neurobiologie des Réseaux Sensorimoteurs, Centre National de la Recherche Scientifique Unité Mixte de Recherche 7060, Université Paris 5, 75270 Paris Cedex 06, France*

Submitted 3 February 2004; accepted in final form 22 March 2004

Straka, H., M. Beraneck, M. Rohregger, L. E. Moore, P.-P, Vidal, and N. Vibert. Second-order vestibular neurons form separate populations with different membrane and discharge properties. *J Neurophysiol* 92: 845–861, 2004. First published March 24, 2004; 10.1152/jn.00107.2004. Membrane and discharge properties were determined in second-order vestibular neurons (2°VN) in the isolated brain of grass frogs. 2°VN were identified by monosynaptic excitatory postsynaptic potentials after separate electrical stimulation of the utricular nerve, the lagenar nerve, or individual semicircular canal nerves. 2°VN were classified as vestibulo-ocular or -spinal neurons by the presence of antidromic spikes evoked by electrical stimulation of the spinal cord or the oculomotor nuclei. Differences in passive membrane properties, spike shape, and discharge pattern in response to current steps and ramp-like currents allowed a differentiation of frog 2°VN into two separate, nonoverlapping types of vestibular neurons. A larger subgroup of 2°VN (78%) was characterized by brief, high-frequency bursts of up to five spikes and the absence of a subsequent continuous discharge in response to positive current steps. In contrast, the smaller subgroup of 2°VN (22%) exhibited a continuous discharge with moderate adaptation in response to positive current steps. The differences in the evoked spike discharge pattern were paralleled by differences in passive membrane properties and spike shapes. Despite these differences in membrane properties, both types, i.e., phasic and tonic 2°VN, occupied similar anatomical locations and displayed similar afferent and efferent connectivities. Differences in response dynamics of the two types of 2°VN match those of their pre- and postsynaptic neurons. The existence of distinct populations of 2°VN that differ in response dynamics but not in the spatial organization of their afferent inputs and efferent connectivity to motor targets suggests that frog 2°VN form one part of parallel vestibulomotor pathways.

INTRODUCTION

In mammals, the medial vestibular nucleus (MVN) and lateral vestibular nucleus neurons are endowed with different sets of membrane properties (Gallagher et al. 1985; Johnston et al. 1994; Serafin et al. 1991a,b; Uno et al. 2003). In particular, MVN neurons of rats (Gallagher et al. 1985; Johnston et al. 1994) and guinea pigs (Serafin et al. 1991a,b) have been segregated in type A and type B cells that differ from each other in a number of interrelated membrane and discharge properties (see Vidal et al. 1999). Type A vestibular neurons have a more regular resting discharge and more tonic response dynamics and might form a specific channel for lower-frequency, low- and medium-amplitude linear signals. In contrast, type B vestibular neurons have a more irregular resting discharge and more phasic response dynamics that is well-suited for the transmission of higher-frequency, high-amplitude nonlinear signals (Beraneck et al. 2003a; Ris et al. 2001). These two types of MVN neurons, however, might in fact represent extreme endpoints of a continuum as suggested by du Lac and Lisberger (1995) for avian MVN neurons rather than two distinct populations. The separation of vestibular neurons into populations with different response dynamics is also mirrored at the level of their presynaptic input (see Goldberg 2000 for review). Hence, it was suggested that the various profiles of membrane properties found in vestibular networks could be the substrate for their partition in frequency and amplitude-tuned channels. However, the dynamic processing of vestibular information throughout the vestibulo-ocular and -spinal pathways remains elusive because of the complex organization of these motor responses in mammals. Frogs offer an attractive model to investigate this problem because the isolated whole brain preparation allows stable intracellular recordings together with selective activation of the nerve branches innnervating the different labyrinthine end organs.

In frog, vestibular hair cells as well as vestibular nerve afferent fibers segregate with respect to a number of interrelated morphological and physiological properties (Baird 1994a,b; Blanks and Precht 1976; Flock and Orman 1983; Honrubia et al. 1981, 1989; Lewis and Li 1975; Lewis et al. 1982; Myers and Lewis 1990). In particular, utricular hair cells subdivide according to their frequency sensitivity and response dynamics as well as active and passive membrane properties (Baird 1994a,b; Baird and Lewis 1986; Lewis and Li 1975). These distinct physiological properties correlate with different hair bundle morphologies and different locations in the utricular macula (Baird 1994a,b; Baird and Lewis 1986; Lewis et al. 1982). Similar morphological differences exist among the hair cells in the semicircular canal cristae (Baird and Lewis 1986; Gioglio et al. 1995; Guth et al. 1994; Lewis and Li 1975; Myers and Lewis 1990) and are associated with distinct micromechanics of the hair bundles (Flock and Orman 1983). Assuming that these morphological variations reflect the same differences in physiological properties as in the utricular macula, the segregation of vestibular hair cells according to their frequency sensitivity and response dynamics is likely to be a general property of all labyrinthine end organs.

A similar segregation is found in vestibular nerve afferent fibers that contact these hair cells and is correlated with a number of interrelated properties as fiber diameter, origin in

Address for reprint requests and other correspondence: H. Straka, L.N.R.S., CNRS UMR 7060, Université Paris 5, 45 rue des Saints-Pères, 75270 Paris Cédex 06, France (E-mail: hans.straka@univ-paris5.fr).

The costs of publication of this article were defrayed in part by the payment of page charges. The article must therefore be hereby marked "*advertisement*" in accordance with 18 U.S.C. Section 1734 solely to indicate this fact.

 0022-3077/04 $5.00 Copyright © 2004 The American Physiological Society

the sensory epithelium, discharge regularity, and response dynamics (Baird and Schuff 1994; Honrubia et al. 1981, 1989). In particular, thick afferent nerve fibers tend to have a more irregular resting activity, respond with a more phasic discharge to step-like accelerations, larger gains and smaller phase shifts. In contrast, thin afferent nerve fibers tend to have a more regular resting activity, a more tonic discharge to step-like accelerations, lower gains, and larger phase shifts (Honrubia et al. 1981, 1989). The putative separation into different channels on the sensory side is mirrored on the motor side of the vestibulo-ocular network. Abducens motoneurons in frogs have been shown to fall into several subgroups that differ in their response dynamics (Dieringer and Precht 1986). Two groups of large- and medium-sized, phasic abducens motoneurons are complemented by a group of small, particularly tonic motoneurons with a very long time constant for evoked responses (Dieringer and Precht 1986).

Altogether then, frog vestibular hair cells, as vestibular nerve afferent fibers and abducens motoneurons, form subpopulations of neurons with heterogeneous membrane properties. This confers to these cells distinct dynamic properties, which suggests that as in rodents, the vestibulo-ocular pathways of frogs may be organized in parallel frequency-tuned channels. However, a crucial step to validate that hypothesis is the description of the membrane properties of 2°VN, which have not been investigated so far in these animals. In addition, the frog model offers the unique opportunity to link the membrane properties of 2°VN with their anatomical location and their afferent and efferent connectivity. In particular, the spatial convergence pattern of semicircular canal and macular signals on 2°VN has been well described (Straka et al. 1997, 2002). Almost half of the 2°VN receive convergent afferent nerve input from one macula and one canal organ in a spatially specific manner (Straka et al. 2002). Utricular (UT) signals converge mainly with horizontal canal (HC) signals, whereas lagenar (LA) signals converge only with anterior vertical (AC) or posterior vertical canal (PC) signals. The remaining half of 2°VN receives afferent nerve signals from only one canal or one macula organ.

The passive membrane properties and discharge dynamics of frog 2°VN were determined by intracellular injection of current steps and ramp-like currents. Vestibular neurons were recorded in the isolated frog brain and identified as 2°VN by the presence of monosynaptic EPSPs after stimulation of the utricular nerve, the lagenar nerve, or one of the nerve branches innervating an individual semicircular canal. Part of the identified 2°VN were classified as projection neurons by the presence of antidromic spikes evoked by stimulation of the upper spinal cord and/or of the oculomotor nuclei in the midbrain. Differences in spike shape, spike discharge and passive membrane properties allowed a subdivision of frog 2°VN into two distinct functional types of neurons. Possible correlation of labyrinthine nerve inputs, projection patterns and spatial location with the two different functional types of 2°VN were investigated. Preliminary results were published in abstract form (Straka et al. 2003b).

METHODS

In vitro experiments were performed on the isolated brains of 33 grass frogs (*Rana temporaria*) and complied with the "Principles of Animal Care," Publication No. 86-23, revised 1985 by the National Institutes of Health. The government of Oberbayern (211-2531-31/95) granted permission for these experiments. As described in previous studies (Cochran et al. 1987; Straka and Dieringer 1993), the animals were deeply anesthetized with 0.1% 3-aminobenzoic acid ethyl ester (MS-222) and perfused transcardially with iced Ringer solution [which contained (in mM) 75 NaCl, 25 $NaHCO_3$, 2 $CaCl_2$, 2 KCl, 0.5 mM $MgCl_2$, and 11 glucose; pH 7.4). Thereafter, the skull and the bony labyrinth were opened by a ventral approach. After dissecting the three semicircular canals on each side, the brain was removed with all labyrinthine end organs attached to the VIIIth nerve. Subsequently, the brain was submerged in iced Ringer, and the dura, the labyrinthine end organs, and the choroid plexus covering the IVth ventricle were removed. In all experiments, the cerebellum remained attached to the brain stem while the forebrain was removed. Brains were used $\leq$4 days after their isolation and were stored overnight at 6°C in continuously oxygenated Ringer solution with a pH of 7.5 $\pm$ 0.1. For the experiments, the brain stem was fixed with insect pins to the silicone elastomer (Sylgard) floor of a chamber (volume: 2.4 ml), which was continuously perfused with oxygenated Ringer solution at a rate of 1.3–2.1 ml/min. The temperature was electronically controlled and maintained at 14 $\pm$ 0.1°C.

The recorded neurons were identified as second-order vestibular neurons by their monosynaptic response to electrical stimulation of at least one of the individual labyrinthine nerve branches. For this purpose, all three semicircular canal nerves were stimulated separately. In some experiments, either the utricular or the lagenar nerve was stimulated in addition to the canal nerves. Single constant current pulses (0.2 ms; 1–15 μA) applied across suction electrodes (diameter: 120–150 μm) were used for electrical stimulation. The use of suction electrodes facilitated the isolation of an individual nerve branch and allowed separate stimulation of each of the canal and otolith nerves (see Straka et al. 1997, 2002, 2003a). For the antidromic identification of 2°VN with ascending axons, a concentric bipolar electrode (tip diameter: 25 μm; Science Products GmbH) was placed in the midline between the two oculomotor nuclei in the midbrain. For the antidromic identification of 2°VN with descending axons, a pair of Teflon-coated silver wires with chlorided tips (diameter: 250 μm) was inserted into the ventrolateral spinal cord on the left and right side at the C_1/C_2 level. Single constant current pulses (0.2 ms; 30–150 μA) were used for all stimuli. Thus depending on the origin of the antidromic spike, 2°VN were classified either as vestibulo-ocular or vestibulo-spinal neurons. Pulses were produced by a stimulus isolation unit (WPI A 360) at a rate of 0.5 Hz. Glass microelectrodes used for extra- and intracellular recordings were made with a horizontal puller (P-87 Brown/Flaming). Electrodes for extracellular field potential recordings were beveled (30°, 20 μm tip diameter) and filled with a 2 M solution of sodium chloride ($\sim$1 MΩ). Electrodes for intracellular recordings were filled with a 3 M solution of potassium chloride which gave a final resistance of $\sim$70–90 MΩ.

At the beginning of each experiment, field potentials evoked by separate stimulation of the labyrinthine nerve branches were recorded at a reference recording site to optimize the positions of the stimulus electrodes and to determine the stimulus threshold for each branch (see Straka et al. 1997, 2002). This reference recording site was located 0.4 mm caudal to the VIIIth nerve root at a depth of 0.4 mm below the top of the brain stem. The stimulus threshold for the postsynaptic N_1 field potential component (Precht et al. 1974) was similar for each of the canal and macular nerve branches and ranged from 1.5 to 3.1 μA. Stimulus intensities were indicated as multiples of these threshold values ($\times$T). Intracellular single-cell recordings were not started unless the semicircular canal or otolith nerve-evoked N_1 component exceeded 0.15 mV. The position of the stimulation electrode in the midbrain and spinal cord was optimized by maximizing the amplitude of the short-latency, antidromic field potentials recorded at the standard recording site in the vestibular nuclei. Maximum amplitudes usually ranged from 0.3 to 0.5 mV. The stimulus threshold

intensity (T) for these antidromic field potentials was ~10–20 μA and was similar for the spinal and midbrain stimulation electrodes. During intracellular recordings the stimulation intensity to evoke an antidromic spike was limited to 5×T. Action potentials were considered antidromic if there was an all or nothing response in the absence of an underlying prepotential at threshold stimulus intensity (see Straka et al. 2002). Vestibular neurons were recorded between 0.4 mm rostral and 0.7 mm caudal to the entry of the VIIIth nerve at a depth between 0.05 and 0.8 mm below the dorsal surface of the brain stem. This recording area included all four vestibular subnuclei (lateral, superior, descending, and medial) except the most medial parts of the medial vestibular nucleus. The position of the recorded vestibular neurons was mapped rostrocaudally with respect to the entry of the VIIIth nerve in the brain stem and dorsoventrally with respect to the dorsal surface of the hindbrain as in earlier studies (Straka et al. 2000, 2003a). As reported in earlier studies, most of the vestibular neurons recorded in the isolated frog brain had no spontaneous discharge at their resting membrane potential (Straka and Dieringer 1996, 2000; Straka et al. 1997, 2002, 2003a). Only neurons with a membrane potential more negtive than −55 mV were included in this study.

Membrane properties of second-order vestibular neurons identified by their monosynaptic input from a particular canal and/or macular nerve branch were determined by intracellular current injection. Time constants, input resistance, current-voltage relationships as well as firing properties in response to long, positive current steps (1 s) and to ramp-like currents were used to classify the recorded neurons as phasic or tonic 2°VN. Spike parameters were analyzed by determining firing threshold, spike amplitude, width, rise time, and fall time of the evoked spikes. Firing threshold was determined as the point at the beginning of each spike where the voltage trace reached 10 mV/ms. The time constant and input resistance were obtained from responses to small negative current pulses of 200-ms duration. The membrane hyperpolarization was fitted with a double-exponential *Eq. 1* that allowed a determination of the first (τ_0) and second (τ_1) time constant

$$y = \mathrm{rmp} - a_1 \cdot [1 - \exp(t/\tau_0)] - a_2 \cdot [1 - \exp(t/\tau_1)] \qquad (1)$$

Synaptic transmission was blocked in some 2°VN ($n = 10$) by increasing the concentration of Mg^{2+} (4 mM) and decreasing the concentration of Ca^{2+} (0.4 mM) in the Ringer solution. With these concentrations, the monosynaptic EPSPs evoked in vestibular neurons by stimulation of individual vestibular nerve branches were completely blocked within 12–15 min. Single sweeps of the responses were digitized (CED 1401, Cambridge Electronic Design), stored on computer and analyzed off-line (SIGNAL, Cambridge Electronic Design). Synaptic potentials were analyzed from averages of 20–30 single sweeps after electronic subtraction of the extracellular field potential recorded in the vicinity. Statistical differences in parameters were calculated according to the Mann-Whitney *U* test (unpaired parameters) and the Wilcoxon signed-rank test (paired parameters; Prism, Graphpad Software). All averaged results were expressed as means ± SD. Graphical presentations were made with the aid of commercially available computer software (Origin, Microcal Software; Corel Draw, Corel).

RESULTS

Identification of second-order vestibular neurons

Intracellular recordings were obtained from 249 vestibular neurons in 33 isolated in vitro frog brain preparations with 0.5 mM Mg^{2+} present in the bath solution except otherwise stated. Recordings were obtained from all vestibular nuclei. Only those neurons that were identified as second-order vestibular neurons (2°VN) by the presence of a monosynaptic EPSP (HC in Fig. 1*A1*; PC in *B1*) after separate electrical stimulation of the utricular nerve, the lagenar nerve or of one of the three ipsilateral semicircular canal nerves were taken into account for further analysis. As in an earlier study (Straka et al. 2002), intracellular EPSPs triggered by semicircular canal or utricular (UT) nerve stimulation were considered as monosynaptic if their latency ranged between 3.4 ms (average onset of the postsynaptic N_1 field potential) and 5.2 ms (earliest possible onset of disynaptic EPSPs after adding another synaptic delay of 1.8 ms). These values were slightly shorter for lagenar (LA) nerve-evoked responses (between 2.9 and 4.7 ms) due to the shorter distance between the stimulation electrode and the recording site (Straka et al. 2002). Differences in the diameter of the fibers supplying the different equilibrium organs can be ruled out as an explanation for the difference in onset latencies. In fact, Dunn (1978) has shown in the frog that the number of the thickest fibers (>10 μm) as well as the average diameter of fibers is similar for all vestibular nerve branches. The chemically mediated monosynaptic EPSP increased in amplitude with stimulus intensity, whereas the onset latency remained constant (Fig. 1*A2;* c in *B2*). Corresponding to the N_1 field potential components, the latency of monosynaptic EPSPs was similar for responses evoked by horizontal (HC), anterior vertical (AC), posterior vertical canal (PC), or UT nerve stimulation (mean: 3.8 ± 0.5 ms; $n = 269$), whereas the EPSPs evoked by lagenar nerve stimulation (mean: 3.4 ± 0.6 ms; $n = 38$) had significantly shorter latencies ($P \leq 0.001$).

The chemically mediated EPSPs were preceded in 15% of the neurons (37 of 249) by an early depolarization (e in Fig. 1*B2*), similar to earlier findings (Babalian and Shapovalov 1984; Straka and Dieringer 1996; Straka et al. 1997). The latency of this early depolarization (mean: 1.7 ± 0.3 ms; $n = 37$) was independent of the stimulus intensity (Fig. 1*B2*) and reflected an electrically mediated EPSP component. The threshold of this electrical EPSP was as low as the threshold of the chemical EPSP in a given neuron. In contrast with the latter one, however, the electrical EPSP increased only slightly with stronger stimulus intensity and saturated at amplitudes ranging from 1.0 to 2.5 mV (Fig. 1*B2*). The low threshold and the relatively early saturation suggest a preferred activation of these electrical EPSPs by thick vestibular nerve afferent fibers, a finding compatible with earlier results (Straka and Dieringer 1996; Straka et al. 1997).

According to the presence of monosynaptic EPSPs from a particular canal or macular nerve branch, recorded neurons were categorized as particular 2° canal, 2°UT, or 2°LA neurons or as particular 2° macula + canal or 2° canal + canal neurons if monosynaptic EPSPs were evoked from more than one vestibular nerve branch (Table 1). In 2° canal neurons that received a monosynaptic EPSP from only one canal nerve branch, the remaining two semicircular canal nerves, respectively, evoked either EPSPs with a di- or polysynaptic onset (Fig. 1, *A, 3* and *4*, and *B5*) or no response (*B4*). The presence of many 2°AC, 2°HC, or 2°PC neurons and few 2° macula neurons or convergent 2° canal + macula neurons (Table 1) was due to the fact that the UT or LA nerve branches were stimulated in addition to the three semicircular canal nerve branches only in some experiments. Therefore 2° macula neurons were less numerous and thus the convergence pattern of canal and macular signals observed in this study differs from that of a detailed, systematic earlier study (Straka et al. 2002). However, independent of the relatively small number of convergent neurons, UT nerve afferent signals converged predom-

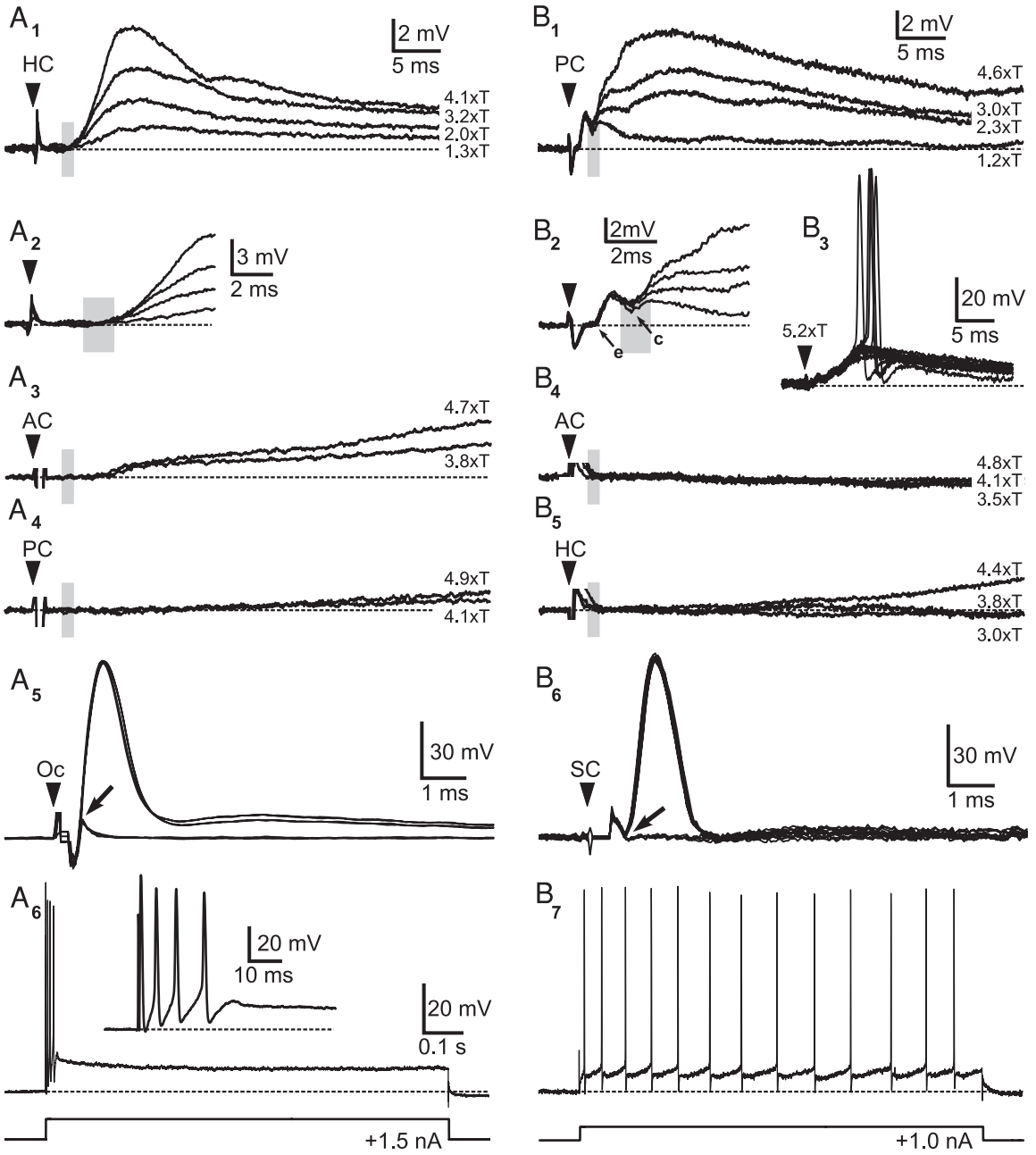


FIG. 1. Classification of identified 2nd-order (2°) vestibular projection neurons as phasic and tonic neurons. *A* and *B*: phasic 2° horizontal canal (HC) vestibulo-ocular neuron (*A*) and tonic 2° posterior vertical canal (PC) vestibulo-spinal neuron (*B*) based on responses to electrical stimulation of individual canal nerve branches (*A, 1–4,* and *B, 1–5*), of the oculomotor nuclei (*A5*) and the spinal cord (*B6*) and on responses to intracellular injected positive current steps (*A6* and *B7*). *A, 1–4*: HC nerve-evoked monosynaptic (*A, 1* and *2*) and anterior vertical canal (AC, *A3*) and PC nerve-evoked oligosynaptic excitatory postsynaptic potentials (EPSPs, *A4*) in a 2°HC neuron. Extended time scale of the monosynaptic onset in *A2*. *A5*: overlay of antidromic spikes evoked by stimulation of the oculomotor nuclei at threshold intensity. *A6*: high-frequency burst of spikes in response to a positive current step. *Inset*: extended time scale of the high-frequency burst. *B, 1–5*: PC nerve-evoked monosynaptic EPSPs (*B, 1–3*) and HC nerve-evoked oligosynaptic EPSPs (*B5*), and no response after stimulation of the AC nerve (*B4*) in a 2°PC neuron. Short-latency EPSP components (e) preceding the monosynaptic chemical EPSPs (c) indicate electrical coupling with PC nerve afferent nerve fibers (*B2*). High-intensity stimuli to the PC nerve evoked action potentials superimposed on the monosynaptic EPSPs (*B3*). *B6*: overlay of antidromic spikes evoked by stimulation of the spinal cord at threshold intensity. *B7*: continuous discharge in response to a positive current step. Stimulus intensity is indicated in multiples of the stimulus threshold intensity (×T) of the N_1 field potential component. Shaded vertical bars, the means ± SD of the onset latency of the N_1 field potential component. Dashed lines, baselines and arrowheads stimulus onset. Records in *A, 1–4,* and *B, 1,2,4, and 5,* represent the average of 24 responses. Records in *A5* and *B, 3 a*nd *6,* are 4 (*A5*), 9 (*B3*), and 6 (*B6*) superimposed single sweeps, respectively. Calibration bars in *A1* and *B1* apply for *A, 3* and *4,* and *B, 4* and *5,* respectively. Calibration bars in *A6* applies also for *B7.*

TABLE 1. *Distribution of vestibular nerve branch-evoked monosynaptic inputs in phasic and tonic second-order vestibular neurons*

	Neurons									
	2°AC	2°HC	2°PC	2°LA	2°UT	2°LA+Canal	2°UT+Canal	2°Mult. Canal	2°Mult. Canal+Macula	Total
Phasic 2°VN	**48** (25)	**36** (19)	**57** (29)	**9** (5)	**4** (2)	**15** (8)	**8** (4)	**15** (7)	**2** (1)	**194** (100)
Tonic 2°VN	**15** (27)	**7** (13)	**14** (26)	**3** (5)	**2** (4)	**9** (16)	**3** (5)	**2** (4)	**0** (0)	**55** (100)
All 2°VN	**63** (25)	**43** (17)	**71** (29)	**12** (5)	**6** (2)	**24** (10)	**11** (4)	**17** (7)	**2** (1)	**249** (100)

Recorded neurons ($n = 249$) were classified as phasic ($n = 194$) or tonic ($n = 55$) second-order vestibular neurons (2°VN) and were subdivided, according to the presence of monosynaptic inputs after electrical stimulation of particular labyrinthine nerve branche(s). Number of neurons in bold; number in parenthesis indicates percentage of this type with respect to phasic, tonic or all recorded 2°VN, respectively. AC, anterior vertical canal, HC, horizontal canal, LA, lagena, PC, posterior vertical canal, UT, utricle.

inantly with HC nerve signals, whereas LA nerve afferent signals converged mainly with AC and to a minor extent with PC nerve afferent signals as reported earlier (Straka et al. 2002).

Axonal projections to brain stem and spinal targets were investigated for part of the recorded 2°VN ($n = 146$). The presence of antidromic spikes evoked by electrical stimulation of the oculomotor nuclei and/or the upper spinal cord, respectively, classified >50% of the 2°VN ($n = 79$) as vestibulo-ocular (Fig. 1*A5;* $n = 22$), vestibulo-spinal (*B6;* $n = 50$), or vestibulo-oculo-spinal neurons ($n = 7$). The antidromic spikes had onset latencies that ranged from 0.7 to 1.5 ms for those evoked by stimulation of the oculomotor nuclei and from 0.9 to 2.1 ms for those evoked by stimulation of the spinal cord. Considering the respective distances between the recording and stimulation electrodes, the conduction velocity was low but rather homogeneous for vestibulo-ocular neurons (range: 0.9–5.3 m/s; mean: 2.5 ± 1.4 m/s; $n = 22$), and higher but more heterogeneous for vestibulospinal neurons (range: 0.9–22.3 m/s; mean: 10.2 ± 7.4 m/s; $n = 50$). No predominance of a projection to a particular target area was encountered for 2°VN with a monosynaptic input from a particular labyrinthine nerve branch except for 2°LA neurons that did not project to the oculomotor nuclei.

Classification of frog vestibular neurons according to their discharge patterns

Because of the lack of a spontaneous discharge in vestibular neurons recorded in the isolated in vitro frog whole brain (see Straka et al. 2002), the classification of vestibular neurons was performed using long (1s duration) positive current steps that evoked spikes in identified frog 2°VN (Fig. 1, *A6* and *B7*). This contrasts with the situation in guinea pigs or rats (Gallagher et al. 1985; Johnston et al. 1994; Serafin et al. 1991a), where the different types of vestibular neurons were identified from spikes during spontaneous activity. Using positive current steps, the evoked spike discharge of frog 2°VN fell into two categories that differed in their discharge behavior (Fig. 1, *A6* and *B7*). Above spike threshold, the majority of 2°VN ($n = 194$; 78%) exhibited a phasic discharge pattern that was characterized by a high-frequency burst of up to five spikes and the absence of a subsequent continuous discharge (Fig. 1*A6, inset*). This phasic discharge pattern did not change after inhibition of the chemical synaptic transmission by perfusion of a high-Mg^{2+}/low-Ca^{2+} Ringer solution. Under this condition, the afferent EPSPs in these neurons were completely blocked. Hence, a recurrent inhibition as the responsible mechanism for the absence of a tonic discharge in these neurons can be ruled out. In a second, smaller group of 2°VN ($n = 55$; 22%), positive current steps well above spike threshold evoked a continuous, tonic discharge (Fig. 1*B7*). According to these two clearly different discharge patterns, frog 2°VN were subdivided and classified as "phasic" or "tonic" vestibular neurons.

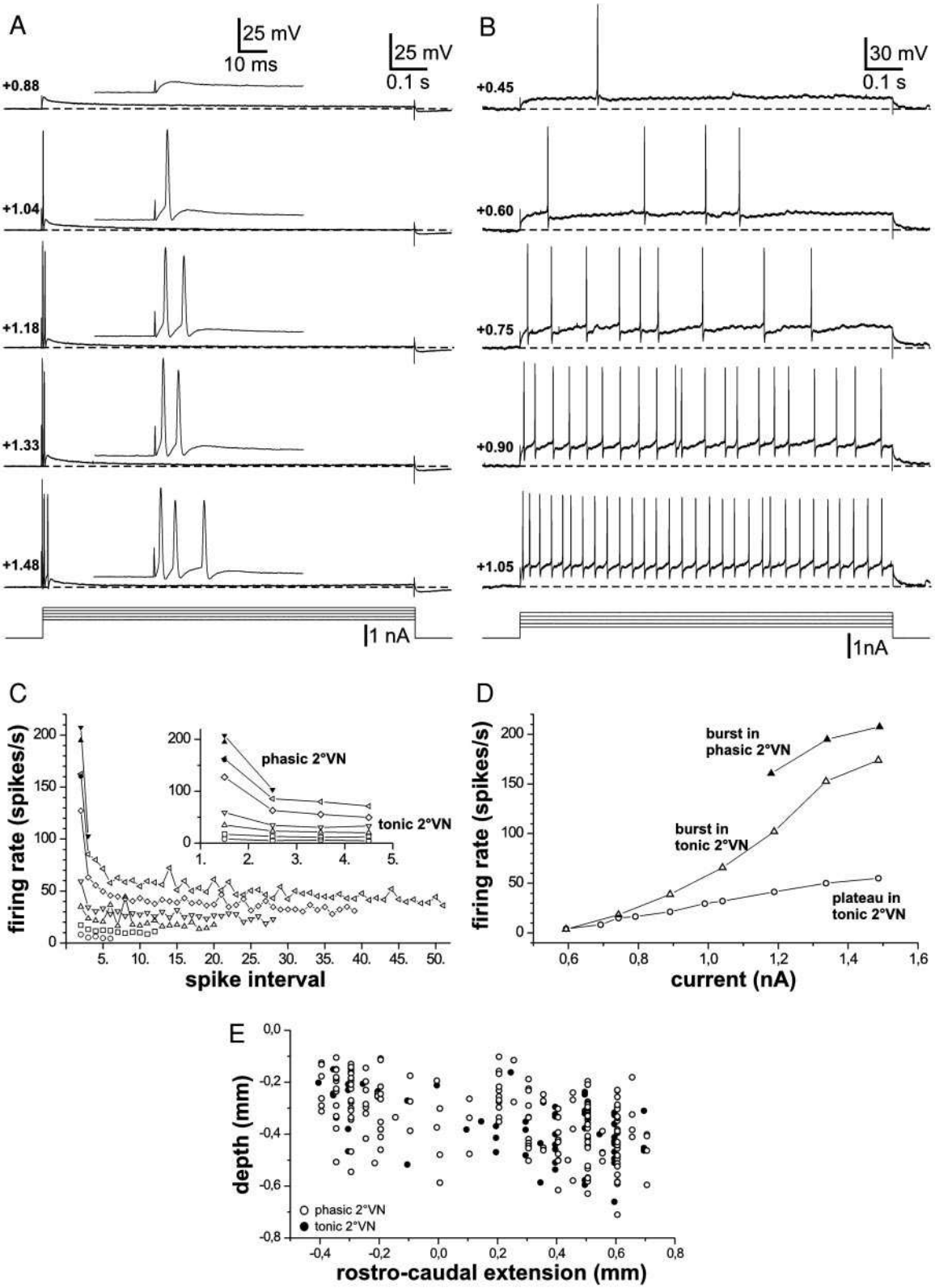
This categorization of 2°VN into phasic or tonic vestibular neurons was not correlated with an origin of the monosynaptic labyrinthine response from a particular canal and/or macular nerve branch (Table 1). In fact, similar percentages of 2°VN with monosynaptic inputs from particular labyrinthine nerve branches were encountered among phasic as well as among tonic vestibular neurons (Table 1). This included nonconvergent 2° canal and 2° macula neurons as well as convergent 2° canal + macula neurons and 2°VN with multiple canal and macular nerve inputs.

A possible differential contribution of thicker and thinner vestibular nerve afferent fibers to monosynaptic canal or macular inputs in phasic and tonic vestibular neurons was studied by determining the threshold and saturation of the monosynaptic EPSP amplitude with increasing stimulus intensity. This test is based on the fact that thick vestibular nerve afferent fibers are recruited at lower stimulus intensities, whereas thinner afferent fibers have higher thresholds for their activation (Straka and Dieringer 2000; see Goldberg 2000 for a discussion of this issue). The threshold of monosynaptic EPSPs with respect to the stimulus intensity was evaluated in a subset of recorded 2°VN ($n = 29$). It was found to be close to the threshold of the monosynaptic N_1 field potential component, and was very similar in phasic (1.2 ± 0.2×T; $n = 20$) and in tonic vestibular neurons (1.3 ± 0.2×T; $n = 9$). This low threshold indicated that monosynaptic EPSPs in phasic as well as in tonic vestibular neurons were mediated at least in part by thick vestibular nerve afferent fibers. Such a contribution was further supported by the presence of short-latency electrical EPSP components preceding the monosynaptic chemical EPSP in both types of vestibular neurons. An electrical coupling between vestibular nerve afferent fibers and 2°VN occurred in about similar proportions in phasic (28 of 194 neurons; 14%) and tonic (9 of 55 neurons; 16%) vestibular neurons. Thus both types of vestibular neurons received afferent inputs from thick vestibular nerve afferent fibers.

The monosynaptic EPSPs increased in amplitude with stimulus intensity (Fig. 1, *A1* and *B1*) at a similar rate for phasic and tonic 2°VN. Amplitudes started to saturate at current intensities that ranged between ~5×T and 7.5×T for different neurons. At even higher stimulus intensities action potentials

were triggered that were superimposed on the EPSPs (Fig. 1*B3*).

The projection of phasic and tonic 2°VN to oculomotor and spinal targets was determined in a subset of 2°VN (n = 79). According to the origin of the antidromic spike(s), phasic 2°VN (n = 62) were subdivided into vestibulo-ocular (n = 15), vestibulo-spinal (n = 40), and vestibulo-oculo-spinal neurons (n = 7). Correspondingly, tonic 2°VN (n = 17) were subdivided into vestibulo-ocular (n = 7) and vestibulo-spinal neurons (n = 10). Although, no predomi-



nance for a particular projection of one or the other type was observed, tonic neurons (41%) tended to have a relatively larger proportion of ascending projections than phasic neurons (32%).

The location of phasic and tonic 2°VN in the vestibular nuclei was determined by systematically mapping the rostrocaudal and dorsoventral position of each recorded 2°VN as in earlier studies (Straka et al. 2000, 2003a). Plotting the stereotactic position of phasic and tonic 2°VN indicated that both types were intermingled, and no particular vestibular area with a predominance or an absence of one or the other type was observed (Fig. 2*E*). Because the recordings covered all vestibular nuclei, the two vestibular cell types were not restricted to a particular nucleus but were present throughout the whole frog vestibular nuclear complex. The smaller numbers of both types of neurons around the entry of the VIIIth nerve (zero in Fig. 2*E*) is due to the presence of the large bundle of afferent axons entering the brain stem and the general paucity of vestibular neurons at that level (see Straka et al. 2003a).

Firing behavior of phasic and tonic second-order vestibular neurons during current steps

The response of phasic 2°VN to positive current steps consisted of a transient discharge that increased from one spike just above threshold to a short, high-frequency burst of ≤5 spikes (2.7 ± 0.8; $n = 194$; Figs. 1*A6* and 2*A*). The first spike after injection of a positive current step that reached spike threshold occurred in all phasic neurons within the first 4 ms after the onset of the current step. After the spike or the brief burst of spikes, neurons stopped firing until the end of the current step, indicating a rapid adaptation (Fig. 2*C*, ●, ▼, ▲). The frequency of the discharge within the burst was the highest for the first interspike interval and decreased by almost 50%, respectively, for the following interval(s) (Fig. 2*C*, ▲, ▼, ●). The spike rate for the first interspike interval increased with intensity of the current step (see Fig. 2*A*, *inset*, and *C* and *D*, ▲, ▼, ●) to reach a maximal rate of almost 300 spikes/s (mean: 176.5 ± 42.5 spikes/s; $n = 56$; Fig. 3*C*).

In response to positive current steps that exceeded spike threshold, a sequence of spikes was evoked in tonic 2°VN (Fig. 2*B*). The firing rate increased with current intensity and the neurons exhibited a tonic discharge with stronger current steps (Fig. 2*B*). Above spike threshold, the first spike in tonic 2°VN occurred always with a long delay (>50 ms) after the onset of the positive current step. This delay differed considerably for different tonic 2°VN (mean: 156. 4 ± 135.5 ms; $n = 55$) but was always much longer than for phasic 2°VN. Although in response to small current steps, only one or two spikes were triggered, the spike discharge pattern evoked by small as well as by large current steps in tonic 2°VN clearly differed from that in phasic 2°VN. Saturation was reached at a maximum rate that averaged to 51.5 ± 17.3 spikes/s ($n = 17$, Figs. 2, *C*, ○, □, △, ▽, ◁, ◇, and *D*, ○, and 3*C*). With larger current steps, a brief, rapidly adapting burst that usually was limited to the first two spikes preceded the constant tonic discharge (Fig. 2*C*, ▽, ◁, ◇). The spike rate of the first interspike interval increased with current intensity and saturated at maximum rates that varied between 90 and 190 spikes/s in different neurons (mean: 144.3 ± 30.1 spikes/s; $n = 17$; Figs. 2*D*, △, and 3*C*). However, this value was significantly lower ($P \leq 0.01$; Mann Whitney test) than the discharge rate of the first two spikes within the burst evoked in phasic 2°VN.

The increase in frequency of the constant discharge with current intensity in tonic 2°VN was fairly linear over a wide range of injected current (Fig. 3*A*). However, the rate of the increase varied between different neurons as indicated by the different slopes of the curves in Fig. 3*A*. Part of this variation is most likely due to differences in passive impedance between individual tonic 2°VN. Taking these differences into account and to obtain the rate of increase with respect to voltage, the spike rate within the linear part was fitted with a linear regression and plotted with respect to the calculated voltage (Fig. 3*B*). A calculation of the voltage rather than obtaining it from the evoked depolarization was necessary because determination of the actual membrane potential in the presence of action potentials, in particular at higher discharge rates is very difficult. This approach is justified because the *I-V* curve of tonic 2°VN was linear. After this procedure, an increase of the discharge of tonic 2°VN at an average rate of 3.4 ± 1.9 $\text{spikes}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{mV}^{-1}$ after reaching spike threshold (Fig. 3*B*, - - -) was obtained. No relation between threshold and slope of the discharge was found.

Among a number of parameters, type A and type B vestibular neurons in guinea pig can be differentiated in the in vitro whole brain by their spontaneous discharge regularity (Babalian et al. 1997). Although, the discharge regularity could not be obtained at rest in 2°VN recorded in the in vitro frog brain, it was possible to determine the regularity of the spike discharge in tonic (but not in phasic) 2°VN during persistent firing evoked by positive current steps. The discharge regularity, indicated by the coefficient of variation (CV), depended on the firing rate as shown in Fig. 3*D*. The CV decreased with increasing spike rate, reached 0.34 at ~10 Hz and was constant at firing rates >40 Hz with a value of ~0.15 (Fig. 3*D*).

Dynamics of the spike discharge during ramp-like current injection

To reveal the discharge dynamics of phasic and tonic 2°VN, slow-rising (2 s) ramp-like currents were injected (Fig. 4). In all phasic 2°VN, these ramp-like currents, however, failed to

FIG. 2. Spike discharge patterns in 2 2°VN in response to increasing positive current steps and spatial location of phasic and tonic 2°VN. *A* and *B*: the short burst-like spike discharge (*A*) and the continuous discharge (*B*) in response to injected current steps differentiated phasic (*A*) from tonic 2°VN (*B*). *A, insets*: extended time scale of the brief bursts of spikes. The *bottom trace* in *A* and *B* shows the current steps. Calibration bars of the *top trace* in *A* and *B* apply for all other traces in the same row, respectively. The calibration bar of the *inset* in the *top trace* in *A* applies for all other *insets* in *A*. *C*: firing rates of the phasic (●, ▲, ▼) and the tonic 2°VN (○, □, △, ▽, ◁, ◇) shown in *A* and *B* as a function of the interspike intervals. The different open symbols in *C* represent the discharge of the tonic 2°VN at increasing current steps. Note the rapidly adapting burst of the 1st 2 spikes in the tonic 2°VN at stronger current steps. *C, inset*: spike rate for the 1st 5 spikes at an extended scale. *D*: firing rates of the phasic 2°VN in *A* (▲) and the tonic 2°VN in *B* (○, △) as a function of the current intensity. *E*: stereotactic position of phasic and tonic 2°VN plotted in a parasagittal coordinate system. Zero rostrocaudal position and depth refers to the caudal end of the entry of the VIIIth nerve and the surface of the brain stem, respectively.

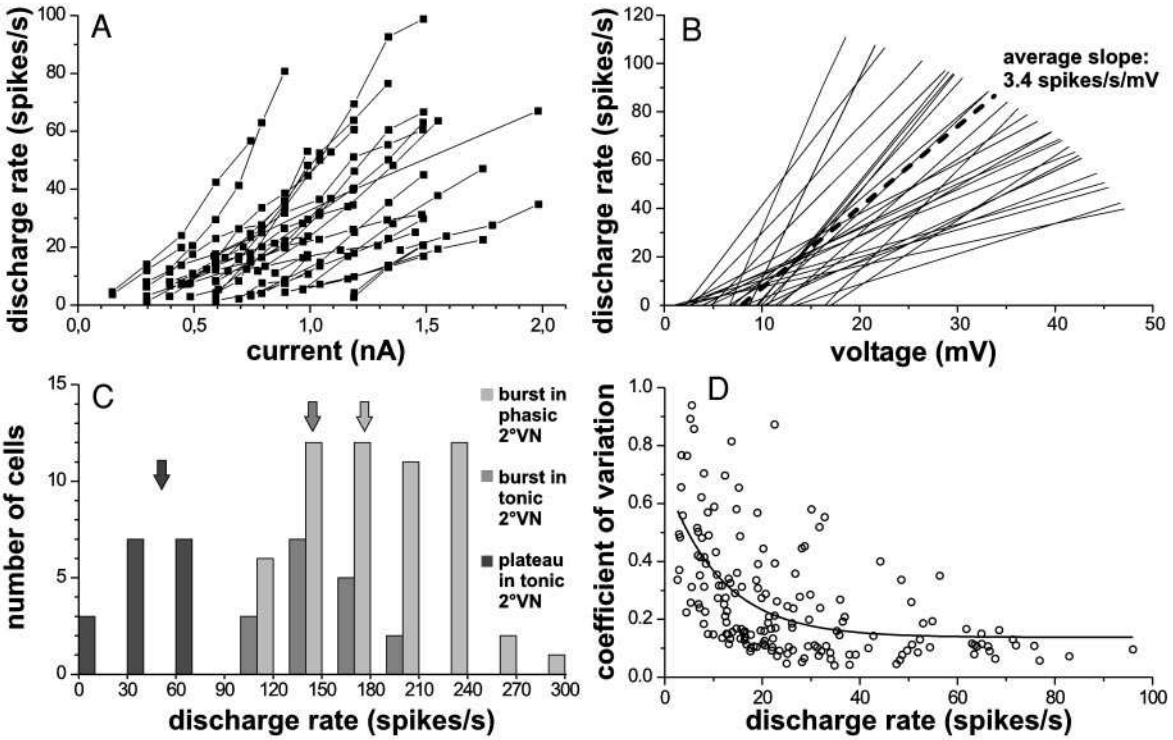


FIG. 3. Discharge rates in phasic and tonic 2°VN. *A* and *B*: spike rate of the continuous discharge in response to positive current steps in tonic 2°VN ($n = 30$) as a function of the injected current (*A*) and the calculated voltage (*B*). In *B*, the voltage was calculated by taking into account the individual input resistance of each of the tonic 2°VN, respectively; the rate of increase in *B* was obtained by fitting a linear regression through the linear part of the spike rate increase of each neuron. - - -, the average increase in spike rate (mean: 3.4 ± 1.9 spikes·s^{-1}·mV^{-1}; $n = 30$). *C*: histogram showing the maximal discharge rate of the continuous discharge in tonic 2°VN ($n = 17$) and of the 1st interspike interval (burst) in tonic ($n = 17$) and in phasic 2°VN ($n = 56$); ↓, the average maximal rate, respectively. *D*: spike discharge regularity of the continuous discharge in tonic 2°VN indicated by the coefficient of variation (CV) as a function of the discharge rate. The CV decreased with spike rate and was constant >40 Hz at values of ~0.15.

evoke a spike discharge (Fig. 4*A1*). Instead, the membrane potential slowly depolarized during the current ramps and exceeded spike threshold without triggering a spike in any of the phasic 2°VN. However, action potentials could be triggered in the same neurons when faster rising current ramps were applied (Fig. 4*A2*, 2). Because current ramps with a slightly slower (critical) slope failed to trigger a spike (Fig. 4*A2*, 1), a threshold rate of membrane depolarization that was necessary to evoke an action potential could be defined for each phasic 2°VN. This threshold rate was determined for each phasic 2°VN by applying a series of current ramps that changed the slope of the membrane potential around the critical slope in intervals of 0.2–0.3 mV/ms. Accordingly, the rate of the change of the membrane potential must exceed on the average 1.4 ± 0.7 mV/ms ($n = 33$; Fig. 4*A3*), and the membrane potential must reach spike threshold to trigger a spike. Thus the failure of evoking a discharge with slow but not with fast ramp-like currents is in accordance with the particularly fast adapting responses to positive current steps.

In contrast, tonic 2°VN slowly depolarized during the injection of slow ramp-like currents, and after reaching spike threshold between –57 and −53 mV started to discharge. Spike frequency increased with increasing current and continued to discharge throughout the extent of the applied current (Fig. 4*B*, *top*). However, in all tonic 2°VN tested with ramp-like currents the peak discharge rate (Fig. 4*B*, asterisk; mean: 49.6 ± 5.3 spikes/s; $n = 10$) decreased to lower values during the subsequent plateau discharge (Fig. 4*B*, double asterisk; mean: 39.4 ± 8.1 spikes/s). As indicated by this difference in the discharge rate (overshoot: 10.2 ± 4.3 spikes/s), the spike rate at the peak of the ramp adapts to a certain extent to reach lower discharge rates during the sustained plateau phase.

Spike parameters of phasic and tonic second-order vestibular neurons

Second-order vestibular neurons in the in vitro frog brain were not spontaneously discharging at rest in this as in earlier studies (Straka and Dieringer 1996; Straka et al. 1997, 2002). To characterize the shapes of the action potentials in phasic and tonic 2°VN and to determine various spike parameters, action potentials were evoked by positive current steps. Comparison of the action potentials in phasic and tonic 2°VN revealed that both types of neurons not only differed in their particular characteristic spike discharge pattern but also in the shape of their evoked action potentials. Phasic 2°VN were characterized by action potentials with a small monophasic afterhyperpolarization (e.g., 5*A1*, arrow) followed by a small after-depolarization (Fig. 5*A1*, 1 in *A3*). During current steps that evoked bursts in phasic 2°VN, the second spike followed the first spike without changing the time course and size of the monophasic afterhyperpolarization (Fig. 5*A2*, 2–5 in Fig. 5*A3*). At current intensities that were just above threshold for a second spike, this spike was evoked on top of the small afterdepolarization (2 in Fig. 5*A3*). At even higher current intensities, this second

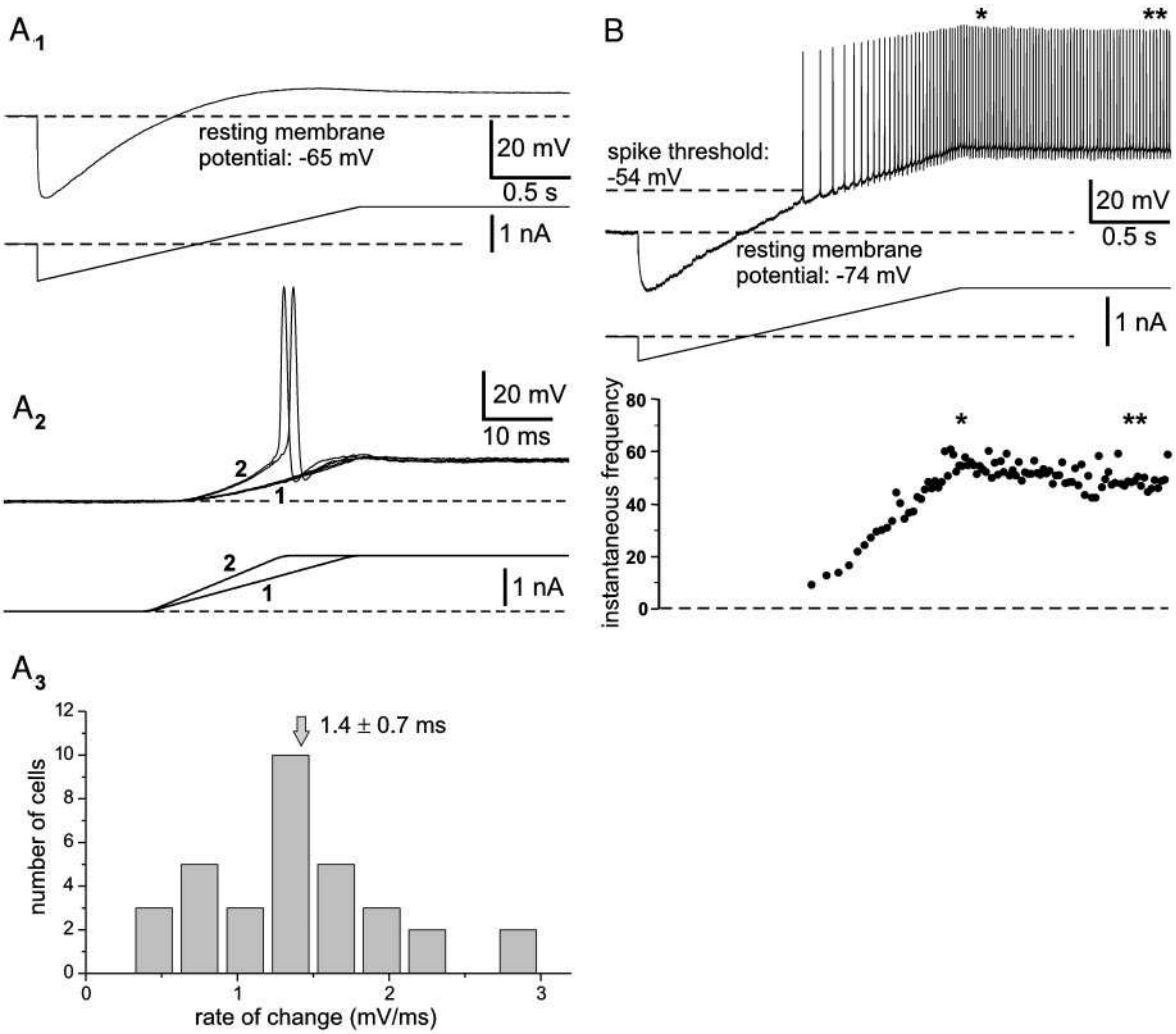


FIG. 4. Discharge behavior in response to ramp-like currents in a phasic and a tonic 2°VN. *A1*: injection of a slow ramp-like current gradually depolarized a phasic 2°VN above spike threshold without triggering action potentials. *A2*: injection of a fast ramp-like current in the same phasic 2°VN triggers a spike as soon as a particular rate of change in the membrane potential as well as spike threshold were reached (2 in *A2*); slightly slower rates but same voltage (1 in *A2*) failed to trigger spikes. *A3*: distribution of the threshold rates of change in the membrane potential necessary to evoke spikes in different phasic 2°VN ($n = 33$). Arrow and number indicate mean ± SD; the distributions was normal according to the Kolmogorov-Smirnov one-sample test. *B, top*: injection of a slow ramp-like current gradually depolarized a tonic 2°VN and triggered action potentials above spike threshold (at −54 mV) which increased in frequency with increasing depolarization. *Bottom*: instantaneous discharge frequency; the spike rate at the peak of the ramp adapts to lower discharge rates during the sustained plateau phase. Single and double asterisks, peak and plateau discharge rates, respectively. The record in *A1* represents the average of 4 responses; records in *A2* and *B* are single sweeps.

spike was evoked at a progressively shorter delay with respect to the first spike (2–5 in Fig. 5*A3*).

Action potentials in tonic 2°VN were characterized by a biphasic afterhyperpolarization (Fig. 5*B, 1–3*). The biphasic afterhyperpolarization consisted of a first, fast and large component (Fig. 5, *B*1 and *B*2, arrow) and of a delayed second, slower and smaller component (*B*1 and *B*2, double arrow). However, the second component was present only at lower but absent at higher spike rates (1–5 in *B3*) because the subsequent spike was triggered before or just at the potential onset of the second, slow component (*B3, inset*, double arrow). During depolarization of the membrane potential, the delayed second component usually tended to disappear even at low discharge rates. Furthermore, the first, fast component of the afterhyperpolarizaton in tonic 2°VN had a significantly larger amplitude ($P \leq 0.05$; Mann Whitney *U* test) compared with the corresponding single afterhyperpolarizaton in phasic 2°VN, although the distributions overlapped to a large extent (Figs. 5, *A1* and *B1*, compare single arrows, and 7*B*; Table 2*A*). Apart from these differences in the shape of the action potentials, and in particular the size of the afterhyperpolarization between phasic and tonic 2°VN, other parameters as spike threshold (see arrow in Fig. 5, *A1* and *B1*) spike amplitude, width, and rise and fall times were not significantly different (see Table 2*A*).

Membrane properties of phasic and tonic second-order vestibular neurons

The differences in the shape of the action potentials and in the discharge properties of phasic and tonic 2°VN were correlated with their passive membrane properties. These passive

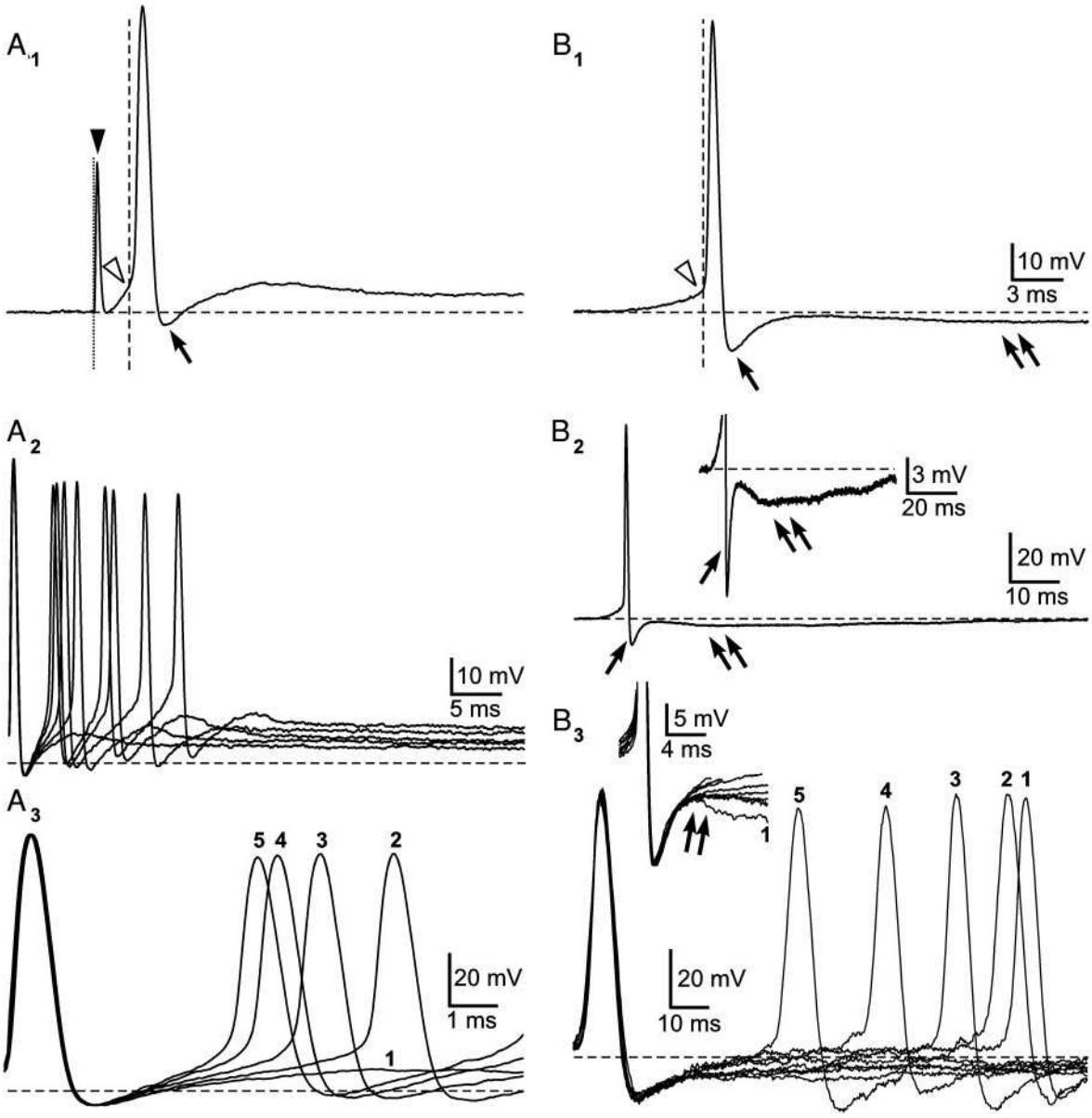


FIG. 5. Shape and parameters of action potentials evoked by injection of postitive current pulses in a phasic and a tonic 2°VN. *A* and *B*: phasic 2°VN have a single small afterhyperpolarization (AHP; single arrow in *A1*), tonic 2°VN have a biphasic AHP with a fast, large (single arrow in *B, 1* and *2*) and a delayed, smaller component (double arrow in *B, 1* and *2*). *B2, inset*: magnification of the biphasic AHP. Single spikes were used to determine spike parameters; open triangle and vertical dashed lines in *A1* and *B1* indicate spike threshold (point at the beginning of the spike where the voltage trace reached 10 mV/ms); spike and AHP amplitude, width, and rise and fall time were determined from this level. *A, 2* and *3*, and *B3*: superimposed traces (1–5 in *A3* and *B3*) in response to increasing positive currents steps that triggered spikes at increasingly shorter intervals. All traces were aligned at the peak of the 1st spike, respectively. *B3, inset*: extended time scale of the onset of the biphasic AHP in a tonic 2°VN. Note that the delayed small AHP (double arrow in *B3, inset*) is present only at the long interspike intervals (1 in *B3*). Solid arrowhead in *A1* indicates stimulus artifact at the onset of the positive current step. Dashed horizontal lines indicate baselines. Calibration bars in *B1* apply also for *A1*.

membrane properties differed even though the average resting membrane potential of the two types of 2°VN (mean: -69.4 ± 8.9 mV; $n = 249$) were essentially identical (see Table 2*B*). To determine the input resistance and time constants of phasic and tonic 2°VN small negative current pulses were applied (Fig. 6, *A, 1* and *2*, and *B, 1* and *2*). The passive input resistance and the first two time constants (τ_0 and τ_1) were determined by fitting responses to hyperpolarizing voltage steps with a double-exponential equation (see *Eq. 1* in METHODS).

Phasic 2°VN differed from tonic 2°VN by a significantly lower input resistance and smaller time constants, although the respective distributions of these parameters overlapped considerably (Figs. 6, *A, 1* and *2*, *B, 1* and *2*, and 7, *A, C*, and *D;* see Table 2*B*). In fact, the input resistance of phasic 2°VN was almost 50% lower than that of tonic 2°VN (Fig. 7*A*; Table 2*B*). However, in the latter neurons this input resistance was very heterogeneous as indicated by the large SD (Fig. 7*A*; Table 2*B*). Separating tonic 2°VN according to

TABLE 2. *Phasic and tonic second-order vestibular neurons*

A. Parameters of action potentials

	Spike Threshold, mV	Spike Amplitude, mV	Spike Width, ms	Spike Rise Time, ms	Spike Fall Time, ms	AHP Amplitude, mV
Phasic 2°VN	−55.3 ± 4.4 (175)	58.9 ± 11.7 (175)	1.8 ± 0.4 (175)	0.8 ± 0.2 (175)	1.0 ± 0.3 (175)	9.7 ± 5.9 (175)
Tonic 2°VN	−55.6 ± 4.9 (48)	56.5 ± 6.4 (48)	1.7 ± 0.4 (48)	0.8 ± 0.2 (48)	0.9 ± 0.2 (48)	13.0 ± 6.5* (48)

B. Passive membrane properties

	Resting Membrane Potential, mV	Input Resistance, MΩ	Time Constant τ_0, ms	Time Constant τ_1, ms
Phasic 2°VN	−69.7 ± 8.7 (194)	13.9 ± 8.7 (133)	2.1 ± 0.9 (133)	19.6 ± 12.9 (133)
Electrically coupled	—	10.0 ± 4.1 (17)	2.0 ± 0.7 (17)	19.5 ± 9.4 (17)
Not electrically coupled	—	14.5 ± 8.0# (116)	2.3 ± 0.9 (116)	20.7 ± 12.2 (116)
Tonic 2°VN	−68.6 ± 9.9 (55)	25.1 ± 17.1*** (27)	2.0 ± 0.8 (27)	24.7 ± 15.5* (27)
Electrically coupled	—	12.9 ± 6.1 (8)	1.7 ± 0.6 (8)	14.3 ± 7.2 (8)
Not electrically coupled	—	30.1 ± 14.5## (19)	2.4 ± 0.8# (19)	29.5 ± 13.6## (19)

Phasic and tonic second-order vestibular neurons (2°VN) were subdivided according to the presence or absence of electrical excitatory postsynaptic potentials (EPSPs) preceding the monosynaptic chemical EPSP. Parentheses enclose number of neurons; significance of difference (Mann-Whitney *U* test) between phasic and tonic 2°VN: $*P \leq 0.05$; $***P \leq 0.0001$; significance of difference (Mann-Whitney *U* test) between 2°VN that were electrically coupled or uncoupled: $^{\#}P \leq 0.05$; $^{\#\#}P \leq 0.01$.

the presence or absence of an electrical EPSP component that precedes the afferent vestibular nerve branch-evoked monosynaptic chemical EPSP in some neurons (see preceding text) gave two distinct subpopulations that differed significantly in their respective passive membrane properties (Table 2*B*). Tonic 2°VN that were electrically coupled to vestibular nerve afferent fibers had a significantly lower input resistance and smaller time constants than those tonic 2°VN that were not electrically coupled (Table 2*B*). A similar but less distinct difference was observed for phasic 2°VN that could be also subdivided according to the presence or absence of an electrical EPSP preceding the monosynaptic chemical EPSP evoked by vestibular nerve afferent fibers (Table 2*B*).

The current-voltage relationship (*I-V* curve) in phasic and tonic 2°VN was determined by injection of a series of long hyper- and depolarizing current steps of different intensities (Fig. 6, *A3* and *B3*). The responses of phasic and tonic 2°VN to hyperpolarizing and subthreshold depolarizing current pulses differed in their current dependency as indicated by the slopes of their *I-V* curves (Figs. 6, *A4* and *B4*, and 7*E*). In addition, a sharp initial transient (Fig. 6*A3*, ○) that decreased to lower values during the subsequent plateau phase (Fig. 6*A3*, ●) was present in phasic but not in tonic 2°VN (see *B3*, □ and ■). This distinct initial transient and the subsequent rectification are compatible with the burst-like discharge of these neurons and the absence of a continuous firing evoked by positive current steps. In contrast, such a sharp initial depolarizing transient was absent in tonic 2°VN and both the initial (Fig. 6*B3*, □) as well as the plateau component (*B3*, ■) exhibited a similar current voltage relation during the depolarizing current steps (Fig. 6*B4*). Because the sharp, initial depolarizing transient was restricted to phasic 2°VN, this parameter was quantified by calculating the ratio of the amplitudes of the initial transient response/plateau response of phasic 2°VN to depolarizing steps at current intensities just subthreshold to spike generation. The presence of an initial transient in phasic 2°VN in response to positive current steps is also indicated by the significantly different slopes ($P \leq 0.0001$; Wilcoxon signed-rank test) of the *I-V* curve for the initial transient and the plateau component during positive current steps (Fig. 7*E*). Because tonic 2°VN did not exhibit such a transient peak, the ratio between the largest response obtained within a window of 100 ms after the onset of the current pulse and the final plateau response was calculated for these neurons. After this procedure, the ratio was found to be well >1 (mean: 1.87 ± 0.46) in phasic 2°VN (Fig. 7*F*, ▨). In contrast, this ratio was centered around 1 (mean: 0.97 ± 0.09) in tonic 2°VN (Fig. 7*F*, ■) because the early and the late component in these neurons had always similar amplitudes. The two values were significantly different ($P \leq 0.0001$; Mann-Whitney *U* test). The absence of overlap of these values for phasic and tonic 2°VN implies that this parameter can serve as a decisive property to separate phasic and tonic 2°VN using subthreshold depolarizing current pulses. Thus frog 2°VN can be classified as phasic and tonic 2°VN even in the absence of action potentials. The responses of individual phasic and tonic 2°VN to current pulses were used to calculate the average *I-V* curves of the two types of neurons (Fig. 7*E*). The average slope of the *I-V* curve for tonic 2°VN (mean: 25.1 ± 14.8 mV/nA; $n = 22$) was significantly steeper ($P \leq 0.001$; Mann-Whitney *U* test) than for phasic 2°VN (mean: 13.0 ± 7.7 mV/nA; $n = 44$; Fig. 7*E*), which corroborated the significant difference in input resistance between the two types of neurons using small hyperpolarizing current pulses.

DISCUSSION

According to differences in the spike discharge pattern evoked by positive current steps and ramp-like currents, frog 2°VN could be differentiated into two distinct subgroups. The 2°VN of the larger subgroup displayed a brief, high-frequency

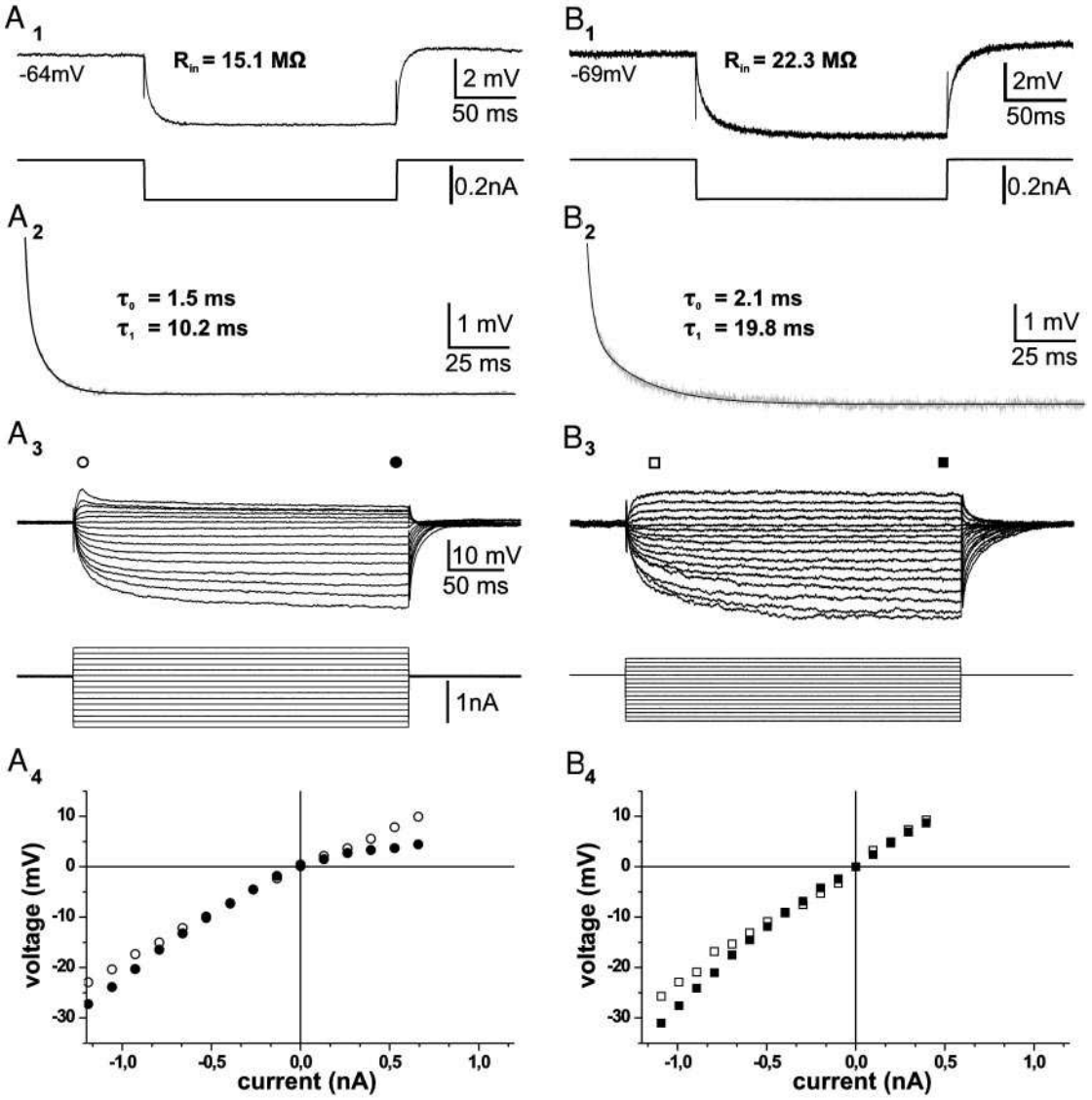


FIG. 6. Passive membrane properties of a phasic and a tonic 2°VN. *A, 1* and *2*, and *B, 1* and *2*: responses to injections of small negative current steps were used to calculate the input resistance and the 1st 2 time constants (τ_0 and τ_1) in a phasic (*A*) and a tonic 2°VN (*B*). Time constants were obtained by fitting a double-exponential equation (see *Eq. 1* in METHODS) through the voltage responses of *A1* and *B1* shown at an extended time scale in *A2* and *B2*, respectively. *A, 3* and *4*, and *B, 3* and *4*: responses to series of hyper- and depolarizing current steps (*A3* and *B3*) of the same phasic and tonic 2°VN shown in *A, 1* and *2*, and *B, 1* and *2*, respectively, were used to determine the current-voltage relationship (*I-V* curve, *A4* and *B4*). Phasic but not tonic 2°VN exhibit a sharp initial transient in response to positive current steps (*A, 3* and *4*, and *B, 3* and *4*, ○ and □) that decreases to lower values during the subsequent plateau phase (*A, 3* and *4*, and *B, 3* and *4*, ● and ■). Records in *A, 1* and *2*, and *B, 1* and *2* represent the average of 40 responses, respectively. Records in *A, 3* and *4*, and *B, 3* and *4* represent the average of 3 responses, respectively. Calibration bars in *A3* apply also for *B3*.

burst of spikes but no continuous discharge in response to positive current steps and were accordingly named "phasic neurons." In contrast, the 2°VN of a smaller subgroup exhibited a continuous discharge with moderate adaptation in response to positive current steps and were named "tonic neurons."

Second-order vestibular neurons with different response dynamics in the frog

In comparison to mammals, the absence of a spontaneous resting discharge in 2°VN recorded in the in vitro frog whole brain (Straka and Dieringer 1996, 2000; Straka et al. 1997, 2002) appears largely due to the very hyperpolarized resting membrane potential of these neurons (about −69 mV). This is likely to result from the loss of excitatory inputs from vestibular nerve afferent fibers, which discharge at low spontaneous rates of 1–10 spikes/s in vivo in frog (Blanks and Precht 1976). Thus the average in vivo resting firing rate of 2°VN, which also ranges from 1 to 10 spikes/s (Dieringer and Precht 1977), might largely depend on the spontaneous activity of vestibular nerve afferent fibers. As in the frog, guinea pig 2°VN recorded in slices or in the in vitro whole brain have significantly lower resting activities (~10–15 spikes/s) (Babalian et al. 1997) than in vivo (~40 spikes/s) (Ris and Godaux 1998; Ris et al. 1995).

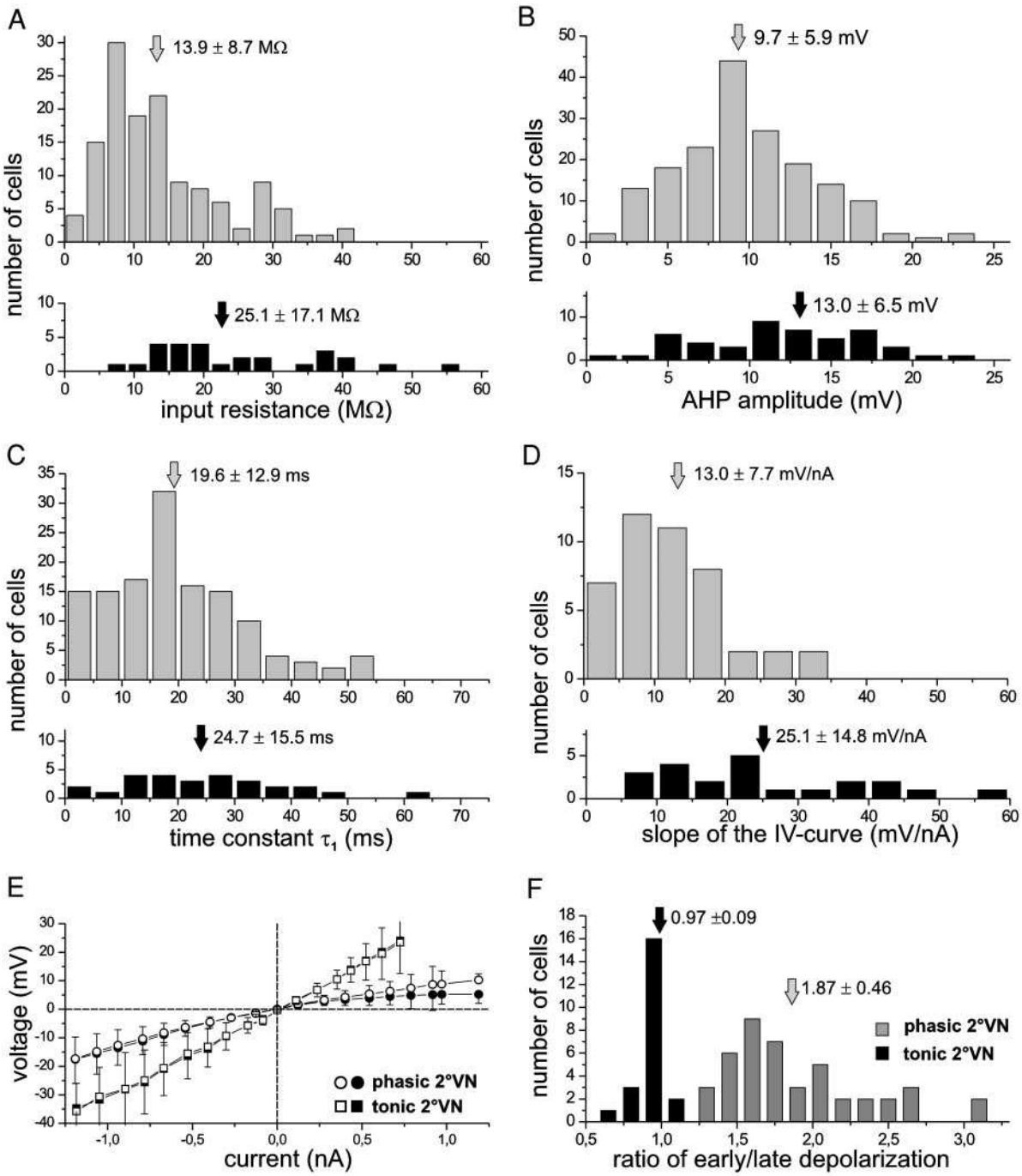


FIG. 7. Distribution of membrane parameters of phasic and tonic 2°VN. *A–D*: histograms showing the distributions of input resistance (*A*), amplitude of the spike afterhyperpolarization (AHP, *B*), time constant τ_1 (*C*), and slope of the current-voltage relation (*I-V* curve; *D*) in phasic (▨) and tonic 2°VN (■), respectively. Exept for the input resistance, distributions were normal according to the Kolmogorov-Smirnov one sample test. ↓ in *A–D*, the means ± SD (see Table 2, *A* and *B*). *E*: means ± SD of the *I-V* curve of phasic ($n = 44$) and tonic 2°VN ($n = 22$). ○ and ●, the initial transient and the plateau phase in phasic 2°VN; □ and ■, the equivalent values in tonic 2°VN as shown in Fig. 6, *A3* and *B3*. Note that the *I-V* curve for the initial transient and the plateau phase in phasic 2°VN dissociates for positive current steps. *F*: histogram showing the distribution of the ratio of the early/late depolarization components in phasic ($n = 44$; ▨) and tonic 2°VN ($n = 22$; ■), respectively. Because a sharp early transient with a large amplitude is always present in phasic but not in tonic neurons, this ratio is well >1 in phasic 2°VN and centered ~1 in tonic 2°VN. ↓, means ± SD.

However, the absence of a spontaneous resting activity in 2°VN in the in vitro experiments in frog might be explained, at least in part, by the lower temperature (14°C) at which the experiments on the isolated frog brain were preformed in comparison to most in vivo recordings at room temperature (about 20–22°C) (see Blanks and Precht 1976). This is based on the fact that the spontaneous activity is reduced at lower temperatures. In fact, it has been shown for frog auditory nerve fibers recorded in vivo that the spontaneous activity is reduced by a factor of 1.6 (Q_{10}) for a reduction in temperature by 10°C

(van Dijk et al. 1990). According to this result, a resting activity of 10 Hz in 2°VN should decrease to ~7.5 Hz when the temperature is lowered from 21 to 14°C. This is only minor compared with the complete absence of a resting activity in the isolated in vitro frog brain. Hence, the lower recording temperature cannot solely explain the absence of the spontaneous activity of 2°VN in the in vitro frog brain. Because frogs are poikilothermic vertebrates and are functional at a range of temperatures, a comparison of neuronal resting activities between frogs and mammalian species must be always accompanied by the temperature at which the recordings were obtained.

The absence of a resting discharge in frog 2°VN in vitro prohibited a classification of these neurons according to their spontaneous firing pattern. The 2°VN were therefore segregated into two distinct subtypes, phasic and tonic neurons, using injection of long positive current steps to evoke spikes. Because no neurons with intermediate response patterns were encountered, phasic and tonic 2°VN in frog represent two separate populations rather than a continuum. This classification of frog 2°VN does not seem to be restricted to a particular vestibular nucleus because the 249 2°VN were recorded throughout all vestibular nuclei without any noticeable difference in the topography of the two cell types.

The distinction between phasic and tonic neurons was corroborated by differences in other active and passive membrane properties. The transient response of phasic 2°VN was associated with the existence of a threshold for the rate of voltage change to evoke spikes during ramp-like currents (Fig. 4*A2*). When current steps did not reach the spike threshold, a sharp initial voltage transient was visible at the beginning of the membrane potential response (Fig. 6*A3*). In contrast, the continuous discharge of tonic 2°VN was associated with a linear increase of the spiking rate over a wide range as soon as the spike threshold was reached.

The rapidly adapting, transient responses of phasic 2°VN could be due either to particular membrane properties and/or to a synaptic circuitry involving a recurrent inhibition. In fact, a combination of both mechanisms has been shown to be responsible for the phasic responses to current steps displayed by the goldfish Mauthner cell (Nakayama and Oda 2003). In the isolated whole brain, a recurrent inhibition can be ruled out for phasic frog 2°VN because the phasic discharge pattern was not modified by a blockade of the chemical synaptic transmission. Thus it is likely that the phasic response properties of these neurons are mainly due to particular membrane properties. However, a recurrent inhibition might still contribute to shape the burst response of phasic 2°VN in vivo because an inhibitory feedback loop has been demonstrated in frog vestibular nuclei (Straka and Dieringer 1996, 2000; Straka et al. 1997). One of the important implications of the rapid and prominent adaptation capabilities of phasic neurons is that these 2°VN are silent in the absence of fast synaptic inputs even at membrane potentials above spike threshold. This is compatible with and might in fact explain the presence of spontaneously inactive frog 2°VN in vivo (Dieringer and Precht 1977).

Considerably more phasic than tonic 2°VN were recorded in the course of this study. This suggests an important role of phasic signals in the stabilization of gaze and posture in the frog. However, the larger number of phasic 2°VN might simply result from a sampling bias. Because the average input resistance of phasic 2°VN was significantly lower than that of tonic 2°VN, the latter neurons are likely to be smaller and thus more difficult to record. Both phasic and tonic 2°VN with a vestibular nerve branch-evoked electrical EPSP had a lower input resistance than the neurons where such an electrical component was absent. This suggests that in those 2°VN that are electrically coupled to presynaptic vestibular nerve afferent fibers, the input resistance is shunted by the presence of gap-junctions between the two cells.

Phasic and tonic 2°VN exhibited a similar convergence of labyrinthine nerve afferent input (Table 1), indicating that none of the two types was restricted to either canal or macular pathways. Rather both types of vestibular neurons are part of the network that mediates angular and linear head acceleration signals. However, a particular correlation of one or the other type of 2°VN with macular signals might have been underestimated by the fact that the lagenar and the utricular nerve branch were not stimulated in all experiments in addition to the canal nerve branches. Although tonic 2°VN tended to have more ascending projections and phasic 2° VN more descending projections, both types projected to spinal and/or to ocular motor target areas. Altogether, the presence of phasic and tonic 2°VN with similar afferent inputs and efferent targets suggests the presence of parallel pathways within the vestibulo-ocular and -spinal networks.

Parallel frequency-tuned channels underlying vestibulo-ocular responses in frogs

In the vestibular sensory organs of frogs, low- and high-frequency linear and angular head acceleration components are discriminated by different types of hair cells that differ in their response properties (Baird 1994a,b; Baird and Lewis 1986; Flock and Orman 1983; Lewis and Li 1975; Lewis et al. 1982; Myers and Lewis 1990). For the utricular hair cells, it has been shown that nonadapting hair cells display largely passive voltage responses, whereas others are endowed with rapidly adapting responses mediated by fast ionic currents (Baird 1994a,b). These different hair cells would be best suited to code either tonic (nonadapting cells) or phasic (adapting cells) components of head movements (Baird 1994a,b). Assuming that similar morphological differences among canal as among macular hair cells, respectively, (Baird and Lewis 1986; Gioglio et al. 1995; Guth et al. 1994; Lewis and Li 1975; Myers and Lewis 1990) are paralleled by similar differences in physiological properties, a general functional segregation of hair cells in all labyrinthine end organs is likely.

A separation into pathways that differ in their signal content and response dynamics is also found at the level of vestibular nerve afferent fibers (see Goldberg 2000). However, the segregation of afferent fibers might be less clear than for hair cells. In fact, afferent fibers might rather form a broad spectrum of parallel pathways between two extremes. Nonetheless, thick utricular afferent fibers tend to innervate hair cells characterized by fast dynamics, whereas thin afferent fibers innervate hair cells that are nonadapting and have a low-frequency sensitivity (Baird and Schuff 1994). This suggests that the response dynamics of afferent fibers might be determined by the rate of adaptation of the innervated hair cells. It is also compatible with the idea that these parallel pathways originat-

ing in multiple types of hair cells are prolonged at the level of the vestibular nerve fibers (Honrubia et al. 1981 1989).

A similar distinction into separate pathways that differ in response dynamics is also found on the motor side of the frog vestibulo-ocular reflex (Dieringer and Precht 1986; Dieringer and Rowlerson 1984). Abducens motoneurons can be subdivided into different types that differ in size and discharge dynamics. Moreover, extraocular muscles include both slow-tonic and fast-twitch muscle fibers (Dieringer and Rowlerson 1984). The slow-tonic muscle fibers would be innervated by the small motoneurons that carry eye position-related signals, whereas the large twitch muscle fibers would be innervated by large motoneurons that carry eye velocity-related signals (Dieringer and Precht 1986).

In this context, the separation of 2°VN into phasic and tonic neurons that differ in membrane properties and response dynamics (Beraneck et al. 2003b) suggests the presence of neurons with different dynamics at each level of the gaze and posture stabilization network. These parallel pathways, from the hair cells to the extraocular muscles, however, are not completely separated because there is some convergence of signals along the pathway. First, single vestibular afferent fibers have an overlapping innervation of hair cells that differ from each other in their response dynamics (see Baird and Schuff 1994 for utricular afferent fibers). Second, both types of 2°VN receive inputs from vestibular nerve afferent fibers with phasic response dynamics (this study; see also Goldberg 2000). The latter is corroborated by the presence of electrical coupling to afferent nerve fibers in both tonic (see Fig. 1*B2*) and phasic 2°VN that occurs between the thickest afferent fibers that carry phasic signal components and 2°VN (Straka and Dieringer 1996, 2000; Straka et al. 1997).

The computation of the discharge of semicircular canal afferent fibers as state-space receptive fields is a new method to describe the dynamic activity of these first-order vestibular neurons (Paulin and Hoffman 1999, 2001). These state-space receptive fields quantify what the brain can deduce from the dynamical state of the head when a single spike arrives from the periphery. Such a computational principle could also be valid for 2°VN and might explain the convergence and divergence of signals in the vestibular pathways between cells endowed with different subsets of membrane properties. However, further physiological and computational studies are necessary to elucidate this question.

Whatever the details, this type of organization is not specific to frogs because it has also been described for the vestibulo-ocular network of mammals (see Vidal et al. 1999). Different hair cells and vestibular nerve afferent fibers have differential response dynamics (Goldberg 2000). Separate subgroups of vestibular neurons with different dynamic properties can be encountered in the MVN (Gallagher et al. 1985; Johnston et al. 1994; Serafin et al. 1991a,b). Furthermore, distinct populations of extraocular motoneurons innervating slow-tonic and fast-twitch muscle fibers, respectively, are present on the motor side (Büttner-Ennever et al. 2001). As in frogs, the different channels of the network, however, are not strictly separated but overlap to a certain extent at each synaptic level. If such an arrangement represents a true organization into parallel channels, however, depends on the definition of "parallel" as discussed for vestibular nerve afferent fibers (Peterson 1998). For the latter neurons, not all parameters used for the definition by Peterson are met compared with the organization of the respective neurons in other sensory systems. Although this is a reasonable approach, it is one point of view and strongly depends on particular criteria of the definition.

Comparison of active and passive membrane properties in second-order vestibular neurons of frogs and other vertebrates

Vestibular neurons in the MVN neurons of rodents can be subdivided into type A and B neurons according to spike shape, discharge regularity, and response dynamics (Babalian et al. 1997; Gallagher et al. 1985; Johnston et al. 1994; Serafin et al. 1991a,b; Vidal et al. 1999). Rodent type A and B cells as well as avian MVN neurons, however, might form a continuum of neurons with different properties rather than two separate populations (du Lac and Lisberger 1995). In contrast, phasic and tonic 2°VN of frog form two nonoverlapping populations with respect to their discharge behavior in response to positive current steps. However, the membrane properties such as input resistance, time constants or the size of the afterhyperpolarizaton, which differ significantly between the two types of neurons, overlap in their distributions. The particular contribution of these latter properties to the distinct discharge behavior of the two types of frog 2°VN is unknown so far. Even though, a number of membrane properties overlap, phasic and tonic 2°VN form two functionally separate populations.

A comparison of the passive and active membrane properties of frog tonic and phasic 2°VN with those of rodent type A and B MVN neurons indicates similarities as well as differences. Particularly intriguing are the similarities between frog tonic 2°VN and rodent type B vestibular neurons. Both display comparable *I-V* curves, shapes of action potential with a biphasic afterhyperpolarization (Johnston et al. 1994; Serafin et al. 1991a), and similar degrees of discharge adaptation during ramp-like currents (Ris et al. 2001). From a functional point of view, however, the two types seem to play different roles in rodents and frogs. In rodents, type B neurons represent a population of MVN neurons with stronger nonlinear responses and more phasic response dynamics, whereas the complementing type A neurons have more tonic response dynamics (Ris et al. 2001; Vidal et al. 1999). In contrast, tonic 2°VN in frogs represent a population of neurons that complements the very phasic 2°VN, which in turn exhibit highly nonlinear responses.

Vestibular neurons with a purely phasic discharge pattern and no continuous discharge in response to positive current steps as found in the frog are apparently absent in the adult chicken (du Lac and Lisberger 1995), rat (Johnston et al. 1994), or guinea pig (Gallagher et al. 1985; Serafin et al. 1991a,b). This difference could be due to the fact that in the frog, recordings were obtained from all vestibular nuclei, whereas the vestibular neurons in chicken and rodents were recorded in the MVN only. However, the large Deiter′s neurons of the lateral vestibular nucleus exhibit in guinea pig a tonic discharge that is similar to that of type A and B MVN neurons (Uno et al. 2003). Thus frog phasic 2°VN represents a cell type that is not present in the vestibular nuclei of adult birds or rodents. On the other hand, there seems to be no frog

2°VN that corresponds to the very tonic type A vestibular neurons found in rodents. This is in accordance with the larger proportion of adapting vestibular nerve afferent fibers in frogs compared with mammals (Lowenstein and Saunders 1975; Precht et al. 1971). In fact, all vestibular nerve afferents and vestibular neurons in mammals are characterized by phasic-tonic signals, whereas in frog phasic and tonic signals in the respective neurons remain to a large extent separate (see DISCUSSION in Blanks and Precht 1976), as indicated and supported by the absence of a tonic discharge in phasic 2°VN.

The presence of very phasic neurons in frog is not a particularity of "lower" vertebrates because neurons with a close to phasic response pattern were encountered in the nucleus prepositus hypoglossi of guinea pigs (E. Idoux, N. Vibert, M. Beraneck, P.-P. Vidal, and L. E. Moore, personal communication). The presence in frogs of large numbers of very phasic vestibular afferent fibers (Lowenstein and Saunders 1975; Precht et al. 1971) and vestibular neurons (this study) suggests that the network that analyses body movements is tuned to more phasic dynamics in these animals. In fact, the difference might be related to differences in movement strategies of frogs versus mammals, e.g., rats or guinea pigs. Frogs can spend long periods of time without moving, e.g., during prey catching. This prey catching behavior consists of discontinuous sequences of brief, rapid orienting movements interrupted by long periods of immobility (Schneider 1954). For this "wait-and-catch" strategy (see DISCUSSION in Dieringer and Precht 1986), a self-motion-detection system with particularly phasic neurons that serves as an event detector appears suitable. The absence of a tonic discharge in these phasic neurons is consistent with this movement strategy and can be viewed as an energy-saving mechanism. In addition to the phasic neurons, the small number of tonic neurons would be used to stabilize gaze and posture in absence of motion or during slower types of motor behavior. Thus differences in the response dynamics of neurons in the frog and guinea pig vestibular network, including 2°VN, are likely to reflect ecophysiological adaptations related to particular movement strategies of the two species rather than fundamental phylogenetic differences.

ACKNOWLEDGMENTS

Thanks to L. Schindler for technical assistance.

GRANTS

This research was supported by Sonderforschungsbereich 462 (Sensomotorik) der Deutschen Forschungsgemeinschaft, by the Marie-Curie Training Site QLK5-CT-2000-60087, and by the Friedrich-Baur-Stiftung 44/95. M. Beraneck is supported by a grant from the "Fondation pour la Recherche Médicale" (Bourse de Fin de Thèse FDT 20030627138).

REFERENCES

Babalian AL and Shapovalov AI. Mode of synaptic transmission between vestibular afferents and neurons of the vestibular nucleus in the frog. *Brain Res* 309: 163–167, 1984.

Babalian A, Vibert N, Assie G, Serafin M, Mühlethaler M, and Vidal PP. Central vestibular networks in the guinea-pig: functional characterization in the isolated whole brain in vitro. *Neuroscience* 81: 405–426, 1997.

Baird RA. Comparative transduction mechanisms of hair cells in the bullfrog utriculus. I. Responses to intracellular current. *J Neurophysiol* 71: 666–684, 1994a.

Baird RA. Comparative transduction mechanisms of hair cells in the bullfrog utriculus. II. Sensitivity and response dynamics to hair bundle displacement. *J Neurophysiol* 71: 685–705, 1994b.

Baird RA and Lewis ER. Correspondences between afferent innervation patterns and response dynamics in the bullfrog utricle and lagena. *Brain Res* 369: 48–64, 1986.

Baird RA and Schuff NR. Peripheral innervation patterns of vestibular nerve afferents in the bullfrog utriculus. *J Comp Neurol* 342: 279–298, 1994.

Beraneck M, Hachemaoui M, Idoux E, Ris L, Uno A, Godaux E, Vidal PP, Moore LE, and Vibert N. Long-term plasticity of ipsilesional medial vestibular nucleus neurons after unilateral labyrinthectomy. *J Neurophysiol* 90: 184–203, 2003a.

Beraneck M, Rohregger M, Moore LE, Vidal PP, Vibert N, and Straka H. Frequency dependent responses of frog second-order vestibular neurons. *Soc Neurosci Abstr* 29: 703.3, 2003b.

Blanks RHI and Precht W. Functional characterization of primary vestibular afferents in the frog. *Exp Brain Res* 25: 369–390, 1976.

Büttner-Ennever JA, Horn AK, Scherberger H, and D'Ascanio P. Motoneurons of twitch and nontwitch extraocular muscle fibers in the abducens, trochlear, and oculomotor nuclei of monkeys. *J Comp Neurol* 438: 318–335, 2001.

Cochran SL, Kasik P, and Precht W. Pharmacological aspects of excitatory synaptic transmission to second-order vestibular neurons in the frog. *Synapse* 1: 102–123, 1987.

Dieringer N and Precht W. Modification of synaptic input following unilateral labyrinthectomy. *Nature* 269: 431–433, 1977.

Dieringer N and Precht W. Functional organization of eye velocity and eye position signals in abducens motoneurons of the frog. *J Comp Physiol* 158: 179–194, 1986.

Dieringer N and Rowlerson A. Fiber types in the extraocular muscles of the frog (Abstract). *J Physiol* 353: 50P, 1984.

du Lac S and Lisberger SG. Membrane and firing properties of avian medial vestibular nucleus neurons in vitro. *J Comp Physiol* 176: 641–651, 1995.

Dunn RF. Nerve fibers of the eighth nerve and their distribution to the sensory nerves of the inner ear in the bullfrog. *J Comp Neurol* 182: 621–636, 1978.

Flock Å and Orman S. Micromechanical properties of sensory hairs on receptor cells of the inner ear. *Hear Res* 11: 249–260, 1983.

Gallagher JP, Lewis MR, and Shinnick-Gallagher P. An electrophysiological investigation of the rat medial vestibular nucleus in vitro. *Prog Clin Biol Res* 176: 293–304, 1985.

Gioglio L, Congiu T, Quacci D, and Prigioni I. Morphological features of different regions in frog crista ampullaris (*Rana esculenta*). *Arch Histol Cytol* 58: 1–16, 1995.

Goldberg JM. Afferent diversity and the organization of central vestibular pathways. *Exp Brain Res* 130: 277–297, 2000.

Guth PS, Fermin CD, Pantoja M, Edwards R, and Norris C. Hair cells of different shapes and their placement along the frog crista ampullaris. *Hear Res* 73: 109–115, 1994.

Honrubia V, Hoffmann LF, Sitko S, and Schwartz IR. Anatomic and physiological correlates in bullfrog vestibular nerve. *J Neurophysiol* 61: 688–701, 1989.

Honrubia V, Sitko S, Kimm J, Betts W, and Schwartz IR. Physiological and anatomical characteristics of primary vestibular afferent neurons in the bullfrog. *Int J Neurosci* 15: 197–206, 1981.

Johnston AR, MacLeod NK, and Dutia MB. Ionic conductances contributing to spike repolarization and afterpotentials in rat medial vestibular nucleus neurons. *J Physiol* 481: 61–77, 1994.

Lewis ER, Baird RA, Leverenz EL, and Koyama H. Inner ear: dye injection reveals peripheral origins of specific sensitivities. *Science* 215: 1641–1643, 1982.

Lewis ER and Li CW. Hair cell types and distributions in the otolithic and auditory organs of the bullfrog. *Brain Res* 83: 35–50, 1975.

Lowenstein O and Saunders RD. Otolith-controlled responses from the first-order neurons of the labyrinth of the bullfrog (*Rana catesbeiana*) to changes in linear acceleration. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 191: 475–505, 1975.

Myers SF and Lewis ER. Hair cell tufts and afferent innervation of the bullfrog crista ampullaris. *Brain Res* 534: 15–24, 1990.

Nakayama H and Oda Y. Common sensory inputs and different excitability of segmentally homologous reticulospinal neurons in teleost hindbrain. *Soc Neurosci Abstr* 29: 78.8, 2003.

Paulin MG and Hoffman LF. Modelling the firing pattern of bullfrog vestibular neurons responding to naturalistic stimuli. *Neurocomputing* 26: 223–228, 1999.

Paulin MG and Hoffman LF. State-space receptive fields of semicircular canal afferent neurons in the bullfrog. *Neurocomputing* 38: 293–298, 2001.

Peterson EH. Are there parallel channels in the vestibular nerve? *News Physiol Sci* 13: 194–201, 1998.

Precht W, Llinas R, and Clarke M. Physiological responses of frog vestibular fibers to horizontal angular rotation. *Exp Brain Res* 13: 378–407, 1971.

Precht W, Richter A, Ozawa S, and Shimazu H. Intracellular study of frog's vestibular neurons in relation to the labyrinth and spinal cord. *Exp Brain Res* 19: 377–393, 1974.

Ris L, de Waele C, Serafin M, Vidal PP, and Godaux E. Neuronal activity in the ipsilateral vestibular nucleus following unilateral labyrinthectomy in the alert guinea pig. *J Neurophysiol* 74: 2087–2099, 1995.

Ris L and Godaux E. Neural activity in the vestibular nuclei after contralateral or bilateral labyrinthectomyin the alert guinea pig. *J Neurophysiol* 80: 2352–2367, 1998.

Ris L, Hachemaoui M, Vibert N, Godaux E, Vidal PP, and Moore LE. Resonance of spike discharge modulation in neurons of the guinea pig medial vestibular nucleus. *J Neurophysiol* 86: 703–716, 2001.

Schneider D. Das Gesichtsfeld und der Fixiervorgang bei einheimischen Anuren. *Zeitschr Vergl Physiol* 36: 147–164, 1954.

Serafin M, de Waele C, Khateb A, Vidal PP, and Mühlethaler M. Medial vestibular nucleus in the guinea-pig. I. Intrinsic membrane properties in brainstem slices. *Exp Brain Res* 84: 417–425, 1991a.

Serafin M, de Waele C, Khateb A, Vidal PP, and Mühlethaler M. Medial vestibular nucleus in the guinea-pig. II. Ionic basis of the intrinsic membrane properties in brainstem slices. *Exp Brain Res* 84: 426–433, 1991b.

Straka H, Biesdorf S, and Dieringer N. Canal-specific excitation and inhibition of frog second-order vestibular neurons. *J Neurophysiol* 78: 1363–1372, 1997.

Straka H, Biesdorf S, and Dieringer N. Spatial distribution of semicircular canal nerve evoked monosynaptic response components in frog vestibular nuclei. *Brain Res* 880: 70–83, 2000.

Straka H and Dieringer N. Electrophysiological and pharmacological characterization of vestibular inputs to identified frog abducens motoneurons and internuclear neurons in vitro. *Eur J Neurosci* 5: 251–260, 1993.

Straka H and Dieringer N. Uncrossed disynaptic inhibition of second-order vestibular neurons and its interaction with monosynaptic excitation from vestibular nerve afferent fibers in the frog. *J Neurophysiol* 76: 3087–3101, 1996.

Straka H and Dieringer N. Convergence pattern of uncrossed excitatory and inhibitory semicircular canal-specific inputs onto second-order vestibular neurons of frogs. *Exp Brain Res* 135: 462–473, 2000.

Straka H, Holler S, and Goto F. Patterns of canal and otolith afferent input convergence in frog second-order vestibular neurons. *J Neurophysiol* 88: 2287–2301, 2002.

Straka H, Holler S, and Goto F, Kolb FP, and Gilland E. Differential spatial organization of otolith signals in frog vestibular nuclei. *J Neurophysiol* 90: 3501–3512, 2003a.

Straka H, Rohregger M, Beraneck M, Moore LE, Vidal PP, and Vibert N. Classification of vestibular neurons in frog and guinea pig according to intrinsic membrane properties. *Soc Neurosci Abstr* 29: 703.2, 2003b.

Uno A, Idoux E, Beraneck M, Vidal PP, Moore LE, Wilson VJ, and Vibert N. Static and dynamic membrane properties of lateral vestibular nucleus neurons in guinea pig brain stem slices. *J Neurophysiol* 90: 1689–1703, 2003.

van Dijk P, Lewis ER, and Wit HP. Temperature effects on auditory nerve fiber response in the American bullfrog. *Hear Res* 44: 231–240, 1990.

Vidal PP, Vibert N, Serafin M, Babalian A, Mühlethaler M, and de Waele C. Intrinsic physiological and pharmacological properties of central vestibular neurons. *Adv Otorhinolaryngol* 55: 26–81, 1999.

D.4 Conclusion

Cette étude nous a permis de décrire pour la première fois les propriétés membranaires intrinsèques des neurones vestibulaires secondaires de la grenouille. Celles-ci sont très clairement différentes de ce que nous connaissions chez le cobaye.

En conséquence, nous n'avons pas eu à faire appel aux techniques de classifications quantitatives utilisées sur les neurones de cobaye, la distinction entre les neurones toniques et phasiques correspondant à une définition électrophysiologique simple de leurs patrons de décharge respectifs.

Les résultats présentés ici, complétés par deux études portant plus spécifiquement sur les propriétés dynamiques de ces cellules (*voir discussion et annexes*) suggèrent l'existence de deux populations au sein des neurones vestibulaires secondaires de grenouille qui formeraient, conjointement avec les afférences vestibulaires et les motoneurones impliqués dans les synergies vestibulo-oculaires, des voies fréquentielles de traiteemnt des informations vestibulaires. La comparaison avec le cobaye renforce l'idée d'une équivalence fonctionnelle entre les neurones de type A/B du cobaye et les neurones toniques/phasiques de la grenouille. En effet, au sein de chaque système analysé individuellement, nous retrouvons la même distinction fonctionnelle entre des neurones toniques à réponses plutôt linéaires et des neurones phasiques pourvus de non-linéarités plus importantes. L'exemple de la grenouille ne représenterait qu'une exacerbation de cette dichotomie qui caractériserait le fonctionnement du système vestibulaire.

Nous pensons donc que les différences de dynamique des neurones des réseaux vestibulo-moteurs entre la grenouille et les mammifères reflètent probablement plus des adaptations éco-physiologiques, liées aux stratégies de mouvement spécifiques de chaque espèce, que des différences phylogénétiques fondamentales. Le comportement naturel de la grenouille alterne en effet de longues périodes d'immobilité, avec des périodes discontinues de mouvements rapides et brefs lors de la capture d'une proie ou d'une réaction de fuite (Schneider 1954, Dieringer et Precht 1986).

DISCUSSION GENERALE

A. Propos introductifs

A.1 Démarche scientifique : une approche physiologique

Au cours de mon travail de thèse, nous avons abordé une question centrale des neurosciences intégratives : celle des contributions respectives des propriétés membranaires intrinsèques propres à chaque neurone, par rapport aux propriétés émergeant du regroupement de ces neurones en réseaux fonctionnels. En travaillant sur le système de contrôle du regard et de la posture, notre démarche scientifique est d'interpréter nos recherches dans le cadre fonctionnel de la physiologie vestibulaire. Nous intégrons ainsi nos résultats dans un ensemble plus large qui inclue les recherches cliniques, les recherches animales effectuées *in vivo* et bien évidemment celles effectuées *in vitro*. Au cours de cette discussion, nous tenterons de mettre en perspective les différents résultats obtenus et d'orienter notre réflexion vers la physiologie du système. L'étude des propriétés membranaires intrinsèques des neurones vestibulaires ne peut, en l'état actuel des techniques, être réalisée qu'*in vitro*. Notre démarche expérimentale consiste en une approche quantitative des propriétés membranaires intrinsèques des neurones vestibulaires. Il me semble important de commencer cette discussion en présentant la raison d'être de cette approche, ainsi que certaines de ses limitations techniques et théoriques.

A.2 Démarche expérimentale : une approche quantitative des propriétés membranaires intrinsèques avec la modélisation pour ambition

Description des propriétés intrinsèques de repos et des réponses dynamique des neurones vestibulaires Au cours des dernières années, le L.N.R.S a développé des techniques d'analyse quantitative des propriétés membranaires intrinsèques des neurones vestibulaires. Ces techniques originales, développées par Lee Moore (Moore et col. 2004; Ris et col. 2001b), permettent tout d'abord de quantifier les propriétés membranaires de repos des neurones (potentiel de repos, forme des potentiels d'action et fréquence de décharge spontanée, résistance membranaire) en vue de leur **catégorisation automatique**. Elles nous

permettent aussi de caractériser la dynamique des réponses de ces neurones à des injections de courants en rampes ou sinusoïdaux de fréquences variées (jusqu'à 50 Hz). La dynamique de réponse des neurones du NVM a été évaluée à l'aide de stimulations en rampes de courant suivies par un plateau, et par l'injection de courants sinusoïdaux de fréquences variées. Dans la mesure du possible, ces stimulations ont d'abord été menées alors que les neurones sont à leur potentiel de repos et déchargent spontanément des potentiels d'action, puis alors qu'ils sont maintenus hyperpolarisés, en l'absence de potentiels d'action, et enfin une dernière fois alors que leur potentiel est maintenu anormalement dépolarisé par l'injection d'un courant dépolarisant continu. Ces stimulations tentent de reproduire ce qui se produit in vivo, où l'activité spontanée des neurones du NVM est modulée dans les deux sens à des fréquences très variables par les signaux sensoriels vestibulaires. Elles nous permettent de travailler à la modélisation et à la reproduction du comportement des cellules et ce dans des situations variées.

Les rampes de courant, d'assez forte amplitude (0,3 nA) permettent de quantifier la sensibilité de la décharge instantanée des neurones à la variation du courant pendant la rampe, et l'adaptation de l'activité spontanée de chaque neurone pendant le plateau qui suit (« overshoot »). Les sinusoïdes sont utilisées pour établir des diagrammes de Bode donnant le gain et le déphasage, par rapport à la modulation du courant, des modulations de la décharge spontanée du neurone, et du potentiel membranaire sous-jacent, en fonction de la fréquence des stimuli. Ces données permettent de caractériser la dynamique des réponses de chaque neurone aux injections de courant, de quantifier les sensibilités respectives de leur décharge instantanée aux variations de courant et de voltage, et de mesurer leur impédance dynamique (sensibilité du potentiel membranaire au courant injecté).

A l'aide des stimulations sinusoïdales, le L.N.R.S a développé des méthodes permettant d'obtenir une fonction de transfert linéaire empirique rendant compte, pour chaque neurone enregistré, de la modulation de sa décharge spontanée en fonction du courant injecté et de la fréquence de la stimulation. Cette fonction de transfert empirique est obtenue expérimentalement à partir des enregistrements intracellulaires. Pour des amplitudes de stimulation sinusoïdale provoquant des déflections du potentiel membranaire inférieures ou égales à 10 mV pic à pic, les réponses en terme de modulation de la décharge spontanée des deux types de neurones restent linéaires. Toutefois, elles présentent une résonance, c'est-à-dire une augmentation de l'amplitude de la modulation de la décharge instantanée obtenue en

réponse au courant injecté avec la fréquence de la stimulation ; l'amplitude de modulation ne chute qu'une fois passée une certaine fréquence-pic. En général, l'amplitude de la résonance est plus importante dans les neurones de type B que dans ceux de type A.

Cette approche quantitative a pour but de permettre de modéliser au mieux les réponses des neurones vestibulaires. La description qualitative de deux grands types de neurones distincts dans le NVM des Rongeurs adultes a donné lieu depuis 10 ans à plusieurs travaux de modélisation. Le but de ces recherches était d'élaborer des modèles artificiels réalistes des neurones de type A et B, fondés sur la représentation des différentes conductances neuronales par le formalisme de Hodgkin et Huxley. Quadroni et Knöpfel (1994) et Av-Ron et Vidal (1999) ont montré qu'il était possible d'obtenir des modèles réalistes reproduisant le comportement qualitatif des neurones de type A et B, y compris les réponses non linéaires que sont les plateaux sodiques persistants et les bouffées de potentiels d'action propres aux neurones de type B+LTS.

La quantification précise des propriétés membranaires enregistrées au repos et des réponses dynamiques des neurones du NVM du cobaye nous a permis d'améliorer la qualité et la précision de ces modèles. Ainsi, en comparant les fonctions de transfert empiriques obtenues expérimentalement avec les fonctions de transfert théoriques issues des modèles (Moore et col. 2004), où les paramètres des conductances sont modifiables à volonté, le L.N.R.S a pu déterminer que le phénomène de résonance est essentiellement lié à l'activation de conductances potassiques. Nous avons également pu montrer que l'activation de conductances augmente l'impédance active des neurones, qui diminue donc à mesure que le neurone est dépolarisé, et enfin que la cinétique des réponses neuronales dépend des constantes de temps des conductances actives de chaque cellule.

A.3 Démarche expérimentale : les limites

Les préparations L'essentiel de mes travaux repose sur des études *in vitro* menées à l'aide d'électrodes fines en configuration courant imposé. Ces techniques permettent d'avoir accès aux propriétés électrophysiologiques intrinsèques des neurones, mais présentent aussi des désavantages. La préparation de tranches de tronc cérébral de cobaye, d'une épaisseur de 500µm, est celle que j'ai le plus utilisée au cours de ma thèse. La principale limite de cette préparation est de ne pas préserver les réseaux dans lesquels sont impliqués les neurones que nous enregistrons. Isolés de leur environnement fonctionnel, ceux-ci adoptent des modes de

décharge spontanée de type pacemaker qui ne correspondent pas forcément à ceux rencontrés en conditions physiologiques. Ainsi sur tranches, tous les neurones vestibulaires présentent des fréquences de décharges régulières, alors qu'il est bien établi qu'on peut distinguer *in vivo* des neurones à décharges spontanées régulières et irrégulières. Un autre problème dû à cette isolation des neurones enregistrés sur tranches est qu'il devient impossible de les identifier fonctionnellement. Nous ne pouvons donc préciser si un neurone reçoit des signaux vestibulaires monosynaptiques, ni la nature exacte de ses afférences et de ses efférences. Les préparations de cerveau entier isolé *in vitro*, comme celle que j'ai utilisée chez la grenouille, permettent au contraire une bonne identification de la place des cellules enregistrées dans le système. L'identification fonctionnelle des neurones chez la grenouille est même particulièrement précise puisque, contrairement au cobaye, chacune des branches nerveuses spécifiques des différents organes vestibulaires peut être stimulée individuellement.

Les méthodes d'enregistrement D'autres difficultés tiennent à la technique d'enregistrement : des électrodes fines et un mode de stimulation en courant imposé. Les électrodes fines permettent des enregistrements qui donnent accès aux propriétés électrophysiologiques somatiques de la cellule. L'empalement constitue cependant une perturbation pour le neurone. Ainsi nous avons trouvé des décharges de repos des neurones vestibulaires médians légèrement supérieures à celles rapportées dans les études menées à l'aide des techniques extracellulaires et de patch-clamp. Si l'injection intracellulaire de courant permet une étude précise des propriétés électrophysiologiques globales de la cellule enregistrée, cette méthode d'investigation ne peut cependant pas nous informer complètement sur le comportement physiologique d'une cellule qui reçoit normalement ses informations *via* des synapses. Toute la partie de la physiologie de la cellule qui dépend du fonctionnement synaptique nous échappe donc. Comme nous l'avons précisé en introduction, cette technique ne permet pas non plus d'identification précise des conductances impliquées. Seules des études en patch-clamp et en mode voltage imposé pourraient réellement résoudre ce type de questions, alors que les études pharmacologiques comme celles effectuées sur les neurones du noyau latéral restent entrêmement empiriques.

Les méthodes d'analyse L'ensemble de nos méthodes d'analyse a été développé par L.E. Moore, assisté par Erwin Idoux qui a développé les programmes d'analyse. Celles basées sur l'injection de sinusoïdes de courant nous imposent des limites méthodologiques. En effet, cette méthode d'analyse repose sur l'exitence d'une relation linéaire entre la modulation de la

décharge des neurones et la modulation du potentiel membranaire sous-jacent : nous effectuons une analyse fréquentielle (transformée de Fourier, FFT) des variations de potentiel enregistrées au cours des sinusoïdes et extrayons de cette analyse la composante principale qui correspond à la fréquence de stimulation sinusoïdale. Une transformation inverse de cette composante principale nous fournit la variation du potentiel membranaire sous-jacent. Cette relation n'est cependant effectivement linéaire que pour des modulations d'amplitude modérées, d'environ une dizaine de millivolts pic à pic au maximum. Nous avons vu en introduction que le fonctionnement du système vestibulaire diffère selon que l'on considère des stimuli de plus ou moins forte amplitude et de plus ou moins haute fréquence. Le fait de limiter nos stimuli à des variations de potentiel relativement faibles limite donc notre exploration de l'implication des neurones de type A et de type B dans la voie phasique, non-linéaire, de traitement des informations vestibulaires.

B. Les propriétés intrinsèques dans le cadre de la compensation vestibulaire

Quels enseignements tirons-nous de nos études concernant la plasticité à long terme des propriétés membranaires intrinsèques ? Ceux-ci sont de deux types : une partie porte sur la plasticité neuronale, et se généralise potentiellement à l'ensemble du système nerveux central. L'autre partie concerne spécifiquement la fonction vestibulaire et la place des propriétés membranaires intrinsèques dans la physiologie du système.

B.1 La labyrinthectomie unilatérale : un modèle complexe de plasticité post-lésionnelle

Afin d'interpréter les résultats de nos travaux concernant les propriétés des neurones ipsi et contralatéraux à la labyrinthectomie, il semble utile de repréciser dans quel cadre ces travaux s'insèrent. La labyrinthectomie unilatérale consiste en une déafférentation fonctionnelle : elle supprime définitivement l'activité des afférences vestibulaires sensorielles, privant ainsi les neurones vestibulaires secondaires de leur principale source excitatrice, mais ne provoque pas de dégénérescence immédiate du nerf, le corps cellulaire des neurones sensoriels étant préservé dans le ganglion de Scarpa (Jensen 1983; Sirkin et col. 1984). Cette lésion affecte surtout les neurones ipsilatéraux à la lésion. L'ensemble des cellules se retrouve cependant dans un environnement fonctionnel différent : l'équilibre normal entre l'activité des noyaux ipsi et contralatéraux est perturbé pendant au moins 5 à 7 jours (Ris et col. 1997a); le comportement moteur de l'animal est modifié au cours de cette période, et à plus long terme, les signaux issus des afférences non vestibulaires sont également modifiés (*voir introduction C.III.2.1*). Au final, on peut considérer que même après un mois de compensation vestibulaire l'activité globale des réseaux incluant les noyaux vestibulaires ne correspond plus à l'état pré-lésionnel. Je propose donc d'interpréter les résultats obtenus sur les neurones ipsi et contralatéraux en considérant que nous comparons :

1. D'une part des neurones qui ont subi une perte massive de leurs entrées excitatrices et une réorganisation globale de l'activité des réseaux qui les contactent (neurones déafférentés, du côté ipsilatéral)

2. D'autre part des neurones n'ayant pas subi directement de déafférentation, mais dont l'environnement fonctionnel est perturbé et qui font donc face à des changements issus d'une redistribution de l'activité.

En résumé, je conçois donc le côté ipsilatéral à la lésion comme étant essentiellement un modèle de déafférentation fonctionnelle, et le côté contralatéral à la lésion comme un modèle de plasticité activité-dépendante.

B.2 La compensation vestibulaire comme phénomène d'homéostasie et de plasticité activité dépendante

La plasticité homéostatique regroupe l'ensemble des mécanismes impliqués dans le maintien des neurones à un niveau d'activité de décharge et d'excitabilité adéquat (Turrigiano 1999), que celle-ci repose sur une modulation de la force des connections synaptiques excitatrices et inhibitrices ou sur une régulation de l'activité intrinsèque de chaque neurone (*voir Desai 2003 pour une revue récente*). A l'origine, l'hypothèse de l'existence de ce type de plasticité vient de l'idée qu'il pourrait être nécessaire pour un neurone de contrebalancer la plasticité « Hebbienne » (décrite comme participant aux phénomènes d'apprentissage et de mémoire et impliquant les synapses), en stabilisant le niveau d'activité : la plasticité homéostatique constituerait les « bornes » limitant en quelque sorte les changements « acceptables » pour la cellule (Turrigiano et Nelson 2000).

Bien sûr, c'est au niveau synaptique que les premières démonstrations de l'existence d'une plasticité homéostatique ont été effectuées, principalement par le groupe de Turrigiano, à Boston. Sur des cultures de cellules corticales (Turrigiano et col. 1998), cette équipe a montré qu'une modification pharmacologique d'activité par application dans le bain de TTX, qui bloque les conductances sodiques, ou de bicuculline, qui bloque les récepteurs de type $GABA_A$, provoquait un ajustement de la force des synapses (« scaling synaptique »). Cette augmentation de l'efficacité des synapses repose sur un changement du nombre de récepteurs canaux et non sur des modifications de l'efficacité de chaque récepteur. Ce phénomène requiert un minimum de plusieurs heures d'application des agents pharmacologiques avant

que les premiers effets ne soient mesurables. Il est également global et homothétique (affecte toutes les synapses des cellules considérées de la même manière, Turrigiano 1999), ce qui suggère que le poids synaptique total reçu par la cellule constitue la donnée critique régulée (revue dans Desai 2003). Des résultats similaires ont été trouvés sur des cultures de neurones médullaires (O'Brien et col. 1998), ainsi que sur des neurones corticaux *in vivo* (Desai et col. 2002).

Parallèlement à ces études concernant les synapses, un champ croissant de recherches s'intéresse aux modifications des propriétés intrinsèques des neurones, c'est-à-dire aux conductances impliquées dans l'activité neuronale et qui ne dépendent pas directement des synapses. De nombreuses études ont montré que ces propriétés intrinsèques sont sensibles à l'activité électrique de la cellule (Armano et col. 2000; Franklin et col. 1992; Li et col. 1996; Marder et col. 1996; Turrigiano et col. 1994). Des changements des propriétés intrinsèques ont été associés à des changements de l'excitabilité neuronale (Desai et col. 1999), de l'intégration synaptique (modélisation dans LeMasson et col. 1993; Storm 1988), du mode de décharge et de la fréquence de décharge des cellules (Turrigiano et col. 1995). Desai et col. ont montré en 1999 sur une préparation de neurones pyramidaux du cortex visuel *in vitro* qu'un blocage de leur activité augmentait leurs courants sodiques d'un tiers et diminuait d'autant les courants potassiques persistants, alors que les courants calciques et potassiques transitoires restaient relativement inchangés. Ces changements reposent plus sur des variations du nombre de ces canaux que de leur cinétique de réponse ou de leur sensibilité au voltage. Contrairement aux résultats concernant les synapses, il semble donc que chaque conductance puisse être régulée de manière autonome. Ces résultats viennent confirmer ceux obtenus par le groupe de Marder, à Boston, sur le ganglion stomatogastrique de crustacé (Golowasch et col. 1999; Turrigiano et col. 1994; Turrigiano et col. 1995). Cette équipe a étudié la variation de densité de trois types de conductances potassiques (I_{KCa} ; I_A ; I_{Kd}) en réponse à des modes d'activation consistant en des sauts de courant dépolarisants ou hyperpolarisants, qui miment l'activité synaptique reçue par ces cellules. Ce protocole de stimulation maintenu plusieurs heures avait des effets sur le courant I_A , mais pas sur les autres conductances.

Notre modèle de privation d'activité est plus complexe, car les neurones vestibulaires reçoivent de nombreuses afférences inhibitrices et excitatrices, et la lésion ne supprime qu'une partie de ces dernières. Cependant l'ensemble de ces résultats suggère que des

modifications des conductances impliquées dans l'activité intrinsèque des neurones pourraient contribuer à ramener les neurones à des niveaux d'activité et d'excitabilité normaux. Nous avons déjà évoqué le fait que la compensation vestibulaire correspond justement à la récupération par les neurones déafférentés d'une activité dont la labyrinthectomie les a privés. Nous avons également évoqué les changements synaptiques qui participent à ce retour d'activité au cours de la première semaine de compensation. Quels sont, parmi nos résultats concernant les neurones ipsilatéraux à la lésion, ceux qui pourraient correspondre à des changements homéostatiques des propriétés intrinsèques ?

Parmi les résultats concernant aussi bien les neurones de type A que de type B, certains pourraient relever de ce type de plasticité : tout d'abord, après un mois de compensation, les neurones ipsilatéraux à la lésion présentaient une dépolarisation de 6 à 10 mV comparé à la normale. Cette dépolarisation est observée aussi bien sur le potentiel membranaire moyen enregistré au repos que sur le seuil de déclenchement des potentiels d'action. Ces changements des conductances actives exprimées par les neurones pourraient compenser la perte des afférences excitatrices vestibulaires. Ces modifications pourraient donc contribuer à ramener les neurones à un niveau de potentiel de repos correspondant à celui qu'ils avaient lorsqu'ils recevaient encore les entrées vestibulaires excitatrices. Cette dépolarisation avait déjà été observée sur des tranches de tronc cérébral de rat par le groupe de Dutia après 2 à 3 jours et 7 à 11 jours de compensation (Him et Dutia 2001). A ces stades de compensation cependant, la dépolarisation ne concernait que les neurones de type B de la partie rostrale du NVM et ne faisait que 2 à 4 mV, ce qui suggère que ce phénomène d'homéostasie du potentiel membranaire pourrait commencer dès les premiers jours suivant la déafférentation et se développer lentement, participant ainsi dès le départ à la récupération progressive d'une décharge de repos normale.

Un autre changement que nous avons mis en évidence est une augmentation de sensibilité de la décharge des neurones déafférentés à l'injection de courant ($\Delta FI/\Delta I$). Cette augmentation d'excitabilité en réponse à une perte d'afférences excitatrices a été trouvée sur d'autres modèles et dans d'autres structures. Dupont et col (2003) ont retrouvé ce type de résultat dans le cortex de rats après 14 jours d'une privation sensorielle consistant à soulever du sol les pattes arrières de rats, ce qui supprime les sensations cutanées. Dykes et Lamour (Dykes et Lamour 1988; Lamour et Dykes 1988) ont rapporté une hausse d'excitabilité des neurones corticaux après déafférentation partielle par section et ligature du nerf sciatique.

Desai et col. en 1999 ont démontré sur cultures neurales un effet similaire consistant en une hausse de l'excitabilité des cellules après 48 heures de privation pharmacologique d'activité (application de TTX dans le bain). Globalement, ces résultats évoquent également ceux correspondant à des hypersensibilités de dénervation, bien connues au niveau spinal et au niveau de la jonction neuromusculaire, et impliquées dans les douleurs neuropathiques chroniques (Zimmermann 2001).

Il est important de noter à ce stade que cette hausse d'excitabilité des neurones déafférentés se rapporte à la sensibilité de leur décharge de potentiels d'action à l'injection de courant ($\Delta FI/\Delta I$), alors que la sensibilité de leur décharge à des changements de potentiels ($\Delta FI/\Delta V$) est peu modifiée. Au contraire les changements d'excitabilité des neurones contralatéraux à la lésion, également provoqués par des changements des conductances intrinsèques de ces neurones, reposent principalement sur une augmentation de leur $\Delta FI/\Delta V$. Cela signifie qu'une variation donnée de potentiel va provoquer une hausse de leur décharge supérieure à celle observée en situation contrôle. Comme nous l'avons évoqué, ces cellules situées du côté contralatéral n'ont pas subi directement de déafférentation, mais leur environnement fonctionnel est perturbé. Les changements de leurs propriétés intrinsèques correspondent donc à une plasticité dépendante de l'activité.

B.3 Les neurones de type B face à la perte des afférences vestibulaires

Nous avons observé après un mois de compensation vestibulaire un changement dans les proportions des neurones de type A et de type B du MVN, et ce aussi bien du côté ipsilatéral que du côté contralatéral à la lésion. Que traduisent ces changements ?

Les propriétés des neurones situés du côté déafférenté évoluent vers des propriétés de neurones de type A. On observe en effet une augmentation de la taille de leur post-hyperpolarisation ainsi qu'une diminution de leur double AHP. Je propose que ces changements consistent en une sorte de dédifférenciation, plus marquée pour les neurones de type B car l'expression des conductances qui leur sont propres serait particulièrement dépendante de l'activité des afférences vestibulaires. En effet, nous avons déjà vu qu'au cours du développement du rat et de la souris, les propriétés des neurones de type B se développent plus lentement que celles des neurones de type A (Dutia et Johnston 1998), suggérant que ces

propriétés pourraient dépendre particulièrement de l'activité des afférences vestibulaires sensorielles.

Une autre préparation apporte des arguments en faveur de cette hypothèse : le groupe de Godaux (Genlain et col. 2003), en Belgique, a réalisé une culture primaire de tranches de tronc cérébral issues de rats nouveau-nés. Ils ont observé à l'aide d'enregistrements intracellulaires l'évolution des propriétés électrophysiologiques des neurones vestibulaires. Ils ont identifié les neurones en fonction de leurs modes de décharges en réponse à des sauts de courant. Dans ces conditions expérimentales, les neurones présentent des patrons de décharges toniques (type A) et phasiques (type B) comparables à ceux que nous avons observés chez la grenouille. Leurs résultats montrent que le nombre de neurones phasiques décroît au cours du temps, et que ce mode de décharge n'est plus retrouvé 4 semaines après la mise en culture, alors que les neurones présentant des décharges toniques sont toujours présents. Aucune double AHP n'a été observée au cours de cette expérience, ce qui suggère que l'activité des afférences vestibulaires serait nécessaire à l'expression des canaux responsables de la double AHP aussi bien que des autres propriétés caractéristiques des neurones de type B. Leur étude a également montré une hausse de l'excitabilité des neurones au cours des semaines suivant la mise en culture, ce qui rejoint les résultats présentés dans le paragraphe précédent concernant les modèles de déafférentation.

Enfin, nous disposons au laboratoire d'une souche de souris mutantes ISK-/- (génétiquement modifiées), souris dites "valseuses" du fait de leur comportement moteur. Celles-ci souffrent d'une dégénérescence des organes vestibulaires périphériques au cours des premiers jours post-natals, dégénérescence liée à la mutation d'un canal potassique codé par le gène Kcne1 et qui conduit à un comportement locomoteur pathologique chez l'adulte (Vetter et col. 1996). Ces souris ne présentent pas d'anormalies du système nerveux central, car le canal potassique modifié n'y est pas exprimé. Les études préliminaires menées *in vitro* montrent que les neurones de type A seraient fortement majoritaires chez ces animaux (communication personnelle de D. Eugène).

Les neurones de type B contralatéraux à la lésion présentent une évolution « symétrique » par rapport aux cellules de type B situées du côté lésé : le nombre de neurones de type B augmente, et représente environ 75% des neurones contralatéraux après un mois de compensation. Leur double AHP est plus marquée, et le nombre de neurones qui présentent une double AHP augmente également. Dans le cadre de cette discussion concernant le lien

unissant les afférences vestibulaires et les propriétés intrinsèques des neurones de type B, ce résultat conduit à l'interprétation suivante : l'activité des afférences vestibulaires restantes, qui prend une importance fonctionnelle prépondérante suite à la labyrinthectomie contralatérale, pourrait 1) exacerber l'expression des conductances intrinsèques caractéristiques des neurones phasiques, et 2) « transformer » en neurones de type B les neurones vestibulaires qui présentaient les propriétés les plus intermédiaires. Nous avons discuté ce changement de proportion et la « théorie du continuum » dans l'article correspondant (Beraneck et col. 2004). En résumé, ce changement pourrait tenir en partie à notre méthode de classification des neurones, mais traduit sans aucun doute l'évolution globale des propriétés intrinsèques des neurones situés du côté contralatéral à la lésion vers des propriétés plus phasiques.

Finalement, il semble que les propriétés caractéristiques des neurones de type B soient particulièrement dépendantes de l'activité des afférences vestibulaires sensorielles. L'apparition de ces conductances spécifiques aussi bien que leur maintenance pourrait reposer sur un mode d'activité propre aux afférences, ou à une partie des afférences vestibulaires. *Nous discuterons plus avant ce point au chapitre B5*.

B.4 Hypothèses concernant les mécanismes cellulaires à l'origine des changements des propriétés intrinsèques

Quels sont les mécanismes cellulaires à l'origine de ces changements des propriétés intrinsèques ? Les expériences que nous avons réalisées n'apportent aucune réponse directe à cette question. Nous allons cependant proposer quelques pistes permettant d'aborder cette problématique.

Activité et changements à court terme : L'ensemble des études portant sur les propriétés intrinsèques des neurones tend à démontrer que, comme nous venons de le discuter, l'activité joue un rôle dans ces changements. Celle-ci pourrait avoir des effets sur chaque cellule, par des mécanismes de régulation internes aux neurones qui dépendraient de voies métaboliques : les changements d'activité conduiraient à des modifications de la régulation de voies métaboliques et de synthèse, et donc à une régulation de l'expression des molécules et protéines susceptibles de modifier le niveau normal d'activité de la cellule. Pour des raisons expérimentales, les modèles utilisés dans l'étude des changements d'activité sur

les propriétés intrinsèques sont le plus souvent utilisés sur des échelles de temps relativement courtes (de l'ordre de quelques heures à quelques jours) par rapport aux études que nous avons effectuées. Le groupe de Du Lac (Nelson et col. 2003), du Salk Institute en Californie, a récemment mis en évidence ce type de plasticité intrinsèque à court terme dans les neurones du noyau vestibulaire médian sur des tranches de tronc cérébral de souris. Leur étude montre qu'une hyperpolarisation soutenue des neurones, que ce soit par stimulation des voies synaptiques inhibitrices ou par injection intracellulaire de courants hyperpolarisants, provoque des changements intrinsèques qui persistent pendant au moins 60 minutes (durée maximale testée) comme une diminution de la taille de l'AHP ou encore une augmentation de l'excitabilité des cellules. Ces changements semblent dus à une diminution du calcium intracellulaire influençant des conductances potassiques calcium-dépendantes de type BK. Des résultats comparables ont été trouvés dans d'autres structures, comme par exemple dans le cervelet par le groupe de Linden (Aizenman et Linden 2000), ou encore dans le cortex enthorinal (Egorov et col. 2002). Toutes ces études ont démontré par occlusion le rôle du calcium (l'utilisation d'un chélateur du calcium supprime l'effet) dans ces processus à court terme. L'ensemble des résultats (voir également Armano et col. 2000; Sourdet et col. 2003; revue dans Zhang et Linden 2003) montre que ce genre de changements peut être induit aussi bien par injection de courants que par des stimulations synaptiques excitatrices ou inhibitrices, et implique le calcium et les conductances potassiques calcium-dépendantes (et plus particulièrement les canaux de types BK et SK). La régulation de cascades de phosphorylations qui mettent en jeu des kinases (calmodulin-kinase, PKC, *voir partie C.III.4 de l'introduction*) pourrait conduire à des modifications de la phosphorylation, et donc à la régulation, des protéines constituant les canaux.

Changements à long terme et synthèse protéique Ces changements à court terme, dépendants de l'activité, sont probablement impliqués dans la phase précoce de la compensation vestibulaire. Nos expériences portent cependant sur des changements à plus long terme. Après un mois de compensation, d'autres mécanismes pourraient entrer en jeu, parmi lesquels des régulations des synthèses protéiques conduisant à la sous-expression ou à la surexpression de canaux ioniques exprimés par les neurones (nous avons en effet vu que les régulations concerneraient la quantité de canaux exprimés plutôt que des changements de la cinétique ou de la sensibilité au voltage des canaux, *voir partie B2 de cette discussion*). Deux études sur les neurones vestibulaires ont étudié l'expression protéique au sein des noyaux vestibulaires après quelques jours de compensation : Ris et col (1998) ont montré que

l'utilisation d'un inhibiteur de la synthèse protéique, la cycloheximide, ne retardait pas la récupération de l'activité des neurones du noyau vestibulaire médian au cours des premiers jours de compensation. La synthèse de nouvelles protéines ne semble donc pas nécessaire pour la phase initiale de la restauration de l'activité spontanée des neurones déafférentés. Le même groupe (Ris et col. 1999b) a également réalisé une étude du protéome des noyaux vestibulaires centraux prélevés sur des cobayes après une semaine de compensation vestibulaire. Ils ont pu mettre en évidence la surexpression de 3 protéines au sein des noyaux ipsilatéraux à la lésion, mais pas dans les noyaux situés du côté contralatéral à la lésion à ce stade de compensation. Ces résultats ne sont pas surprenants, il a en effet été démontré sur d'autres systèmes que la synthèse protéique suivait une dynamique temporelle de l'ordre de plusieurs jours ou semaines. En particulier, les travaux sur la mémoire et sur sa consolidation à long terme dans l'hippocampe ont montré que des changements protéiques sont nécessaires à son établissement définitif, ce qui n'est pas le cas à court terme (revues dans Carew 1996; Richter-Levin et Akirav 2003).

Les mécanismes de régulation de l'activité du réseau : l'hypothèse gliale. Nous avons vu que des mécanismes de plasticité homéostatique ou de plasticité activité-dépendante propres à chaque neurone pourraient expliquer les modifications des propriétés intrinsèques que nous avons observées. Une autre possibilité, non exclusive, est que ce soit l'activité globale du réseau de neurone qui constitue le facteur régulé et conduise à des changements affectant l'ensemble des neurones. Les résultats de Turigiano et col. (1994) sur le ganglion stomatogastrique de homard, ainsi que ceux de Galante et col. (2001) sur des tranches organotypiques de neurones spinaux suggèrent que les changements intrinsèques tendent à ramener les réseaux de neurones vers un mode de décharge normal, rythmique dans le cas de ces structures, et que la décharge individuelle de chaque neurone n'est pas nécessairement régulée dans le détail. Parmi les changements que nous avons observés, certains concernaient aussi bien les neurones de type A que de type B, notamment du côté ipsilatéral à la lésion. Ceci pourrait laisser penser que des mécanismes réguleraient de manière globale l'ensemble de l'activité des neurones inclus dans le réseau vestibulaire. A ce titre, la réaction astrocytaire, et de manière générale les interactions neurones-glie, constituent un candidat plausible. Comme nous l'avons évoqué, la glie est sensible à l'activité neuronale, elle réagirait notamment à la chute d'activité observée du côté ipsilatéral. Nous avons déjà évoqué le fait qu'une vague calcique se propageant à travers le réseau astrocytaire est capable d'induire une importante élévation de la concentration cytosolique de calcium dans des neurones situés à

distance, ce qui pourrait être à l'origine de phosphorylations et de régulations géniques (Curtis et Finkbeiner 1999). La propagation de vagues calciques au travers du réseau glial dans les noyaux vestibulaires pourrait représenter un mécanisme de signalisation extra-neuronale influençant l'excitabilité des neurones vestibulaires déafférentés après labyrinthectomie (Newman et Zahs 1997; Verkhratsky et col. 1998). Le calcium extracellulaire pourrait agir sur le devenir des neurones *via* différentes voies de signalisations conduisant à des régulations nucléaires : des voies d'activation comme celles de la CaM kinase ou la voie Ras/ERK (Hetman et Gozdz 2004) qui conduisent toutes deux à l'activation du facteur de transcription nucléaire CREB (pour cyclic AMP response element binding protein) constituent des candidats sérieux (revue dans Curtis et Finkbeiner 1999). Un autre mécanisme moléculaire qui permettrait aux cellules gliales d'influencer le devenir neuronal repose sur les neurotrophines tels que le BDNF ou la neurotrophine NT-3. Les neurotrophines pourraient constituer des acteurs moléculaires important aussi bien pour la régulation de l'activité synaptique (Lim et col. 2003) que pour l'homéostasie propre des neurones par des voies d'activation semblables à celles décrites pour le calcium. Les cellules gliales pourraient ainsi agir comme un chef d'orchestre orientant le devenir de l'ensemble des neurones déafférentés, provoquant une réaction neurale globale au sein des noyaux vestibulaires.

B.5 Rôle des changements de propriétés intrinsèques dans la compensation vestibulaire

Quelle est la part prise par les changements des propriétés intrinsèques dans la récupération des troubles induits par la labyrinthectomie unilatérale ? Comme nous l'avons précisé en introduction, la compensation vestibulaire consiste en un ensemble de processus cellulaires et comportementaux déclenchés par la labyrinthectomie unilatérale. Parmi les évènements déclenchés par la lésion, certains vont se révéler bénéfiques d'un point de vue comportemental, alors que d'autres pourraient à l'inverse constituer un obstacle à une récupération complète.

Du côté ipsilatéral à la lésion Parmi les changements observés du côté lésé, ceux qui apparaissent bénéfiques concernent la récupération statique d'une activité spontanée, alors que les changements propices à la récupération dynamique semblent plus rares. L'augmentation de sensibilité au courant, observée sur ces cellules ipsilatérales à la lésion, ressemble à une hypersensibilité de dénervation. Il est possible que cette réaction cellulaire

conduise à une plus grande sensibilité des neurones aux afférences restantes et sous-tende une partie de la récupération dynamique observée au cours du premier mois post-lésionnel. Mais parmi les changements des propriétés intrinsèques observés, le principal bénéfice en terme de comportement vient sans aucun doute de ceux favorisant à long terme le maintien d'un équilibre de repos entre les décharges de repos des noyaux ipsi et contralatéraux à la lésion. Parmi ceux-ci, les dépolarisations du potentiel membranaire de repos et du seuil de déclenchement du potentiel d'action, dont nous avons déjà discutées, pourraient se révéler importantes. Il convient de noter cependant que la récupération de cet équilibre n'est pas en elle-même dépendante des propriétés intrinsèques des neurones, puisque celle-ci est achevée à la fin de la première semaine de compensation, alors que les changements des propriétés membranaires intrinsèques ne sont pas encore très développés. Les changements plus tardifs pourraient cependant être liés à la récupération partielle concomitante des réflexes dynamiques de stabilisation du regard et de la posture. Cette « seconde vague » de changements pourrait par exemple libérer d'autres propriétés du système, comme cela a été postulé par Vibert et col. (1999b) dans le cadre de la « top-down hypothesis ». Concrètement, la part grandissante au cours du temps des propriétés intrinsèques dans le maintien de la tonicité du système pourrait « soulager » de cette fonction d'autres acteurs de la récupération, comme par exemple les synapses. Ce type de stratégie pourrait être très général, et utilisé par le SNC dans de nombreux autres cas de déafférentation, voire au cours des phénomènes d'adaptation ou d'apprentissage. La perte des caractéristiques spécifiques des neurones de type B, correspondant à une dédifférenciation, signifie que le côté lésé perd ses aptitudes les plus phasiques. A la perte des organes périphériques (les organes vestibulaires) s'ajoute ainsi la perte des capacités des neurones centraux à répondre à des signaux phasiques, ce qui rendrait impossible dans certaines gammes d'amplitudes et de fréquences la substitution des afférences sensorielles vestibulaires ipsilatérales par les signaux issus du côté contralatéral ou par les autres modalités sensorielles restées intactes.

Du côté contralatéral à la lésion Contrairement au côté déafférenté, il est probable que l'ensemble des changements observés du côté contralatéral tende à améliorer son efficacité dans le contexte post-lésionnel. Il faut également noter que ces changements, qui pourraient découler de mécanismes de plasticité dépendants de l'activité, suivent une cinétique différente de celle observée du côté ipsilatéral. Nous ne disposons malheureusement pas pour ces neurones d'études équivalentes à celles que les groupes de Dutia et de Godaux ont réalisées du côté ipsilatéral après une semaine de compensation. L'évolution des propriétés

intrinsèques des neurones contralatéraux au cours des semaines qui précédent notre étude nous échappe donc largement. Les données obtenues en extracellulaire par Vibert et col. (1999b) montrent cependant que l'activité de repos enregistrée sur tranches du côté contralatéral ne décroît significativement que entre la fin de la première semaine et la fin du premier mois, alors que des changements de l'activité des neurones ipsilatéraux à la lésion étaient détectés dès la fin de la première semaine. En accord avec cette étude, nous avons également trouvé après un mois de compensation une activité plus faible du côté contralatéral, qui se traduit par la présence de nombreuses cellules silencieuses. Une partie du rééquilibrage entre les décharges des noyaux ipsi et contralatéraux à la lésion pourrait être due à ces diminutions d'activité spontanée du côté contralatéral. Parmi les changements les plus propices à une récupération comportementale, l'augmentation de la sensibilité de la décharge des neurones aux variations de potentiel semble également un bon candidat. Ce changement, qui pourrait provoquer une hausse de la sensibilité des neurones vestibulaires aux entrées sensorielles venues du labyrinthe intact, pourrait permettre au système de fonctionner plus efficacement malgré la perte du labyrinthe opposé. Le développement des propriétés intrinsèques propres aux neurones de type B conduirait à un renforcement global des propriétés phasiques, non linéaires, du système contralatéral qui compenserait partiellement la perte des informations vestibulaires supprimées par la lésion.

En résumé, l'évolution observée du côté lésé favorisait fonctionnellement la récupération d'une décharge de repos stable et proche de la normale, participant ainsi au rétablissement de l'équilibre du système, alors que les changements du côté contralatéral rendraient plus efficace la modulation de ce nouvel équilibre par les signaux issus du labyrinthe intact.

Implications des composantes linéaires et non linéaires dans la compensation vestibulaire. Comme nous l'avons vu en introduction, les travaux comportementaux de Minor et col. (1999) chez le singe d'une part, et du groupe de Broussard chez le chat d'autre part (1999b), ont confirmé que les variations de gain et de phase du réflexe vestibulo-oculaire horizontal en fonction de la fréquence et de l'amplitude des stimulations pouvaient s'expliquer par la superposition de deux composantes. La composante dite linéaire du réflexe aurait un gain constant à toutes les fréquences pour des amplitudes de stimulation relativement faibles (vitesse maximale de la tête < 20°/s). L'autre composante, dite non-linéaire, serait responsable de l'augmentation du gain observée aux hautes fréquences pour les amplitudes de stimulation

les plus élevées, et permettrait également les réponses de très courte latence induites par des échelons de vitesse. Ces composantes observées *in vivo* sont sans doute issues de la combinaison des propriétés des afférences vestibulaires et des propriétés propres des neurones vestibulaires centraux (Lasker et col. 2000).

Cette approche était déja renforcée d'un point de vue physiologique par les études effectuées chez le singe qui ont montré que le gain des afférences vestibulaires régulières reste constant quelle que soit la fréquence des stimulations vestibulaires (réponses linéaires), alors que les afférences sensorielles vestibulaires irrégulières voient leur gain augmenter avec la fréquence (réponses non-linéaires) (Lysakowski et col. 1995). Cette ségrégation en composantes linéaires et non-linéaires a été également suggérée par Ris et col. (2001b) à propos des neurones vestibulaires médians: en réponse à des injections de courant sinusoïdal, le gain des neurones de type A enregistrés sur tranches ne dépendrait que peu de la fréquence de stimulation (réponses linéaires). En revanche, le gain des neurones de type B tendrait à augmenter avec la fréquence de stimulation (réponses non-linéaires). De plus, seuls les neurones de type B pourraient se comporter en " détecteurs de signaux " lorsque les stimulations dépassent la fréquence maximale de modulation de leur activité spontanée. Il est donc possible, tant au niveau des afférences vestibulaires que des neurones vestibulaires centraux, de postuler une ségrégation des réponses en composantes linéaires/ non-linéaires.

Les expériences menées dans le cadre de la compensation vestibulaire *in vivo* chez le cobaye (Gilchrist et col. 1998; Vibert et col. 1993) ont montré que la labyrinthectomie unilatérale provoque une diminution bilatérale (pour des mouvements de la tête dirigés vers ou à l'opposé du côté de la lésion) du gain du RVO. Au cours des semaines suivants la lésion, il y a une récupération de ce gain, notamment pour les rotations dirigées vers le côté contralatéral. Cette récupération asymétrique des réponses vestibulo-oculaires a également été observée chez le singe (Lasker et col. 2000), le chat (Broussard et col. 1999a; Broussard et col. 1999b), ou l'homme (Galiana et col. 2001). Il faut noter à ce stade que cette asymétrie persistante dépend largement des caractéristiques des stimuli utilisés dans ces études. Celle-ci est révélée plus facilement par des échelons brefs que par des mouvements sinusoïdaux (Gilchrist et col. 1998), et elle est, chez toutes ces espèces, d'autant plus importante que les accélérations, vitesses, et fréquences testées augmentent.

Nos résultats confirment largement l'asymétrie observée *in vivo*. A la perte unilatérale des informations vestibulaires s'ajoute une asymétrie des propriétés intrinsèques des neurones

vestibulaires centraux qui évoluent vers des qualités propres aux neurones de type A du côté de la lésion, et vers des propriétés de neurones de type B du côté contralatéral. Il est intéressant de noter que l'équipe de Broussard (1999b), afin de simuler les résultats obtenus après occlusion canalaire, a dû faire appel à une composante non-linéaire des propriétés des neurones centraux (en aval du système commissural). De la même manière, l'équipe de Minor (Lasker et col. 2000) a pu modéliser les résultats obtenus *in vivo* pour des rotations contralatérales à la lésion à l'aide d'un développement de la composante non-linéaire du système (des afférences et/ou des neurones centraux dans leur modèle). Ces travaux de modélisation issus de données obtenues *in vivo* sont parfaitement en accord avec nos résultats obtenus du côté contralatéral où les propriétés des neurones de type B deviennent prépondérantes. La mise en perspective de nos résultats et de ceux de ces groupes nous permet donc de penser que 1) la proposition du L.N.R.S de considérer les neurones de type B comme la composante phasique, non-linéaire du système est pertinente et que 2) la convergence des résultats issus des expériences *in vivo*, de la modélisation, et des expériences *in vitro* constitue un encouragement pour l'ensemble de ces groupes, confirmant l'intérêt d'une approche intégrative de la fonction vestibulaire.

C. Avancées concernant la physiologie du système vestibulaire

Les expériences menées au cours de mon travail de thèse avaient entre autres pour but d'étudier la façon dont l'information vestibulaire est traitée par les neurones vestibulaires secondaires. Quelle est, du point de vue des propriétés intrinsèques des neurones vestibulaires centraux, l'organisation du système vestibulaire ?

C1. Concepts de voies de traitement des informations sensorielles

Une caractéristique de l'organisation de certaines voies sensorielles issues directement des organes récepteurs est l'existence d'une correspondance topique, c'est à dire point par point, entre les récepteurs périphériques et leurs aires de projections dans le système nerveux central. Ceci vaut par exemple pour la somesthésie et la vision, c'est à dire pour des récepteurs à extension spatiale (surface du corps/somatotopie ; rétine/rétinotopie), et de manière comparable, pour l'audition (cochlée/tonotopie). Comme nous l'avons vu en introduction, la connectivité propre au système vestibulaire rend difficile l'étude d'une "vestibulotopie", les informations issues des différents organes vestibulaires étant largement redistribuées dans les noyaux vestibulaires centraux. La question se pose donc de savoir quel type d'organisation sous-tend la mise en place et le fonctionnement du système vestibulaire.

Parmi les organisations possibles, celle de "voies parallèles" a été appliquée au système vestibulaire. Schématiquement, l'existence de voies parallèles sous-entend que, comme dans la vision, les informations ségrégées au niveau périphérique vont suivre des canaux de traitement essentiellement distincts tout au long de la chaîne neuronale conduisant au système nerveux central. Dans une revue datée de 1998, Peterson (1998) a tenté d'appliquer ce concept aux afférences vestibulaires en transposant les caractéristiques utilisées dans d'autres systèmes sensoriels. Parmi les 4 critères retenus comme nécessaires, seuls 2 sont clairement remplis à ce niveau du système : 1) les caractéristiques anatomiques et physiologiques des fibres (comme le diamètre ou la régularité de la décharge par exemple) sont variables. 2) Il existe des covariations entre ces différents paramètres. 3) En revanche, ces paramètres ne

peuvent être associés en groupes hétérogènes clairement distincts (clusters), car chacun apparaît comme un continuum, c'est-à-dire un ensemble contenant un nombre infini de variations entre deux valeurs extrêmes. 4) le rôle physiologique des fibres regroupées à l'aide de ces paramètres dans le traitement des informations n'est pas définitivement établi (Peterson 1998).

La comparaison des propriétés intrinsèques des neurones vestibulaires secondaires étudiés chez le cobaye et la grenouille nous permet d'aborder la problématique de l'organisation des voies de traitement des informations vestibulaires dans les noyaux vestibulaires. Nous allons ouvrir cette discussion avec quelques résultats complémentaires concernant les expériences que nous avons effectuées chez la grenouille ; puis nous tenterons une comparaison fonctionnelle entre les neurones vestibulaires centraux enregistrés chez la grenouille et les Rongeurs. Enfin, à l'aide de ces réflexions, nous concluerons quant à l'organisation des voies de traitement des informations vestibulaires.

C2. Les propriétés intrinsèques dynamiques des neurones vestibulaires de grenouille suggèrent l'existence de voies fréquentielles superposées de traitement des informations dans les noyaux vestibulaires centraux

L'étude que nous avons menée sur les neurones vestibulaires secondaires de grenouille nous a permis d'observer deux populations aux propriétés de décharge distinctes : d'un côté les neurones phasiques, très largement majoritaires, et de l'autre les neurones toniques, moins nombreux. Rappelons cependant que notre technique d'étude par électrophysiologie pourrait comporter un biais dans l'évaluation des proportions respectives de ces groupes de neurones, dont la taille peut influencer la facilité d'enregistrement ; les neurones phasiques pourraient être de taille plus importante que les neurones toniques et donc être plus facile à empaler de manière stable. En plus des caractérisations des propriétés dynamiques des neurones vestibulaires secondaires de grenouille (Straka et col. 2004), nous avons réalisé, toujours sur cette préparation de cerveau entier isolé, une étude des réponses fréquentielles des neurones toniques et phasiques. Nous avons déterminé les réponses des neurones à l'injection intracellulaire de sinusoïdes de courant, en utilisant deux types de stimuli : des sinusoïdes de fréquences discrètes, comme celles que nous utilisons en routine chez le cobaye, et des stimulations de type ZAP, consistant en une sinusoïde de courant dont la fréquence augmente de manière exponentielle de 0 à 100 Hz. Les neurones toniques et les neurones phasiques

présentent des réponses dynamiques totalement différentes : les neurones toniques, en l'absence de potentiels d'action, présentent des réponses de filtre passe-bas, car leur impédance diminue constamment lorsque la fréquence de stimulation augmente. En présence de potentiels d'action, ces propriétés se traduisent par une modulation de l'activité de décharge des neurones toniques pour des fréquences inférieures à 7Hz, puis par un arrêt de la décharge pour des fréquences supérieures. En l'absence de potentiels d'action, les neurones phasiques présentent une résonance pour des fréquences de modulation de 15-20 Hz, qui se traduit en présence de potentiels d'action par une réponse caractéristique d'un filtre passe-bande, avec des potentiels d'action uniques synchronisés avec le stimulus qui apparaissent autour de la fréquence de résonance. (*cf. figures en annexes*).

Ces résultats suggèrent que les propriétés intrinsèques des neurones toniques et phasiques enregistrés chez la grenouille leurs confèrent des rôles en partie séparés dans le traitement fréquentiel des informations d'origine vestibulaire : pour une intensité de stimulation donnée, les neurones toniques pourraient répondre aux fréquences basses ou moyennes par une modulation de leur activité de décharge, mais ne répondraient pas aux hautes fréquences. Au contraire les neurones phasiques ne produiraient de réponses sous forme de potentiels d'action uniques que pour des stimulations centrées autour d'une fréquence préférentielle, relativement élevée et variable d'une cellule à l'autre. Ces cellules phasiques de grenouille fonctionneraient ainsi comme des détecteurs de signaux. Les neurones toniques pourraient être particulièrement adaptés au traitement des informations de basses fréquences (10 Hz), alors que les neurones phasiques seraient sensibles aux fréquences plus élevées.

La notion de voies de traitement parallèles est tentante mais, comme cela était le cas au niveau des afférences vestibulaires sensorielles (Peterson 1998), elle ne peut être rigoureusement appliquée aux neurones vestibulaires centraux de grenouille. L'existence de deux populations de neurones vestibulaires secondaires aux propriétés de réponse dynamique distinctes, mais qui reçoivent les mêmes entrées sensorielles afférentes et se projettent vers les mêmes cibles motrices suggère plutôt que **ces deux groupes de neurones impliqués dans des fonctions vestibulo-motrices communes formeraient des voies complémentaires, partiellement superposées, de traitement fréquentiel des informations vestibulaires.**

C3. Equivalence fonctionnelle et comparaison des neurones vestibulaires de cobaye et de grenouille

Homogénéité des propriétés chez le cobaye. Il n'est pas surprenant que les propriétés électrophysiologiques des neurones vestibulaires enregistrés chez le cobaye et la grenouille diffèrent dans le détail. En revanche, le fait qu'il existe chez la grenouille deux populations de neurones vestibulaires aussi clairement différenciées constitue en soi une surprise. Chez le cobaye comme chez les autres Rongeurs, rappelons que les neurones de type A et de type B, bien qu'ils se distinguent électrophysiologiquement, présentent des propriétés essentiellement comparables. Nous utilisons fréquemment le terme de « continuum », proposé par du Lac et Lisberger en 1995, lorsque nous présentons les propriétés intrinsèques de ces neurones. Ce terme traduit le fait qu'il existe un ensemble de neurones aux propriétés intermédiaires entre celles des types canoniques A et B. L'existence de ce continuum ne fait plus de doutes, notre méthode de classification ayant clairement montré que la séparation complète des neurones vestibulaires en deux classes n'est possible qu'à l'aide de techniques d'analyse quantitative fines. Au cours de la mise au point de cette méthode, nous avons testé l'ensemble des paramètres qui auraient pu nous permettre de distinguer clairement ces deux populations et nous nous sommes toujours heurté à des valeurs qui, à défaut d'être parfaitement continues, se chevauchaient, ce qui interdisait leur utilisation à des fins de classification. Les neurones de Deiters que nous avons enregistrés dans le noyau latéral constituent également une population homogène de neurones, qui ne présentent pas de propriétés intrinsèques très particulières comparées à celles des neurones du noyau vestibulaire médian. L'ensemble de ces cellules présente sur tranche des modes de décharge toniques. En comparaison des neurones de grenouille, la séparation des neurones vestibulaires de cobaye en différentes populations apparaît donc peu évidente au premier abord.

La question se pose donc de savoir si le fait de distinguer des neurones de type A et de type B revêt un caractère physiologique, ou si cela ne correspond qu'à une schématisation analytique. Pour répondre à cette question, comparons les neurones vestibulaires de cobaye et de grenouille : d'un point de vue strictement électrophysiologique, les neurones de type A et B des mammifères correspondent aux neurones toniques de la grenouille, alors que les neurones phasiques ne semblent pas avoir d'équivalent chez les Mammifères (Straka et col. 2004). Ce résultat est en accord avec la plus grande proportion de fibres sensorielles afférentes présentant une forte adaptation de leur décharge pendant des

stimulations continues, à comportement très phasique, observée chez la grenouille par rapport aux mammifères (Lowenstein et Saunders 1975; Precht et col. 1971). Le comportement naturel de la grenouille confirme ces observations, les grenouilles alternant de longues périodes d'immobilité, avec des périodes discontinues de mouvements rapides et brefs lors de la capture d'une proie ou d'une réaction de fuite (Dieringer et Precht 1986; Schneider 1954). Les qualités requises pour les neurones vestibulaires des grenouilles par rapport à celles requises chez les Mammifères sont donc différentes.

Cependant, au sein de chaque système analysé individuellement, nous retrouvons la même distinction fonctionnelle entre les neurones toniques à réponses plutôt linéaires (types A chez les Rongeurs) et les neurones phasiques pourvus de non-linéarités importantes (types B chez les Rongeurs). L'exemple de la grenouille ne représente finalement qu'une exacerbation de cette dichotomie qui caractérise le fonctionnement du système vestibulaire. Les différences des propriétés intrinsèques des neurones des réseaux vestibulo-moteurs entre la grenouille et les mammifères reflèteraient ainsi plus des adaptations éco-physiologiques, liées aux stratégies de mouvement spécifiques de chaque espèce, que des différences phylogénétiques fondamentales. Je pense donc que **la distinction des neurones de type A, comme composante tonique du système, et type B en tant que composante phasique, constitue une nécessité correspondant au cadre fonctionnel du système vestibulaire.** Il faut également noter que le fait de distinguer ces types cellulaires nous apporte un niveau d'analyse supplémentaire, puisque nous regroupons les neurones vestibulaires en un seul groupe lorsque le paramètre étudié n'est pas statistiquement différent.

Finalement notre approche, cherchant à mettre en évidence les différences de propriétés dynamiques intrinsèques des neurones, est physiologiquement pertinente car elle correspond au moins partiellement à une organisation du système vestibulaire en voies de traitements fréquentielles des informations sensorielles. Ces voies de traitement que d'autres ont qualifiées de linéaires et non-linéaires sont constituées de structures essentiellement identiques (elles reposent sur les mêmes capteurs périphériques, les mêmes noyaux centraux, et les mêmes noyaux moteurs) et impliqués dans des fonctions communes (les fonctions de stabilisation du regard et de la posture). **Il existe cependant à chaque niveau de traitement des informations vestibulaires des superpositions et des convergences qui interdisent de considérer ces voies comme étant des canaux parallèles.** Je voudrais souligner enfin que cette organisation de traitement de l'information en voies fréquentielles partiellement

superposées a été proposée par de nombreux auteurs par le passé (Baker et col. 1981; Godaux et col. 1983; Lisberger et col. 1983), et que les expériences que notre groupe a réalisées au cours des 5 dernières années semblent confirmer ce mode d'organisation au niveau des propriétés intrinsèques des neurones vestibulaires centraux.

D. Les propriétés intrinsèques au sein du système nerveux central

Nous allons maintenant nous intéresser à quelques principes généraux des propriétés membranaires intrinsèques des neurones. Nous allons tout d'abord étendre les propriétés que nous avons étudiées à d'autres structures, puis nous discuterons la pertinence d'une approche caractérisant à la fois les propriétés intrinsèques de repos et leurs propriétés dynamiques. Enfin nous évoquerons la coadaptation des propriétés synaptiques et intrinsèques au sein du système nerveux central.

D.1. Les propriétés intrinsèques rencontrées dans les neurones vestibulaires sont présentes dans d'autres neurones du tronc cérébral

La question est ici de savoir si les propriétés intrinsèques que nous avons observées sont particulières aux neurones vestibulaires, caractéristiques des neurones impliqués dans le contrôle du regard et de la posture, ou plus simplement propres aux neurones localisés au sein du tronc cérébral. L'importance fonctionnelle des propriétés intrinsèques des neurones vestibulaires de type A et B est comme nous allons le voir confirmée par le fait que ces neurones se retrouvent dans plusieurs autres structures du tronc cérébral impliquées principalement dans le contrôle du regard et de la posture, mais aux fonctionnalités différentes.

Nous avons vu que les neurones de grande taille du noyau vestibulaire latéral (neurones vestibulo-spinaux de Deiters, Uno et col. 2003), qui sont ceux que nous avons enregistrés, forment une population homogène dont les propriétés membranaires intrinsèques sont intermédiaires entre celles des neurones de type A et de type B du NVM. Cette homogénéité semble en accord avec l'homogénéité fonctionnelle de ces neurones, majoritairement impliqués dans le contrôle postural. Qu'en est-il des neurones non-vestibulaires (situés hors des noyaux vestibulaires) mais impliqués dans le contrôle du regard et de la posture ?

Les neurones du noyau prepositus hypoglossi, que nous avons brièvement présentés en introduction, sont principalement impliqués dans la fonction vestibulo-oculomotrice dans le plan horizontal. Ces neurones constitueraient l'intégrateur neuronal dans le RVO horizontal

(Fukushima et col. 1992). Ils seraient également impliqués dans le cycle veille/sommeil du fait de leurs projections inhibitrices GABAergiques vers le locus coeruleus, une région du mésencéphale, impliquée dans la vigilance (Aston-Jones et col. 1991a; 1991b) qui contient la moitié de tous les neurones qui utilisent la noradrénaline comme neurotransmetteur dans le cerveau, et projette ses axones vers de nombreuses régions cérébrales (amygdale, hippocampe, septum, cortex, tronc cérébral, formation réticulée, etc). Notre groupe (Idoux et col., en préparation) a enregistré les neurones localisés au sein du PH sur lesquels nous avons effectué le même type d'étude que sur les neurones vestibulaires médians et latéraux. Nous avons pu identifier au sein de ce noyau des neurones de type A, de type B, de type B+LTS (proportionnellement plus nombreux que dans le NVM) et un dernier type particulier à ce noyau qui présentent un mode de décharge spontanée particulier. Leur activité spontanée est particulièrement irrégulière et faible au repos, ce sont les neurones de type D. Ils ont une signature électrophysiologique décrite comme « de type A exacerbée » (Idoux et col. 2004 en préparation). Il est notable que les neurones enregistrés dans ce noyau présentent à nouveau des propriétés largement semblables à celles rencontrées dans les neurones vestibulaires. L'hétérogénéité de leurs propriétés intrinsèques pourrait refléter l'hétérogénéité de leurs fonctions, suggérant que les neurones de type D, particuliers à ce noyau, pourraient être ceux impliqués dans la physiologie du sommeil (Escudero et Vidal 1996; Kaur et col. 2001).

Les neurones du noyau gigantocellulaire de la formation réticulée sont impliqués dans diverses tâches motrices parmi lesquelles le contrôle du regard et de la posture, la locomotion et la respiration. Ils constituent une source majeure des voies réticulospinales. Serafin et col. ont étudié les propriétés intrinsèques de ces neurones sur la préparation de cerveau entier et sur tranches de tronc cérébral (Serafin et col. 1990; Serafin et col. 1996): comme les neurones du noyau vestibulaire médian, ces neurones peuvent avoir des projections oculomotrices et spinales. Cette population de neurones est hétérogène d'un point de vue électrophysiologique, et présente là aussi 2 sous-types correspondant très largement aux neurones de type A et de type B. On ne trouve en revanche pas de neurones de type B+LTS au sein de ce noyau. Les auteurs de ces études ont proposé que l'absence de neurones de type B+LTS pourrait être due à des différences de fonction entre les noyaux vestibulaires et le noyau gigantocellulaire, et seraient liées notamment à des différences dans la nature des muscles contrôlés (Serafin et col. 1996).

Les neurones moteurs du noyau abducens, enfin, peuvent eux aussi présenter des modes de décharge plutôt toniques ou plutôt phasiques. Durand a montré (1989) sur des tranches de

tronc cérébral de rat que ces deux populations aux propriétés dynamiques distinctes différaient également par d'autres propriétés (comme la résistance ou la forme du potentiel d'action). Bien que cette étude n'utilise pas la classification en neurones de type A et type B, il semble que les neurones phasiques présentent une double AHP alors que les neurones toniques auraient plutôt une signature électrophysiologique proche de celle des neurones de type A. Ce résultat suggère que la ségrégation en sous-types cellulaires de ces neurones du tronc cérébral repose en partie sur des distinctions fonctionnelles communes aux noyaux vestibulaires et aux noyaux moteurs de l'œil.

En fonction de la place qu'ils occupent dans la physiologie du système (et donc des patrons d'activités qu'ils reçoivent), ces neurones qui ont des origines embryologiques proches et suivent un développement comparable vont exprimer des propriétés intrinsèques légèrement différentes. Globalement, la comparaison des propriétés de ces neurones situés dans des noyaux proches, appartenant tous au tronc cérébral, montre donc comment **la fonction particulière des cellules d'un noyau va conduire à la modulation de l'expression du répertoire de leurs conductances.** Nous allons maintenant discuter le fait que cette identité relative de la signature électrophysiologique des cellules ne permet pas de préjuger de la dynamique de leurs réponses, mais pourrait traduire l'adaptation aux entrées synaptiques que reçoivent ces neurones.

D.2. Evolution comparée des propriétés intrinsèques enregistrées au repos et des réponses dynamiques des neurones

Une particularité de notre approche a été de caractériser aussi bien les propriétés électrophysiologiques intrinsèques enregistrées au repos en l'absence d'injection de courant, que les réponses dynamiques des neurones au cours d'injection de courants d'amplitudes et de fréquences variées. Au cours de nos études, nous avons ainsi pu caractériser les réponses dynamiques des neurones de type A et de type B, confirmant les études menées par Ris et col. (2001b). D'une certaine façon, nous avons alors associé les signatures électrophysiologiques de repos de ces neurones à leurs propriétés dynamiques, établissant des corrélations entre les différents paramètres quantifiés. **Nos expériences menées dans d'autres conditions et sur d'autres noyaux nous ont depuis montré que ces corrélations ne valent que dans une condition particulière, et que l'on ne peut donc pas déduire directement la dynamique des neurones à partir de leur fonctionnement au repos.** Ainsi malgré le fait qu'en l'absence de stimulation les neurones du noyau vestibulaire latéral présentent des propriétés

intermédiaires à celles des neurones de type A et de type B du noyau vestibulaire médian, leurs propriétés dynamiques diffèrent. Alors que certaines des différences de propriétés membranaires observées, comme par exemple sur les résistances membranaires, sont probablement liées à la différence de taille des neurones de Deiters par rapport aux neurones du noyau médian, leurs dynamiques de réponse distinctes ne sont directement déductibles ni de leur anatomie, ni de leur propriétés électrophysiologiques enregistrées au repos.

Un autre cas de dissociation entre les propriétés de repos et les propriétés dynamiques est apparu dans le cadre de nos expériences sur les neurones vestibulaires après un mois de compensation : du côté contralatéral à la lésion, les propriétés de repos des neurones de type A ne présentent aucune variation par rapport à la normale, ce qui laissait penser qu'ils n'avaient pas subi de modification au cours de la compensation. En fait, nos stimulations en rampes et sinusoïdes de courant nous ont permis de montrer que la dynamique de ces cellules était profondément altérée, notamment lorsque ces stimuli étaient appliqués au potentiel de repos, c'est-à-dire au niveau de potentiel qui sert à la caractérisation des neurones.

Ces résultats soulignent la complexité des interactions dynamiques entre les différentes conductances exprimées par les neurones, et montrent que certaines modifications n'affecteront le comportement des cellules que dans un contexte très particulier (niveau de potentiel membranaire, amplitude et intensité du signal etc), ce qui n’est révélé qu'à l'aide de stimulations expérimentales adéquates. Ces données montrent toutefois également que les propriétés membranaires intrinsèques des neurones vestibulaires centraux déterminent largement leurs propriétés dynamiques, et sont donc parties intégrantes des caractéristiques déterminant leur comportement *in vitro*, et probablement aussi *in vivo*.

D.3. Coadaptation des propriétés intrinsèques et des entrées synaptiques d’un neurone

Une question intrigante lorsque l’on s’intéresse à la place des propriétés intrinsèques dans la physiologie, considérée à la fois à l’échelle du neurone et d’un réseau de neurones, est celle de la coadaptation entre les propriétés intrinsèques propres à la cellule et les propriétés synaptiques des afférences qui modulent son activité. Cette question est apparue en filigrane tout au long de ce manuscrit. Je voudrais ici réunir les arguments qui montrent que les propriétés intrinsèques des neurones vestibulaires pourraient effectivement refléter les propriétés des afférences qu’ils reçoivent. Pour aborder ce problème, reconsidérons les

questions fondamentales de cette thèse : quelle est l'origine de la différence entre les neurones de type A et les neurones de type B et quelle est la pertinence physiologique de cette distinction ?

Tout d'abord, revenons sur quelques unes des données issues du développement des Rongeurs : à la naissance, les propriétés des neurones vestibulaires du rat et de la souris ne sont pas matures. Elles se développent au cours des deux premières semaines suivant la naissance (Dutia et Johnston 1998; Johnston et Dutia 1996; Murphy et Du Lac 2001), une maturation qui semble plus longue et plus marquée pour les neurones de type B. Cette période de développement correspond à l'apprentissage moteur des animaux ainsi qu'à l'ouverture de leurs yeux. Nous avons déjà proposé en introduction que la mise en place des propriétés électrophysiologiques intrinsèques des neurones vestibulaires pourrait suivre un schéma séquentiel dont la dernière étape serait dépendante de l'activité (Maklad et Fritzsch 2003). La maturation différente des neurones de type A et de type B pourrait donc révéler le fait que ces neurones reçoivent des afférences différentes, ce qui serait à l'origine de la différenciation des deux types cellulaires.

Ce n'est malheureusement pas le cas. Il n'existe pas de différences manifestes entre les connectivités respectives de ces deux types cellulaires. Les expériences menées sur le cerveau entier ont montré que, au moins de manière qualitative, les neurones de type A et de type B reçoivent les mêmes entrées synaptiques, à l'exception des afférences flocculaires directes qui pourraient être spécifiques d'une partie des neurones de type B (Babalian et col. 1997). Une autre possibilité est que les afférences que reçoivent les deux grands types de neurones vestibulaires, et plus particulièrement les afférences vestibulaires sensorielles, présentent des modes d'activité distincts. Se pose alors la question de savoir si les afférences sensorielles régulières (toniques) et irrégulières (phasiques) contactent des types de neurones différents dans les noyaux centraux. La réponse à cette question pourrait être formulée ainsi : oui, mais seulement partiellement.

En effet, le terme de ségrégation laisse entendre que les afférences irrégulières se projetteraient sur un type de neurones et les afférences régulières sur un autre type. Ce n'est pas le cas, et ceci justifie le fait que l'on ne puisse pas, comme nous l'avons discuté, parler de voies de traitement parallèles pour le système vestibulaire (*voir Peterson 1998 et partie C2 de cette discussion*).

La distribution des voies phasiques et toniques du système vestibulaire est en fait rendue complexe par le fait qu'à chaque étape du traitement de l'information, les

expérimentateurs sont confrontés à une répartition des propriétés en « continuum ». Que ce soit au niveau des neurones sensoriels, des fibres vestibulaires (Goldberg 2000), ou des neurones vestibulaires secondaires (du Lac et Lisberger 1995), la distinction des composantes phasiques et toniques du système repose sur des limites arbitraires utilisées essentiellement par souci de simplification. Cependant, la ségrégation des afférences sur les neurones centraux n'a pas besoin d'être totale, loin de là, et les études menées, aussi bien d'un point de vue électrophysiologique qu'anatomique ne peuvent prétendre être exhaustives. Une hypothèse alternative serait que les neurones reçoivent aussi bien des afférences toniques que des phasiques, mais que les afférences les plus irrégulières aient un « poids » plus important pour les cellules phasiques. **Il y aurait donc une coadaptation des propriétés intrinsèques et des entrées synaptiques reçues par les neurones**.

Il existe des arguments en faveur de cette hypothèse : Sato et Sasaki (1993) ont réalisé une étude combinant électrophysiologie et morphologie chez le chat. Dans cette étude, ces auteurs montrent que les fibres afférentes irrégulières (dont le diamètre est plus important), contactent préférentiellement les neurones vestibulaires secondaires au niveau de leur soma et sur l'arbre dendritique proximal des neurones. De plus, ces fibres de gros diamètre présentent des boutons synaptiques de plus grande taille et 2 à 3 fois plus nombreux que les fibres régulières. Ces résultats suggèrent que les afférences irrégulières pourraient prendre une place prépondérante dans la physiologie des cellules phasiques par deux mécanismes non-exclusifs : 1) du fait de la localisation de leurs synapses, qui seraient préférentiellement sur le soma ou l'arbre dendritique proximal des cellules. Les afférences faisant synapse au niveau somatique auraient un effet prépondérant dans la physiologie d'un neurone par rapport aux afférences contactant les neurones sur leurs dendrites distales (Hausser et Mel 2003; Williams et Stuart 2003a; Williams et Stuart 2003b). Et 2) du fait d'un plus grand nombre de synapses en provenance des fibres irrégulières contactant les cellules phasiques.

Cette hypothèse permet d'expliquer un certain nombre d'observations, notamment à propos de l'organisation du système vestibulaire en voies fréquentielles de traitement de l'information. Suite à une première étape du développement reposant sur des facteurs pré-déterminés génétiquement, l'activité propre aux afférences sensorielles phasiques (les plus irrégulières) viendrait modeler les propriétés intrinsèques des neurones de façon à ce que celles-ci soient adaptées aux signaux vestibulaires qu'ils reçoivent, justifiant la différenciation grandissante au cours du développement post-natal des propriétés des neurones de type B par

rapport à celles de type A. En conséquence, on retrouve dans les neurones vestibulaires centraux un éventail d'intermédiaires allant d'un extrême correspondant à des propriétés toniques/ linéaires à un autre correspondant à des propriétés phasiques/ non-linéaires, comme cela est le cas des cellules cilliées et des fibres du nerf vestibulaire.

Dans le cadre de cette hypothèse, la composante dominante, caractéristique, de l'activité du système vestibulaire serait non-linéaire. Cela justifierait le fait qu'après la lésion unilatérale du labyrinthe de l'oreille interne, les neurones déafférentés les plus affectés sont les neurones de type B (Beraneck et col. 2003), donc les plus phasiques (Ris et col. 2001b), qui se dédifférencient et dont les propriétés intrinsèques redeviennent proches de celles des neurones de type A. D'un point de vue fonctionnel, cette dédifférenciation a pour conséquence de limiter la compensation dynamique envisageable : la perte des organes vestibulaires entraîne la perte des propriétés caractéristiques des neurones de type B du côté lésé et donc la capacité des neurones ipsilésionaux à répondre à des signaux phasiques. Ceci rend impossible dans certaines gammes d'amplitudes et de fréquences le remplacement des informations vestibulaires par les afférences sensorielles restantes, comme cela a été observé *in vivo* (Gilchrist et col. 1998; Lasker et col. 2000; Vibert et col. 1993).

La part prépondérante qu'auraient les afférences vestibulaires irrégulières dans la détermination des propriétés intrinsèques propres aux neurones de type B/ phasiques est en accord avec la perte de ces propriétés observée aussi bien lors de la mise en culture de tranches de tronc cérébral contenant les noyaux vestibulaires (Genlain et col. 2003) que dans le modèle de souris ISK-/- génétiquement modifiées, qui souffrent d'une dégénérescence précoce des organes vestibulaires périphériques liée à la mutation d'un canal potassique codé par le gène Kcne1, et chez qui les neurones de type A sont fortement majoritaires (communication personnelle de D. Eugène).

Au contraire, du côté contralatéral, nous avons constaté un développement des propriétés caractéristiques des neurones de type B. Cette observation suggère que les afférences vestibulaires encore intactes pourraient également évoluer vers un développement de la composante non-linéaire, c'est-à-dire des afférences vestibulaires irrégulières. Galiana et col. (2001) ont caractérisé les non-linéarités du RVO de patients ayant subi une lésion unilatérale des appareils vestibulaires. En accord avec les résultats obtenus chez l'animal par les groupes de Minor et de Broussard (*voir partie B5 de cette discussion : implications des composantes linéaires et non linéaires dans la compensation vestibulaire*), cette équipe doit également faire appel à un développement des propriétés non-linéaires du système afin de

modéliser les réponses du RVO de ces patients. La principale différence est que d'après leur modèle, cette composante non-linéaire se situerait au niveau des afférences vestibulaires. A l'heure actuelle, aucune donnée ne permet de confirmer ou d'infirmer un changement du fonctionnement des afférences vestibulaires contralatérales après labyrinthectomie unilatérale. Une hypothèse intéressante formulée par Galiana (2001) réside dans l'intervention du système vestibulaire efférent (*voir introduction A.I.3.*) qui a la particularité de se projeter bilatéralement sur les organes vestibulaires, constituant un système en « feedback ». On sait peu de choses concernant ce système, des données récentes suggèrent cependant qu'il exerce une influence excitatrice surtout sur les fibres vestibulaires les plus irrégulières (Marlinski et col. 2004). Compte tenu de l'évolution des propriétés intrinsèques non-linéaires des neurones vestibulaires centraux, il est donc possible que les afférences vestibulaires intactes elle-mêmes voient leur fonctionnement modifié suite à la labyrinthectomie contralatérale.

Il existe différents mécanismes par lesquels les entrées synaptiques pourraient diriger à long terme l'expression des propriétés intrinsèques des neurones, en agissant directement sur l'expression génique *via* des voies de transductions (Curtis et Finkbeiner 1999; Hetman et Gozdz 2004; Jonas et Kaczmarek 1996), et/ou par des changements dépendants de l'activité des neurones vestibulaires centraux. Nous savons que les afférences vestibulaires régulières et irrégulières utilisent toutes le glutamate comme neurotransmetteur, il n'est donc pas aisé de postuler en première approche des voies de transduction différentielles des afférences régulières et irrégulières. Cependant Straka et col. (1996a; 1996b voir aussi figure 5 de l'introduction) ont montré chez la grenouille et le rat que ce sont les afférences de diamètre important qui activent principalement les récepteurs NMDA des neurones vestibulaires centraux. De plus, la glycine et la somatostatine sont colocalisées avec le glutamate dans les afférences de diamètre important, et la glycine participe sans doute également à l'activation des récepteurs NMDA (revue dans Straka et Dieringer 2004). D'autres éléments de neurochimie des fibres afférentes vestibulaires pourraient être corrélés au diamètre des fibres, par exemple la substance P a été retrouvée chez le cobaye colocalisée avec le glutamate uniquement dans les fibres de diamètre fin (revue dans Straka et Dieringer 2004; Vibert et col. 1997)(revue dans Vibert et col. 1997). Les patrons d'activité distincts des neurones vestibulaires secondaires induits par les fibres régulières et irrégulières pourraient également expliquer les changements observés. Ainsi les modifications du côté contralatéral à la lésion pourrait révéler la part prépondérante des afférences irrégulières dans la détermination des

propriétés intrinsèques des neurones, ce qui conduirait à accentuer les propriétés les plus phasiques des neurones vestibulaires centraux de ce côté.

Enfin, je voudrais conclure cette hypothèse concernant la coadaptation des propriétés intrinsèques et des entrées synaptiques des neurones vestibulaires en précisant que ce type de mécanismes a déjà été décrit dans d'autres modèles, et de manière particulièrement convaincante dans le cadre des études concernant le ganglion stomatogastrique des Crustacés : différents groupes ont utilisé les avantages de ce réseau de neurones qui consiste en un nombre limité et bien connus de neurones qui présentent des modes de décharges rythmiques. L'influence des entrées synaptiques dans le développement des propriétés de ces neurones a été clairement démontrée (revue dans Fenelon et col. 2003; Fenelon et col. 1998; Le Feuvre et col. 2001; Sillar et col. 1992; Sillar et col. 1995). Dans une étude récente, le rôle de ces entrées dans la maintenance à long terme des propriétés intrinsèques a également été étudiée : Mizrahi et col. (2001) ont isolé par déafférentation une partie de ces neurones du reste du réseau et ont étudié par électrophysiologie et immunohistochimie les variations d'expression d'un courant potassique I_A 6 jours après la déafférentation. Leurs résultats montrent que la suppression de cette entrée synaptique conduit à la surexpression de ce courant dans les neurones déafférentés. En accord avec les résultats d'autres groupes, cette étude suggère à nouveau que c'est l'expression de cette conductance qui est modifiée plutôt que des changements de la cinétique ou de la dépendance au potentiel propre à ce courant (An et col. 2000; Desai et col. 1999). Enfin, d'autres études ont montré que la réponse de ces neurones déafférentés comportait à long terme des modifications d'ensemble des différentes conductances (Thoby-Brisson et Simmers 1998; Thoby-Brisson et Simmers 2000; Thoby-Brisson et Simmers 2002 sur une préparation équivalente; Turrigiano et col. 1994; Turrigiano et col. 1995 sur cellules dissociées).

En conclusion, l'ensemble de ces données indique que dans le futur, les groupes intéressés par les propriétés intrinsèques des neurones devront chercher à développer des préparations permettant d'étudier dans le même temps les entrées synaptiques reçues par les cellules. L'hypothèse proposée ici ne constitue qu'une des nombreuses interprétations possibles de nos résultats. Celle-ci présente l'avantage de recouvrir l'ensemble des données issues de mon travail de thèse, mais, compte tenu de la

complexité du système vestibulaire, d'autres solutions, non exclusives, pourraient être envisagées.

Je vais maintenant aborder brièvement quelques-une des voies de recherche qu'il me semblerait intéressant de poursuivre à l'avenir.

E. Perspectives

Je vais présenter ici quelques pistes de recherche et méthodes d'étude qui me semblent prolonger les expériences que nous avons réalisées au cours de mon doctorat. J'ai choisi de les hiérarchiser de la manière suivante : 1) les implications cliniques. 2) les expériences réalisables *in vivo* et 3) quelques pistes de recherches à mener *in vitro*.

E.1 Implications cliniques : vers une préservation des propriétés intrinsèques des neurones vestibulaires ?

Une des avancées en terme de connaissance de l'état post-lésionnel du système vestibulaire réside dans le fait que les propriétés intrinsèques des neurones, particulièrement du côté ipsilatéral, sont modifiées à long terme, ce qui pourrait être un obstacle à la récupération des réflexes d'origine vestibulaire. A la perte des organes périphériques (les organes vestibulaires) s'ajoute ainsi la perte des capacités des neurones centraux à répondre à des signaux phasiques, rendant impossible dans certaines gammes d'amplitudes et de fréquences la substitution des informations vestibulaires par les afférences sensorielles restantes. Nos études ont démontré qu'après la lésion, le système vestibulaire est bilatéralement modifié, suggérant que deux erreurs sont communément effectuées par les cliniciens : 1) les modifications induites par la labyrinthectomie se prolonge bien au-delà de la période de disparition des troubles statiques, ce qui devrait inciter à un suivi à long terme de l'évolution de l'état des patients, et 2) le côté contralatéral à la lésion n'est, contrairement à ce qui est généralement admis, plus « intact », mais subi également des modifications à l'échelle cellulaire.

Puisque la destruction périphérique des organes vestibulaires ne provoque pas de dégénérescence des fibres afférentes vestibulaires, il est envisageable de stimuler artificiellement celles-ci afin de préserver les propriétés intrinsèques dépendantes de l'activité des organes vestibulaires. Ce qui pose problème en terme d'appareillage et de connaissance du système à l'heure actuelle réside dans la spécificité de la stimulation à apporter pour remplacer les organes disparus (Wall et col. 2002). Il est probable que la stimulation nécessaire à la préservation des propriétés intrinsèques des neurones vestibulaires ne nécessite

pas une telle précision. Nous avons déjà évoqué le fait que les fibres irrégulières de gros diamètre peuvent être sélectivement activées par des courants d'une intensité trop faible pour stimuler les afférences régulières, de diamètre plus fin (Goldberg et col. 1984). L'implantation de ces électrodes de stimulation directement sur le ganglion de Scarpa est aujourd'hui rendue possible par les progrès en matière de bioingénierie (Wall et col. 2002). Ce type de statégie clinique constituerait une première étape décisive dans le traitement des patients ayant perdu unilatéralement ou bilatéralement les organes vestibulaires. Cette approche aurait donc pour but de préserver les propriétés des neurones vestibulaires centraux.

E.2 Expériences *in vivo* : identification des neurones de type A et de type B ; évolution des propriétés des afférences vestibulaires contralatérales à la lésion

Deux expériences semblent importantes à réaliser *in vivo* dans les prochaines années :

E.2.1. Identification des neurones de type A et B *in vivo*. Application de nos données issues de la modélisation

La première, qui constitue mon projet de post-doctorat, a pour but d'identifier *in vivo* le rôle des neurones de type A et de type B. Le groupe dirigé par K. Cullen a enregistré les neurones vestibulaires de singes éveillés au cours de rotations volontaires ou imposées de la tête (Roy et Cullen 2002), en s'attachant à comprendre comment les différentes informations parvenant aux noyaux vestibulaires sont intégrées par les neurones vestibulaires centraux. Les réponses dynamiques de ces neurones ont été caractérisées pour une large gamme de fréquences (≤15 Hz) et de vitesses (≤400°/s) de rotation de la tête. Le laboratoire de Montréal se concentre désormais sur les mécanismes de compensation après lésion vestibulaire périphérique.

La collaboration entre nos deux laboratoires s'est engagée sur un modèle animal commun : la souris. Notre groupe enregistre *in vitro* les neurones vestibulaires de souris normales, mais aussi de souris mutantes ISK-/- génétiquement modifiées qui souffrent d'une dégénérescence des organes vestibulaires périphériques dans les premiers jours post-natals. Cette mutation porte sur un canal potassique codé par le gène Kcne1, ce qui conduit à un

comportement locomoteur pathologique chez l'adulte (Vetter et col. 1996). Ces souris ne présentent pas d'anormalies du système nerveux central, car le canal potassique modifié n'y est pas exprimé. Les études préliminaires *in vitro* montrent que les neurones de type A sont fortement majoritaires chez ces animaux. Par ailleurs, nous collaborons pour caractériser le contrôle du regard, de la posture et de la locomotion des souris normales et mutantes.

Au cours de mon post-doctorat, nous mettrons au point les enregistrements extracellulaires *in vivo* chez la souris normale éveillée et libre de ses mouvements. La même méthode, qui nécessite l'utilisation d'un connecteur d'enregistrement pivotant, est déjà utilisée en routine chez le rat. Le développement d'enregistrements multi-unitaires à l'aide de tétrodes donnera ensuite accès aux réponses d'ensemble des noyaux vestibulaires, et notamment aux phénomènes de synchronisation des neurones. Afin de discriminer *in vivo* les neurones vestibulaires de types A et B, nous tirerons avantages des résultats acquis au cours des dernières années concernant les propriétés de membrane et de décharge de ces neurones. La régularité de la décharge, la relation entre cette régularité et la sensibilité des neurones, la largeur du potentiel d'action, la réponse à des stimuli de forte amplitude et de haute fréquence sont autant de critères qui pourront être utilisés. Ce projet de recherche a pour but d'établir le lien entre les résultats obtenus par les deux laboratoires sur les neurones vestibulaires centraux. Nous souhaitons établir *in vivo* les différents rôles fonctionnels des types cellulaires observés in vitro. Les objectifs de mon stage de post-doctorat seront les suivants :

(1) Développement d'une technique d'enregistrement extracellulaire *in vivo* chez la souris normale, éveillée et libre de ses mouvements. Nous mettrons en même temps au point une méthode d'analyse permettant de distinguer les différents types de neurones vestibulaires à partir des enregistrements extracellulaires menés *in vivo*. La comparaison des souris normales et transgéniques nous permettra de lier les connaissances issues de la biologie moléculaire, de la physiologie cellulaire, et de la physiologie des différents systèmes impliqués.

(2) Etude de l'ontogénie des propriétés de membranes des neurones vestibulaires par enregistrement *in vivo* chez la souris Isk -/-. La dégénérescence précoce des labyrinthes vestibulaires conduit chez ces souris à la disparition des neurones de type B. Ce modèle permettra donc d'appréhender le rôle des afférences vestibulaires dans la genèse des propriétés électrophysiologiques des neurones vestibulaires, et aussi de valider l'identification des neurones de type A en extracellulaire.

(3) Etude électrophysiologique *in vivo* de la compensation après labyrinthectomie unilatérale chez la souris normale : recherche des rôles fonctionnels respectifs des neurones de type A et B pendant la compensation vestibulaire.

Les travaux de modélisation issus des expériences réalisées au cours de mon doctorat permettent d'envisager d'estimer les conductances et les propriétés membranaires de chaque neurone à partir de la dynamique des modulations de sa décharge spontanée. En d'autres termes, cette approche pourrait permettre d'obtenir des renseignements précis sur les propriétés biophysiques d'un neurone en utilisant seulement les résultats d'enregistrements extracellulaires. Cette méthode nécessiterait cependant de pouvoir moduler le potentiel membranaire des cellules enregistrées, en leur imposant notamment des signaux de fortes amplitudes et/ou de haute fréquence. Le fait que la fonction de transfert obtenue empiriquement à partir de nos résultats expérimentaux soit proche des fonctions de transfert linéaires déterminées analytiquement, au moins pour des stimulations d'amplitude modérée, indique que cette stratégie d'analyse empirique serait utilisable sur des neurones enregistrés en extracellulaire. L'analyse de Fourier des séquences de potentiels d'action peut fournir une approximation raisonnable du comportement du potentiel de membrane sous-jacent, et donc un moyen d'aboutir à une description au moins partielle des conductances des neurones. Ce type d'analyse devrait permettre de distinguer les différents types de neurones du NVM ou d'autres structures à partir d'enregistrements extracellulaires, et donc d'améliorer la connaissance des réseaux neuronaux étudiés in vivo. Nous fondons beaucoup d'espoirs sur ces méthodes, qui demanderont cependant à être développées plus avant.

E.2.2. Evolution des afférences contralatérales à la lésion

Du côté contralatéral, nous avons constaté un développement des propriétés caractéristiques des neurones de type B. Compte tenu de la possible coadaptation des propriétés intrinsèques et des propriétés des afférences, cette observation suggère que les afférences vestibulaires encore intactes pourraient également évoluer vers un développement de la composante non-linéaire, c'est-à-dire des afférences vestibulaires irrégulières. Galiana et col. (2001) ont caractérisés les non-linéarités du RVO de patients ayant subi une lésion unilatérale des appareils vestibulaires. Cette équipe doit également faire appel à un développement des propriétés non-linéaires du système afin de modéliser les réponses du RVO de ces patients. A l'heure actuelle, aucune donnée ne permet de confirmer ou d'infirmer

un changement du fonctionnement des afférences vestibulaires contralatérales après labyrinthectomie unilatérale. Nous avons déjà évoqué un possible rôle du système efférent dans cette évolution. Compte tenu de la présence de H.L Galiana à l'université McGILL de Montréal, j'espère pouvoir participer à des recherches en ce sens au cours de mon post-doctorat : celles-ci consisteraient à caractériser le fonctionnement des afférences vestibulaires en condition contrôle et du côté contralatéral à la lésion plusieurs mois après celle-ci. Cette étude devrait être possible en utilisant les techniques d'enregistement et le modèle murin décrits précédemment.

E.3. Expériences et techniques d'études *in vitro*

E.3.1. Vérification expérimentale de nos résultats : l'intérêt de la labyrinthectomie bilatérale

Une expérience simple à réaliser en terme de préparation consisterait à effectuer une étude en tous points similaire à celles présentées ici dans le cadre de la compensation vestibulaire, mais un mois après une labyrinthectomie bilatérale. Si nos interprétations sont justes, nous devrions retrouver des deux côtés du tronc cérébral des proportions de neurones de type A et de type B semblables à celles observées dans notre étude menée du côté contralatéral. Surtout, l'absence totale d'entrées vestibulaires devrait conduire à une disparition des neurones de type B et des réponses phasiques des neurones vestibulaires en général. Il est également envisageable de réaliser des études post-lésionnelles comparables mais à plus long terme, un avantage indéniable des techniques utilisées au cours de ma thèse étant de pouvoir enregistrer des neurones provenant d'animaux plus agés que ne le permettent d'autres modèles, comme la souris par exemple. Ces études à plus long terme permettraient de définir les limites dans le temps de l'évolution des propriétés intrinsèques des neurones vestibulaires.

E.3.2. Préparations permettant d'étudier l'intégration synaptique

Nous avons souligné tout au long de la discussion l'importance d'une étude combinée des propriétés synaptiques et membranaires intrinsèques. Afin de permettre ce type d'études, des préparations qui préservent au mieux les réseaux de neurones dont font partie les neurones vestibulaires sont essentiels. Il sera ainsi intéressant de déterminer la manière dont les

propriétés de membrane de chaque neurone déterminent ses réponses à des stimulations synaptiques, et notamment ses capacités d'intégration des stimulations synaptiques à haute fréquence. Plusieurs projets d'expérience allant dans ce sens sont actuellement développés au sein du L.N.R.S

Sur la préparation de cerveau entier de grenouille, des travaux en ce sens ont déjà été entrepris. Ils vont consister à stimuler sélectivement le nerf issu du canal semi-circulaire horizontal avec des séries d'impulsions activant les neurones vestibulaires sensoriels. La fréquence de base (porteuse) de ces stimulations sera modulée selon les schémas d'activité des fibres vestibulaires afférentes décrits *in vivo*. L'utilisation de stimulations calibrées simulant des échelons de vitesse constante, des oscillations sinusoïdales, ou des rampes de vitesse croissante et décroissante, permettra d'étudier la dynamique de réponse des neurones vestibulaires secondaires toniques et phasiques pour toutes les fréquences naturelles des mouvements de la tête. Une comparaison des résultats obtenus par stimulation unilatérale avec les données enregistrées lors de l'addition en opposition de phase d'une stimulation du nerf du canal horizontal opposé permettra d'étudier la contribution des voies commissurales issues du noyau contralatéral à la dynamique de réponse des deux grands types de neurones vestibulaires secondaires.

Une autre préparation sera sous peu développée par Nicolas Vibert et Erwin Idoux. Elle consistera à en une préparation *in vitro* de tranches horizontales de tronc cérébral de souris adulte de grande épaisseur (1 mm). Sur cette tranche, il devrait être possible de stimuler électriquement les fibres sensorielles vestibulaires et d'enregistrer en intracellulaire les réponses synaptiques des neurones du NVM, du NPH, et des noyaux abducens. Il sera alors possible de corréler les propriétés de réponses et d'intégration du signal de chaque neurone à ses propriétés membranaires, et notamment de son type cellulaire.

E.3.3. Le rôle du calcium intracellulaire dans la différenciation des neurones de type A et B

Nous avons souligné tout au long de ce manuscrit l'intérêt croissant porté au rôle des canaux calciques et potassiques calcium-dépendants et à la concentration en calcium intracellulaire libre dans la régulation de l'excitabilité et de la dynamique des neurones vestibulaires centraux. La répartition des principales protéines fixatrices du calcium intracellulaire (calbindine, calrétinine, parvalbumine) dans les neurones vestibulaires centraux

est hétérogène, même au sein du NVM (Kevetter 1996; Puyal et col. 2002). L'hypothèse a tester serait que les propriétés de membrane des neurones vestibulaires médians seraient liées à l'expression ou la non-expression de la calrétinine ou d'autres protéines régulant le calcium au sein de ces neurones. Les quelques études qui ont lié la régulation du calcium aux propriétés de membrane suggèrent que la concentration intracellulaire en calcium serait plus efficacement régulée dans les neurones de type B que dans les types A (Gall et col. 2003). On sait aussi que lors de la compensation vestibulaire, le nombre de neurones du NVM exprimant la calrétinine diminue à long terme du côté déafférenté (Sans et col. 1995), où les propriétés de l'ensemble des neurones se rapprochent de celles des neurones de type A. Cette modification d'expression pourrait correspondre aux modifications de propriétés membranaires observées en électrophysiologie.

Conclusion

Les expériences que nous avons réalisées dans le cadre de la compensation vestibulaire ont permis de démontrer que les propriétés électrophysiologiques intrinsèques des neurones du système vestibulaire sont modifiables. Une telle plasticité post-lésionelle des propriétés intrinsèques des neurones du SNC pourrait être rencontrée dans d'autres situations pathologiques ou expérimentales conduisant à des privations ou des modifications persistantes d'activité, comme par exemple des déafférentations provoquées par des traumatismes, des accidents vasculaires cérébraux, ou encore des maladies neurodégénératives.

Cette plasticité constitue un phénomène d'homéostasie qui préserve les capacités électrophysiologiques des neurones, en aidant à leur maintien à un niveau d'activité donné. Cette réaction cellulaire n'est pas toujours bénéfique en terme de récupération des comportements : certaines des modifications observées dans le cadre de la compensation vestibulaire favoriseraient la compensation comportementale des déficits induits par la labyrinthectomie unilatérale, mais d'autres rendraient au contraire certaines réponses définitivement impossibles. La plasticité activité-dépendante est un mécanisme qui joue un rôle important dans la mise en place de réseaux fonctionnels de neurones au cours du développement, en modulant l'expression des conductances exprimées par les neurones. Nous avons pu montrer que ce processus est aussi impliqué dans la plasticité des propriétés électrophysiologiques des neurones chez les Mammifères adultes.

Par ailleurs, la comparaison des propriétés des neurones vestibulaires centraux du cobaye et de la grenouille nous a permis de proposer une organisation des voies centrales vestibulaires en voies fréquentielles complémentaires de traitement des informations sensorielles. C'est selon cet axe de recherche que j'ai choisi de poursuivre *in vivo* mes travaux de post-doctorat, pour tenter d'élucider dans quelle mesure cette organisation dépend des différentes propriétés membranaires intrinsèques des neurones vestibulaires centraux.

Plus généralement, les études réalisées au cours de ma thèse suggèrent que les propriétés individuelles des neurones sont une des composantes critiques du fonctionnement d'un système ; la coadaptation de ces propriétés à la nature et à la dynamique des synapses qui

contactent chaque neurone constitue à mon avis un axe de recherche essentiel pour l'avenir des neurosciences intégratives.

ANNEXES

Les figures présentées ici sont des illustrations issues des résultats complémentaires présentés à la page 201. Ces résultats ont été obtenus au cours de mon séjour à Munich, et font donc partie intégrante de cette thèse. Ces figures ont été présentées au congrès des Neurosciences Américaines en novembre 2003 :

Beraneck M., Rohregger M., Moore L.E., Vidal P.P., Vibert N., Straka H. (2003) Frequency dependent responses of frog second order vestibular neurons. Society for Neuroscience 33rd Annual Meeting, New Orleans, Louisiane, Novembre 2003.

Un article présentant ces résultats est actuellement en cours d'écriture.

Les annexes 1 et 2 présentent les réponses des neurones toniques de grenouille en présence ou en absence de potentiels d'action, respectivement.

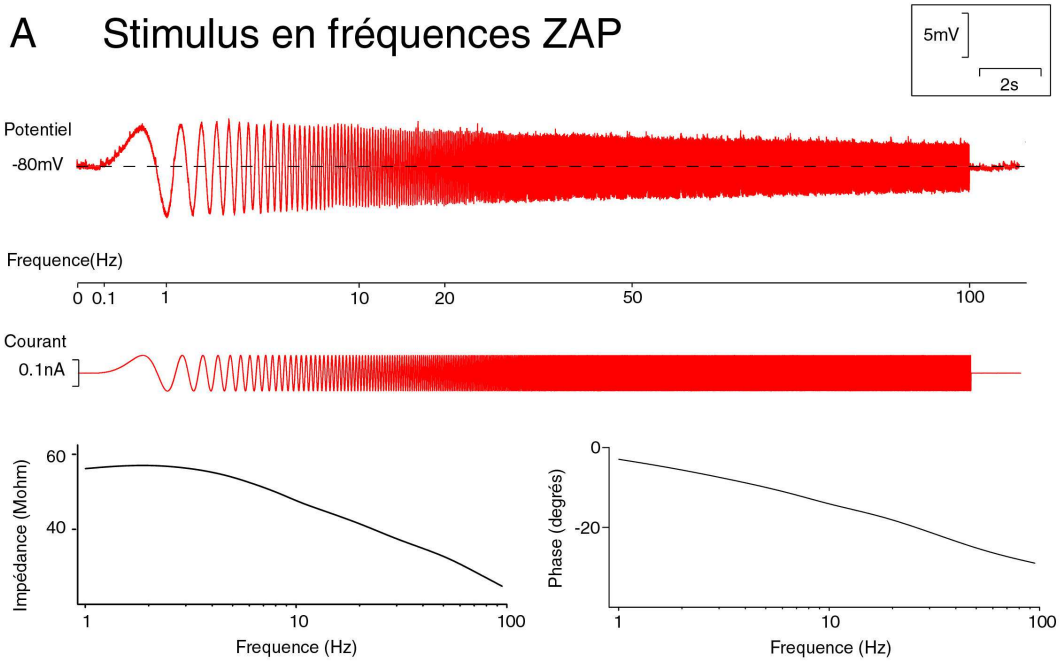
Les annexes 3 et 4 présentent les réponses des neurones phasiques de grenouille en présence ou en absence de potentiels d'action, respectivement.

Dans chaque condition, nous avons pu tester les réponses fréquentielles des neurones en réponse à des sinusoïdes de fréquence croissante injectées soit individuellement, soit de manière continue au sein d'un seul stimulus de type « ZAP ». Les réponses des celulles en l'absence de potentiels d'action sont présentées en terme de variation de l'impédance et de la phase. En présence de potentiels d'action, les résultats sont illustrés de manière qualitative

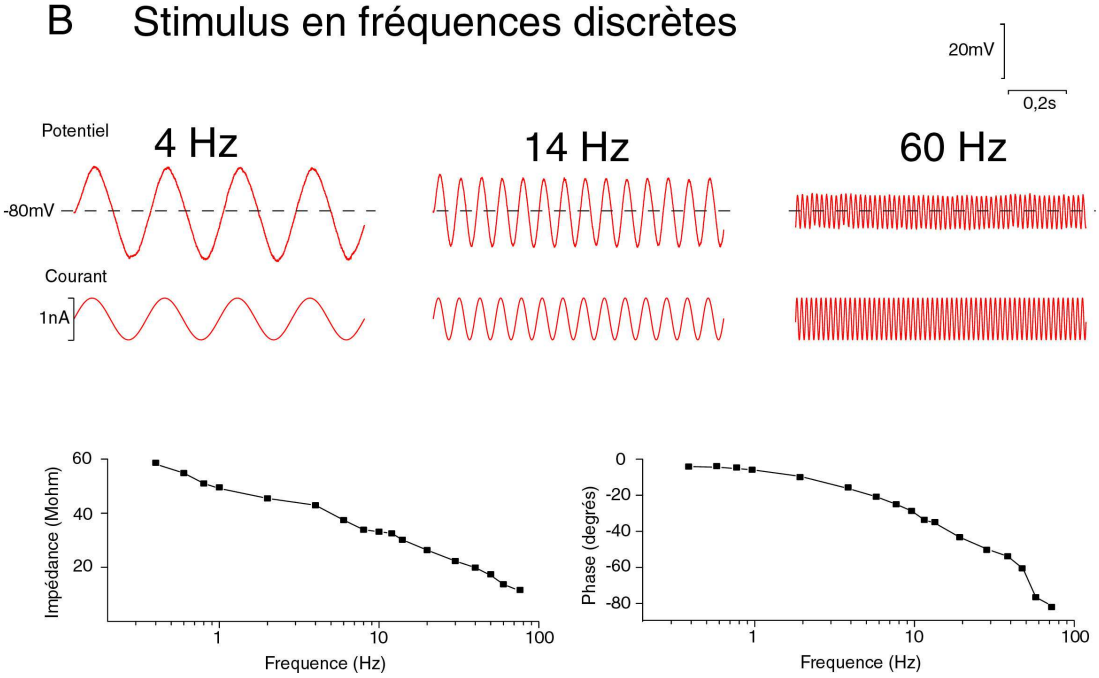
L'annexe 5 est un schéma est une interprétation de ces résultats, suggérant que les neurones toniques et phasiques constituent des voies fréquentielles complémentaires de traitement des informations vestibulaires.

Neurone tonique - sous le seuil de décharge

A Stimulus en fréquences ZAP



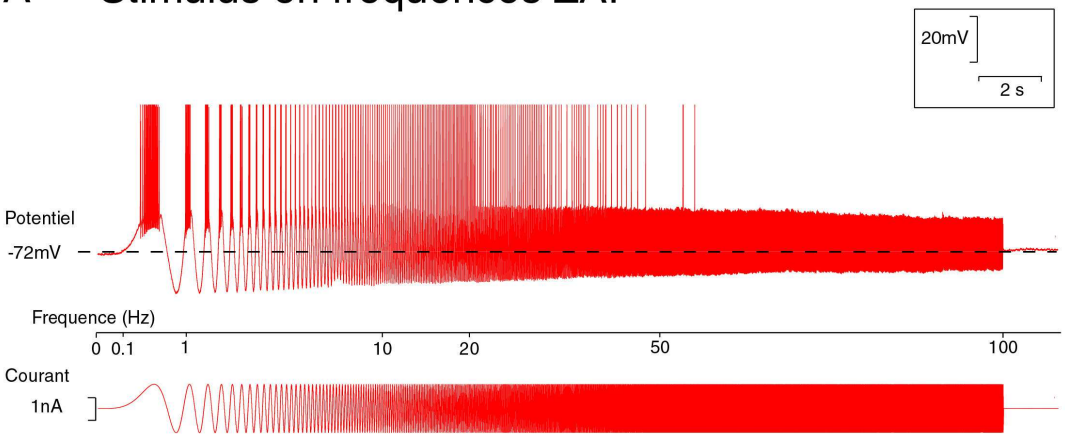
B Stimulus en fréquences discrètes



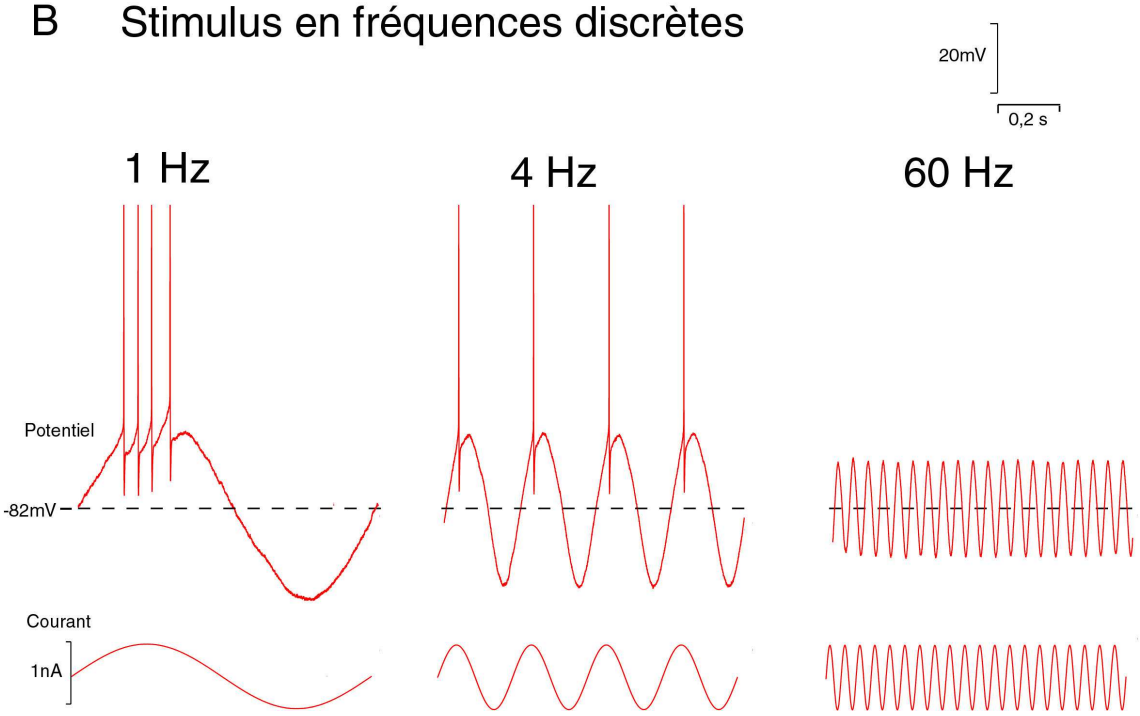
ANNEXE 1

Neurone tonique - au dessus du seuil de décharge

A Stimulus en fréquences ZAP



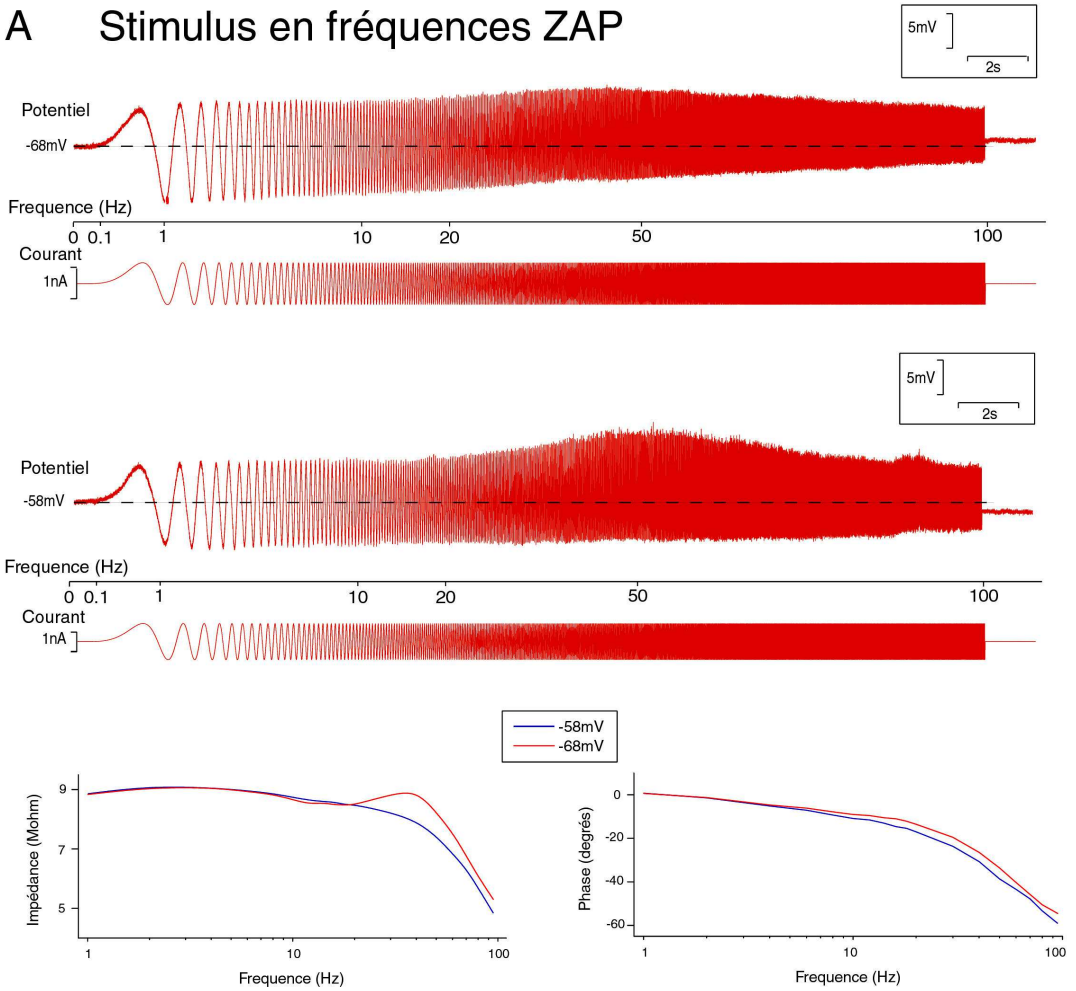
B Stimulus en fréquences discrètes



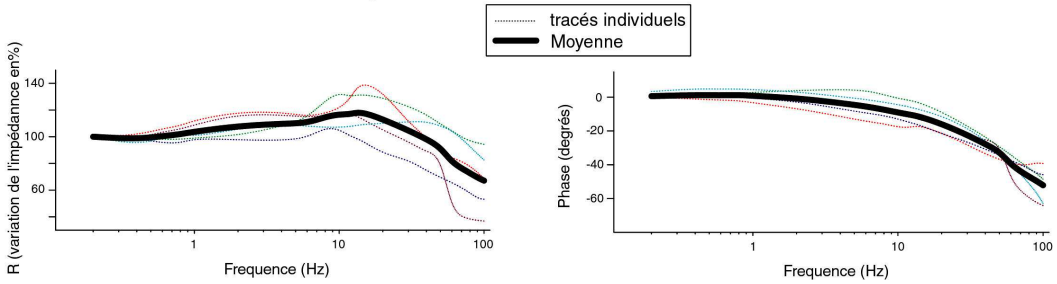
ANNEXE 2

Neurone phasique au seuil de résonance

A Stimulus en fréquences ZAP



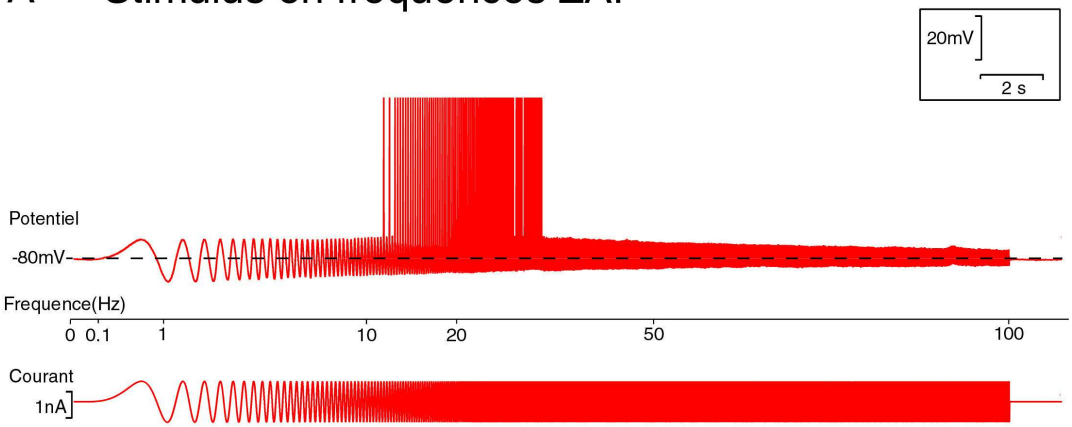
B Stimulus en fréquences discrètes



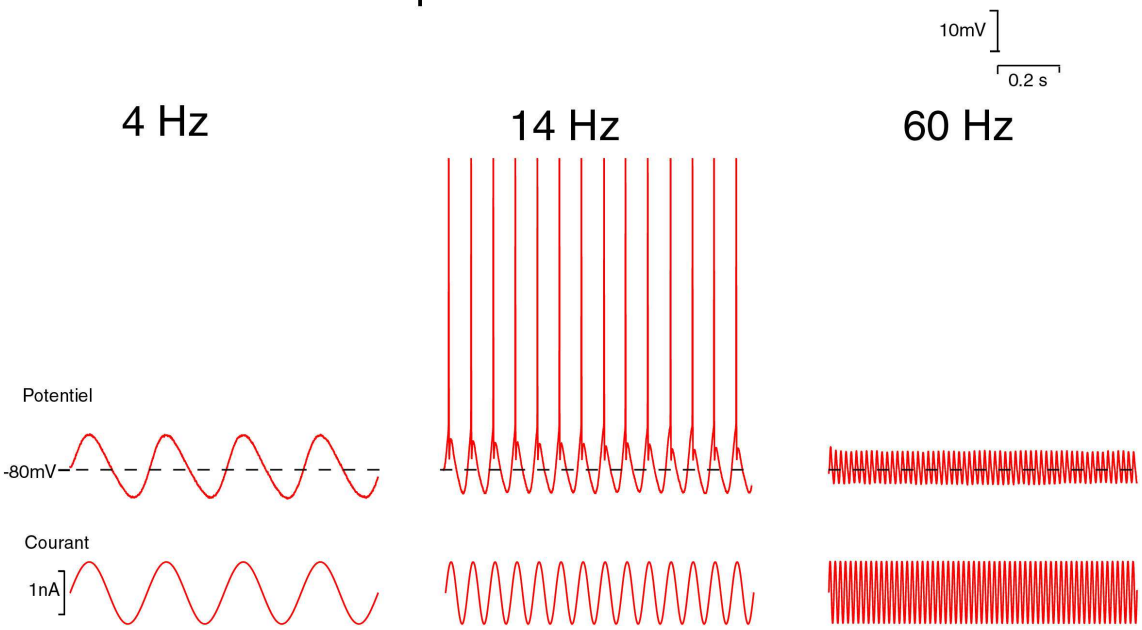
ANNEXE 3

Neurone phasique, au dessus du seuil de décharge

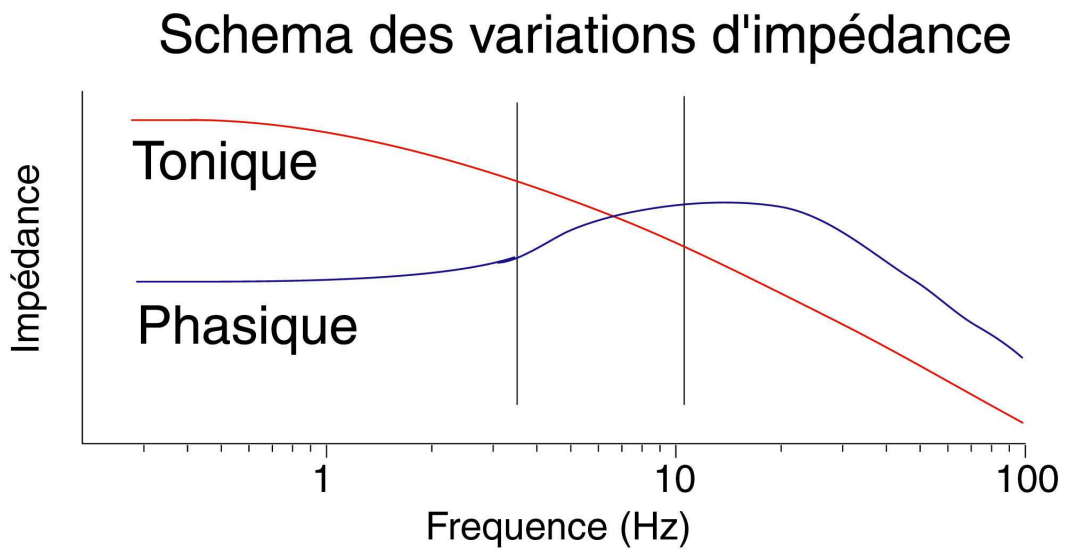
A Stimulus en fréquences ZAP

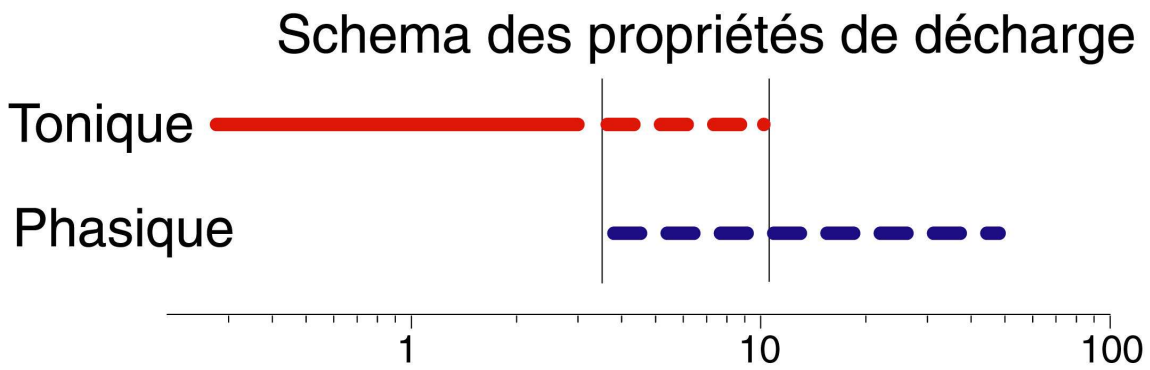


B Stimulus en fréquences discrètes



ANNEXE 4


Schema des variations d'impédance
Tonique
Phasique
Impédance
1
10
100
Frequence (Hz)


Schema des propriétés de décharge
Tonique
Phasique
1
10
100

ANNEXE 5

BIBLIOGRAPHIE

Aizenman, C. D. et D. J. Linden (2000). "Rapid, synaptically driven increases in the intrinsic excitability of cerebellar deep nuclear neurons." Nat Neurosci **3**(2): 109-11.

An, W. F., M. R. Bowlby, M. Betty, J. Cao, H. P. Ling, G. Mendoza, J. W. Hinson, K. I. Mattsson, B. W. Strassle, J. S. Trimmer et K. J. Rhodes (2000). "Modulation of A-type potassium channels by a family of calcium sensors." Nature **403**(6769): 553-6.

Angelaki, D. E. (1993). "Generation of two-dimensional spatial and temporal properties through spatiotemporal convergence between one-dimensional neurons." IEEE Trans Biomed Eng **40**(7): 686-92.

Angelaki, D. E. et J. D. Dickman (2000). "Spatiotemporal processing of linear acceleration: primary afferent and central vestibular neuron responses." J Neurophysiol **84**(4): 2113-32.

Angelaki, D. E. et A. A. Perachio (1993). "Contribution of irregular semicircular canal afferents to the horizontal vestibuloocular response during constant velocity rotation." J Neurophysiol **69**(3): 996-9.

Armano, S., P. Rossi, V. Taglietti et E. D'Angelo (2000). "Long-term potentiation of intrinsic excitability at the mossy fiber-granule cell synapse of rat cerebellum." J Neurosci **20**(14): 5208-16.

Aston-Jones, G., C. Chiang et T. Alexinsky (1991a). "Discharge of noradrenergic locus coeruleus neurons in behaving rats and monkeys suggests a role in vigilance." Prog Brain Res **88**: 501-20.

Aston-Jones, G., M. T. Shipley, G. Chouvet, M. Ennis, E. van Bockstaele, V. Pieribone, R. Shiekhattar, H. Akaoka, G. Drolet, B. Astier et et al. (1991b). "Afferent regulation of locus coeruleus neurons: anatomy, physiology and pharmacology." Prog Brain Res **88**: 47-75.

Av-Ron, E. et P. P. Vidal (1999). "Intrinsic membrane properties and dynamics of medial vestibular neurons: a simulation." Biol Cybern **80**(6): 383-92.

Azzena, G. B. (1969). "Role of the spinal cord in compensating the effects of hemilabyrinthectomy." Arch Ital Biol **107**: 43-53.

Baarsma, E. A. et H. Collewijn (1975). "Changes in compensatory eye movements after unilateral labyrinthectomy in the rabbit." Arch Otorhinolaryngol **211**(4): 219-30.

Babalian, A., N. Vibert, G. Assie, M. Serafin, M. Muhlethaler et P. P. Vidal (1997). "Central vestibular networks in the guinea-pig: functional characterization in the isolated whole brain in vitro." Neuroscience **81**(2): 405-26.

Babalian, A. L. et P. P. Vidal (2000). "Floccular modulation of vestibuloocular pathways and cerebellum-related plasticity: An in vitro whole brain study." J Neurophysiol **84**(5): 2514-28.

Baird, R. A. (1994a). "Comparative transduction mechanisms of hair cells in the bullfrog utriculus. I. Responses to intracellular current." J Neurophysiol **71**(2): 666-84.

Baird, R. A. (1994b). "Comparative transduction mechanisms of hair cells in the bullfrog utriculus. II. Sensitivity and response dynamics to hair bundle displacement." J Neurophysiol **71**(2): 685-705.

Baird, R. A., G. Desmadryl, C. Fernandez et J. M. Goldberg (1988). "The vestibular nerve of the chinchilla. II. Relation between afferent response properties and peripheral innervation patterns in the semicircular canals." J Neurophysiol **60**(1): 182-203.

Baird, R. A. et E. R. Lewis (1986). "Correspondences between afferent innervation patterns and response dynamics in the bullfrog utricle and lagena." Brain Res **369**(1-2): 48-64.

Baker, R. (1998). "From genes to behavior in the vestibular system." Otolaryngol Head Neck Surg **119**(3): 263-75.

Baker, R., C. Evinger et R. A. McCrea (1981). "Some thoughts about the three neurons in the vestibular ocular reflex." Ann N Y Acad Sci **374**: 171-88.

Baker, R. et E. Gilland (1996). The evolution of the hindbrain visual and vestibular innovations responsible for oculomotor function. Acquisition of motor behaviour in vertebrates system. J. Bloedel, T. Ebner et S. Wise. Cambridge, MIT Press**:** 29-55.

Balaban, C. D., M. Freilino et G. G. Romero (1999). "Protein kinase C inhibition blocks the early appearance of vestibular compensation." Brain Res **845**(1): 97-101.

Balaban, C. D. et G. G. Romero (1998). "A role of climbing fibers in regulation of flocculonodular lobe protein kinase C expression during vestibular compensation." Brain Res **804**(2): 253-65.

Banati, R. B. (2002). "Brain plasticity and microglia: is transsynaptic glial activation in the thalamus after limb denervation linked to cortical plasticity and central sensitisation?" J Physiol Paris **96**(3-4): 289-99.

Bao, H., W. H. Wong, J. M. Goldberg et R. A. Eatock (2003). "Voltage-gated calcium channel currents in type I and type II hair cells isolated from the rat crista." J Neurophysiol **90**(1): 155-64.

Barmack, N. H. (2003). "Central vestibular system: vestibular nuclei and posterior cerebellum." Brain Res Bull **60**(5-6): 511-41.

Barnes, G. R. (1993). "Visual-vestibular interaction in the control of head and eye movement: the role of visual feedback and predictive mechanisms." Prog Neurobiol **41**(4): 435-72.

Bechterew, W. (1883). "Ergebnisse der durchscneidung des N. acuticus, nebst erörterung der bedeutung der semicirculären canäle für das körpergleichgewicht." Pflügers Arch ges Physiol(30): 312-347.

Beraneck, M., M. Hachemaoui, E. Idoux, L. Ris, A. Uno, E. Godaux, P. P. Vidal, L. E. Moore et N. Vibert (2003). "Long-term plasticity of ipsilesional medial vestibular nucleus neurons after unilateral labyrinthectomy." J Neurophysiol **90**(1): 184-203.

Beraneck, M., E. Idoux, A. Uno, P. P. Vidal, L. E. Moore et N. Vibert (2004). "Unilateral labyrinthectomy modifies the membrane properties of contralesional vestibular neurons." J Neurophysiol.

Berthoz, A. (1989). "[Cooperation and substitution of the saccadic system and the reflexes of vestibular origin: should the "reflex" concept be revised?]." Rev Neurol **145**(8-9): 513-26.

Blanks, R. H., I. S. Curthoys et C. H. Markham (1975). "Planar relationships of the semicircular canals in man." Acta Otolaryngol **80**(3-4): 185-96.

Bliss, T. V. et G. L. Collingridge (1993). "A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus." Nature **361**(6407): 31-9.

Bliss, T. V. et T. Lomo (1973). "Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path." J Physiol **232**(2): 331-56.

Boyle, R., J. P. Carey et S. M. Highstein (1991). "Morphological correlates of response dynamics and efferent stimulation in horizontal semicircular canal afferents of the toadfish, Opsanus tau." J Neurophysiol **66**(5): 1504-21.

Boyle, R., J. M. Goldberg et S. M. Highstein (1992). "Inputs from regularly and irregularly discharging vestibular nerve afferents to secondary neurons in squirrel monkey vestibular nuclei. III. Correlation with vestibulospinal and vestibuloocular output pathways." J Neurophysiol **68**(2): 471-84.

Brandt, T., M. Strupp, V. Arbusow et N. Dieringer (1997). "Plasticity of the vestibular system: central compensation and sensory substitution for vestibular deficits." Adv Neurol **73**: 297-309.

Brichta, A. M., A. Aubert, R. A. Eatock et J. M. Goldberg (2002). "Regional analysis of whole cell currents from hair cells of the turtle posterior crista." J Neurophysiol **88**(6): 3259-78.

Brodal, A. (1974). Anatomy of the vestibular nuclei and their connections. Berlin, Springer.

Bronte-Stewart, H. M. et S. G. Lisberger (1994). "Physiological properties of vestibular primary afferents that mediate motor learning and normal performance of the vestibulo-ocular reflex in monkeys." J Neurosci **14**(3 Pt 1): 1290-308.

Brookes, G. B., M. Faldon, R. Kanayama, T. Nakamura et M. A. Gresty (1994). "Recovery from unilateral vestibular nerve section in human subjects evaluated by physiological, psychological and questionnaire assessments." Acta Otolaryngol Suppl **513**: 40-8.

Broussard, D. M., J. K. Bhatia et J. A. Hong (1999a). "The dynamics of the vestibulo-ocular reflex after peripheral vestibular damage. II. Comparison with dynamics after optically induced learning." Exp Brain Res **125**(3): 365-74.

Broussard, D. M., J. K. Bhatia et G. E. Jones (1999b). "The dynamics of the vestibulo-ocular reflex after peripheral vestibular damage. I. Frequency-dependent asymmetry." Exp Brain Res **125**(3): 353-64.

Buttner-Ennever, J. A., A. K. Horn, H. Scherberger et P. D'Ascanio (2001). "Motoneurons of twitch and nontwitch extraocular muscle fibers in the abducens, trochlear, and oculomotor nuclei of monkeys." J Comp Neurol **438**(3): 318-35.

Caleo, M. et L. Maffei (2002). "Neurotrophins and plasticity in the visual cortex." Neuroscientist **8**(1): 52-61.

Cameron, S. A. et M. B. Dutia (1997). "Cellular basis of vestibular compensation: changes in intrinsic excitability of MVN neurones." Neuroreport **8**(11): 2595-9.

Campos Torres, A., P. P. Vidal et C. de Waele (1999). "Evidence for a microglial reaction within the vestibular and cochlear nuclei following inner ear lesion in the rat." Neuroscience **92**(4): 1475-90.

Carew, T. J. (1996). "Molecular enhancement of memory formation." Neuron **16**(1): 5-8.

Carleton, S. C. et M. B. Carpenter (1983). "Afferent and efferent connections of the medial, inferior and lateral vestibular nuclei in the cat and monkey." Brain Res **278**(1-2): 29-51.

Carleton, S. C. et M. B. Carpenter (1984). "Distribution of primary vestibular fibers in the brainstem and cerebellum of the monkey." Brain Res **294**(2): 281-98.

Chan, Y. S., L. W. Chen, C. H. Lai, D. K. Shum, K. K. Yung et F. X. Zhang (2003). "Receptors of glutamate and neurotrophin in vestibular neuronal functions." J Biomed Sci **10**(6 Pt 1): 577-87.

Cirelli, C., M. Pompeiano, P. D'Ascanio, P. Arrighi et O. Pompeiano (1996). "c-fos Expression in the rat brain after unilateral labyrinthectomy and its relation to the uncompensated and compensated stages." Neuroscience **70**(2): 515-46.

Cline, H. T. (1991). "Activity-dependent plasticity in the visual systems of frogs and fish." Trends Neurosci **14**(3): 104-11.

Cohen, H., B. Cohen, T. Raphan et W. Waespe (1992). "Habituation and adaptation of the vestibuloocular reflex: a model of differential control by the vestibulocerebellum." Exp Brain Res **90**(3): 526-38.

Collin, C., C. Vicario-Abejon, M. E. Rubio, R. J. Wenthold, R. D. McKay et M. Segal (2001). "Neurotrophins act at presynaptic terminals to activate synapses among cultured hippocampal neurons." Eur J Neurosci **13**(7): 1273-82.

Correia, M. J. et D. G. Lang (1990). "An electrophysiological comparison of solitary type I and type II vestibular hair cells." Neurosci Lett **116**(1-2): 106-11.

Courjon, J. H., J. M. Flandrin, M. Jeannerod et R. Schmid (1982). "The role of the flocculus in vestibular compensation after hemilabyrinthectomy." Brain Res **239**(1): 251-7.

Courjon, J. H., M. Jeannerod, I. Ossuzio et R. Schmid (1977). "The role of vision in compensation of vestibulo ocular reflex after hemilabyrinthectomy in the cat." Exp Brain Res **28**(3-4): 235-48.

Cullen, K. E., C. Chen-Huang et R. A. McCrea (1993). "Firing behavior of brain stem neurons during voluntary cancellation of the horizontal vestibuloocular reflex. II. Eye movement related neurons." J Neurophysiol **70**(2): 844-56.

Cullen, K. E. et R. A. McCrea (1993). "Firing behavior of brain stem neurons during voluntary cancellation of the horizontal vestibuloocular reflex. I. Secondary vestibular neurons." J Neurophysiol **70**(2): 828-43.

Cullen, K. E. et J. E. Roy (2004). "Signal processing in the vestibular system during active versus passive head movements." J Neurophysiol **91**(5): 1919-33.

Curthoys, I. S. (1978). "Firing rate measurement." Electroencephalogr Clin Neurophysiol **45**(6): 793-4.

Curthoys, I. S. (1979). "The vestibulo-ocular reflex in newborn rats." Acta Otolaryngol **87**(5-6): 484-89.

Curthoys, I. S. (1982a). "Postnatal developmental changes in the response of rat primary horizontal semicircular canal neurons to sinusoidal angular accelerations." Exp Brain Res **47**(2): 295-300.

Curthoys, I. S. (1982b). "The response of primary horizontal semicircular canal neurons in the rat and guinea pig to angular acceleration." Exp Brain Res **47**(2): 286-94.

Curthoys, I. S. (2000). "Vestibular compensation and substitution." Curr Opin Neurol **13**(1): 27-30.

Curthoys, I. S., E. J. Curthoys, R. H. Blanks et C. H. Markham (1975). "The orientation of the semicircular canals in the guinea pig." Acta Otolaryngol **80**(3-4): 197-205.

Curthoys, I. S. et G. M. Halmagyi (1995). "Vestibular compensation: a review of the oculomotor, neural, and clinical consequences of unilateral vestibular loss." J Vestib Res **5**(2): 67-107.

Curthoys, I. S. et G. M. Halmagyi (1999). "Vestibular compensation." Adv Otorhinolaryngol **55**: 82-110.

Curtis, J. et S. Finkbeiner (1999). "Sending signals from the synapse to the nucleus: possible roles for CaMK, Ras/ERK, and SAPK pathways in the regulation of synaptic plasticity and neuronal growth." J Neurosci Res **58**(1): 88-95.

Darlington, C. L., M. B. Dutia et P. F. Smith (2002). "The contribution of the intrinsic excitability of vestibular nucleus neurons to recovery from vestibular damage." Eur J Neurosci **15**(11): 1719-27.

Darlington, C. L., J. P. Gallagher et P. F. Smith (1995). "In vitro electrophysiological studies of the vestibular nucleus complex." Prog Neurobiol **45**(4): 335-46.

Darlington, C. L. et P. F. Smith (1996). "The recovery of static vestibular function following peripheral vestibular lesions in mammals: the intrinsic mechanism hypothesis." J Vestib Res **6**(3): 185-201.

Darlington, C. L. et P. F. Smith (2000). "Molecular mechanisms of recovery from vestibular damage in mammals: recent advances." Prog Neurobiol **62**(3): 313-25.

Darlington, C. L., P. F. Smith et J. I. Hubbard (1989). "Neuronal activity in the guinea pig medial vestibular nucleus in vitro following chronic unilateral labyrinthectomy." Neurosci Lett **105**(1-2): 143-8.

Davis, G. W. et C. S. Goodman (1998). "Genetic analysis of synaptic development and plasticity: homeostatic regulation of synaptic efficacy." Curr Opin Neurobiol **8**(1): 149-56.

Davis, G. W. et R. K. Murphey (1994). "Long-term regulation of short-term transmitter release properties: retrograde signaling and synaptic development." Trends Neurosci **17**(1): 9-13.

de Waele, C., M. Abitbol, M. Chat, C. Menini, J. Mallet et P. P. Vidal (1994). "Distribution of glutamatergic receptors and GAD mRNA-containing neurons in the vestibular nuclei of normal and hemilabyrinthectomized rats." Eur J Neurosci **6**(4): 565-76.

de Waele, C., A. Campos Torres, P. Josset et P. P. Vidal (1996). "Evidence for reactive astrocytes in rat vestibular and cochlear nuclei following unilateral inner ear lesion." Eur J Neurosci **8**(9): 2006-18.

De Waele, C., W. Graf, P. Josset et P. P. Vidal (1989). "A radiological analysis of the postural syndromes following hemilabyrinthectomy and selective canal and otolith lesions in the guinea pig." Exp Brain Res **77**(1): 166-82.

de Waele, C., M. Muhlethaler et P. P. Vidal (1995). "Neurochemistry of the central vestibular pathways." Brain Res Brain Res Rev **20**(1): 24-46.

de Waele, C., M. Serafin, M. Mülhethaler et P. Vidal (1988). Vestibular compensation: an in vivo and in vitro study of second order vestibular neurons. Soc. Neurosc. Abstr. 14:331.

de Waele, C. et P. Tran Ba Huy (2001). Anatomie des voies vestibulaires centrales. Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS), Paris. Oto-rhino-laryngologie, **20-038-A-10:** 23 p.

de Waele, C. et N. Vibert (1993). Neurochimie des noyaux vestibulaires. Noyaux vestibulaires et vertiges. A. Berthoz et P.-P. Vidal. Paris, Arnette.

de Waele, C., N. Vibert, M. Baudrimont et P. P. Vidal (1990a). "NMDA receptors contribute to the resting discharge of vestibular neurons in the normal and hemilabyrinthectomized guinea pig." Exp Brain Res **81**(1): 125-33.

de Waele, C., P. P. Vidal, P. Tran Ba Huy et G. Freyss (1990b). "[Vestibular compensation. Review of the literature and clinical applications]." Ann Otolaryngol Chir Cervicofac **107**(5): 285-98.

Dechesne, C., J. Raymond et A. Sans (1984). "The efferent vestibular system in the cat: a horseradish peroxidase and fluorescent retrograde tracers study." Neuroscience **11**(4): 893-901.

Delgado-Garcia, J. M., F. del Pozo et R. Baker (1986a). "Behavior of neurons in the abducens nucleus of the alert cat--I. Motoneurons." Neuroscience **17**(4): 929-52.

Delgado-Garcia, J. M., F. del Pozo et R. Baker (1986b). "Behavior of neurons in the abducens nucleus of the alert cat--II. Internuclear neurons." Neuroscience **17**(4): 953-73.

Desai, N. (2003). "Homeostatic plasticity in the CNS: synaptic and intrinsic forms." Journal of Physiology-Paris **(in Press)**.

Desai, N. S., R. H. Cudmore, S. B. Nelson et G. G. Turrigiano (2002). "Critical periods for experience-dependent synaptic scaling in visual cortex." Nat Neurosci **5**(8): 783-9.

Desai, N. S., L. C. Rutherford et G. G. Turrigiano (1999). "Plasticity in the intrinsic excitability of cortical pyramidal neurons." Nat Neurosci **2**(6): 515-20.

Diaz, C. et J. C. Glover (2002). "Comparative aspects of the hodological organization of the vestibular nuclear complex and related neuron populations." Brain Res Bull **57**(3-4): 307-12.

Diaz, C., J. C. Glover, L. Puelles et J. G. Bjaalie (2003). "The relationship between hodological and cytoarchitectonic organization in the vestibular complex of the 11-day chicken embryo." J Comp Neurol **457**(1): 87-105.

Dickman, J. D. et D. E. Angelaki (2002). "Vestibular convergence patterns in vestibular nuclei neurons of alert primates." J Neurophysiol **88**(6): 3518-33.

Dickman, J. D. et Q. Fang (1996). "Differential central projections of vestibular afferents in pigeons." J Comp Neurol **367**(1): 110-31.

Dieringer, N. (1995). "'Vestibular compensation': neural plasticity and its relations to functional recovery after labyrinthine lesions in frogs and other vertebrates." Prog Neurobiol **46**(2-3): 97-129.

Dieringer, N. (2003). "Activity-related postlesional vestibular reorganization." Ann N Y Acad Sci **1004**: 50-60.

Dieringer, N., C. Pantle, I. Reichenberger et H. Straka (1996). "The synaptic organization of the horizontal vestibulo-ocular reflex in the frog." Acta Biol Hung **47**(1-4): 61-72.

Dieringer, N. et W. Precht (1986). "Functional organization of eye velocity and eye position signals in abducens motoneurons of the frog." Journal of comparative physiology(158): 179-194.

du Lac, S. et S. G. Lisberger (1995). "Cellular processing of temporal information in medial vestibular nucleus neurons." J Neurosci **15**(12): 8000-10.

Dunn, R. F. (1978). "Nerve fibers of the eighth nerve and their distribution to the sensory nerves of the inner ear in the bullfrog." J Comp Neurol **182**(4): 621-36.

Dupont, E., M. H. Canu et M. Falempin (2003). "A 14-day period of hindpaw sensory deprivation enhances the responsiveness of rat cortical neurons." Neuroscience **121**(2): 433-9.

Durand, J. (1989). "Electrophysiological and morphological properties of rat abducens motoneurones." Exp Brain Res **76**(1): 141-52.

Dutia, M. B. et A. R. Johnston (1998). "Development of action potentials and apamin-sensitive after-potentials in mouse vestibular nucleus neurones." Exp Brain Res **118**(2): 148-54.

Dutia, M. B., R. B. Lotto et A. R. Johnston (1995). "Post-natal development of tonic activity and membrane excitability in mouse medial vestibular nucleus neurones." Acta Otolaryngol Suppl **520**(Pt 1): 101-4.

Dykes, R. et Y. Lamour (1988). "Neurons without demonstrable receptive fields outnumber neurons having receptive fields in samples from the somatosensory cortex of anesthetized or paralyzed cats and rats." Brain Res **440**(1): 133-43.

Eatock, R. A., K. M. Hurley et M. A. Vollrath (2002). "Mechanoelectrical and voltage-gated ion channels in mammalian vestibular hair cells." Audiol Neurootol **7**(1): 31-5.

Eccles, J. (1965). "The Synapse." Sci Am **212**: 56-66.

Egorov, A. V., B. N. Hamam, E. Fransen, M. E. Hasselmo et A. A. Alonso (2002). "Graded persistent activity in entorhinal cortex neurons." Nature **420**(6912): 173-8.

Epema, A. H., N. M. Gerrits et J. Voogd (1988). "Commissural and intrinsic connections of the vestibular nuclei in the rabbit: a retrograde labeling study." Exp Brain Res **71**(1): 129-46.

Escudero, M. et P. P. Vidal (1996). "A quantitative study of electroencephalography, eye movements and neck electromyography characterizing the sleep-wake cycle of the guinea-pig." Eur J Neurosci **8**(3): 572-80.

Fenelon, V., Y. Le Feuvre, T. Bem et P. Meyrand (2003). "Maturation of rhythmic neural network: role of central modulatory inputs." J Physiol Paris **97**(1): 59-68.

Fenelon, V. S., B. Casasnovas, J. Simmers et P. Meyrand (1998). "Development of rhythmic pattern generators." Curr Opin Neurobiol **8**(6): 705-9.

Fernandez, C., R. A. Baird et J. M. Goldberg (1988). "The vestibular nerve of the chinchilla. I. Peripheral innervation patterns in the horizontal and superior semicircular canals." J Neurophysiol **60**(1): 167-81.

Fernandez, C., J. M. Goldberg et R. A. Baird (1990). "The vestibular nerve of the chinchilla. III. Peripheral innervation patterns in the utricular macula." J Neurophysiol **63**(4): 767-80.

Fernandez, C., A. Lysakowski et J. M. Goldberg (1995). "Hair-cell counts and afferent innervation patterns in the cristae ampullares of the squirrel monkey with a comparison to the chinchilla." J Neurophysiol **73**(3): 1253-69.

Fetter, M. et D. S. Zee (1988). "Recovery from unilateral labyrinthectomy in rhesus monkey." J Neurophysiol **59**(2): 370-93.

Fetter, M., D. S. Zee et L. R. Proctor (1988). "Effect of lack of vision and of occipital lobectomy upon recovery from unilateral labyrinthectomy in rhesus monkey." J Neurophysiol **59**(2): 394-407.

Figurov, A., L. D. Pozzo-Miller, P. Olafsson, T. Wang et B. Lu (1996). "Regulation of synaptic responses to high-frequency stimulation and LTP by neurotrophins in the hippocampus." Nature **381**(6584): 706-9.

Fitzsimonds, R. M. et M. M. Poo (1998). "Retrograde signaling in the development and modification of synapses." Physiol Rev **78**(1): 143-70.

Flock, A. (1977). Physiological properties of sensory hairs in the ear. Psychophysics and physiology of hearing. E. Evans et J. Wilson. London, Academic press.

Franklin, J. L., D. J. Fickbohm et A. L. Willard (1992). "Long-term regulation of neuronal calcium currents by prolonged changes of membrane potential." J Neurosci **12**(5): 1726-35.

Fritzsch, B. (2003). "Development of inner ear afferent connections: forming primary neurons and connecting them to the developing sensory epithelia." Brain Res Bull **60**(5-6): 423-33.

Fukushima, K. et C. R. Kaneko (1995). "Vestibular integrators in the oculomotor system." Neurosci Res **22**(3): 249-58.

Fukushima, K., C. R. Kaneko et A. F. Fuchs (1992). "The neuronal substrate of integration in the oculomotor system." Prog Neurobiol **39**(6): 609-39.

Furman, J. M., C. D. Balaban et I. F. Pollack (1997). "Vestibular compensation in a patient with a cerebellar infarction." Neurology **48**(4): 916-20.

Furuya, N., T. Yabe et T. Koizumi (1991). "Neurotransmitters regulating vestibular commissural inhibition in the cat." Acta Otolaryngol Suppl **481**: 205-8.

Gacek, R. R. (1960). Efferent component of the vestibular nerve. Neural mechanisms of the auditory and vestibular systems. R. G. e. W. WF. Springfield, Thomas**:** 276-284.

Gacek, R. R. (1969). "The course and central termination of first order neurons supplying vestibular endorgans in the cat." Acta Otolaryngol Suppl **254**: 1-66.

Gacek, R. R. (1978). "Location of commissural neurons in the vestibular nuclei of the cat." Exp Neurol **59**(3): 479-91.

Gacek, R. R. et U. Khetarpal (1998). "Neurotrophin 3, not brain-derived neurotrophic factor or neurotrophin 4, knockout mice have delay in vestibular compensation after unilateral labyrinthectomy." Laryngoscope **108**(5): 671-8.

Gacek, R. R., J. Schoonmaker et M. Lyon (1996). "Morphologic changes in contralateral superior vestibulo-ocular neurons following labyrinthectomy in the cat." Ann Otol Rhinol Laryngol **105**(10): 791-4.

Galante, M., D. Avossa, M. Rosato-Siri et L. Ballerini (2001). "Homeostatic plasticity induced by chronic block of AMPA/kainate receptors modulates the generation of rhythmic bursting in rat spinal cord organotypic cultures." Eur J Neurosci **14**(6): 903-17.

Galiana, H. L., H. L. Smith et A. Katsarkas (2001). "Modelling non-linearities in the vestibulo-ocular reflex (VOR) after unilateral or bilateral loss of peripheral vestibular function." Exp Brain Res **137**(3-4): 369-86.

Gall, D., C. Roussel, I. Susa, E. D'Angelo, P. Rossi, B. Bearzatto, M. C. Galas, D. Blum, S. Schurmans et S. N. Schiffmann (2003). "Altered neuronal excitability in cerebellar granule cells of mice lacking calretinin." J Neurosci **23**(28): 9320-7.

Gallagher, J. P., M. R. Lewis et P. S. Gallagher (1985). "An electrophysiological investigation of the rat medial vestibular nucleus in vitro." Prog Clin Biol Res **176**: 293-304.

Genlain, M., D. Nonclercq, G. Laurent, G. Toubeau, E. Godaux et L. Ris (2003). "Properties of neurons from the rat medial vestibular nucleus in microexplant culture." Neurosci Lett **338**(1): 45-8.

Giardino, L., M. Zanni, M. Fernandez, A. Battaglia, O. Pignataro et L. Calza (2002). "Plasticity of GABA(a) system during ageing: focus on vestibular compensation and possible pharmacological intervention." Brain Res **929**(1): 76-86.

Gilchrist, D. P., I. S. Curthoys, A. D. Cartwright, A. M. Burgess, A. N. Topple et M. Halmagyi (1998). "High acceleration impulsive rotations reveal severe long-term deficits of the horizontal vestibulo-ocular reflex in the guinea pig." Exp Brain Res **123**(3): 242-54.

Glover, J. C. (2000). "Neuroepithelial 'compartments' and the specification of vestibular projections." Prog Brain Res **124**: 3-21.

Glover, J. C. (2001). "Correlated patterns of neuron differentiation and Hox gene expression in the hindbrain: a comparative analysis." Brain Res Bull **55**(6): 683-93.

Goda, Y. et C. F. Stevens (1994). "Two components of transmitter release at a central synapse." Proc Natl Acad Sci U S A **91**(26): 12942-6.

Godaux, E., J. Halleux et C. Gobert (1983). "Adaptive change of the vestibulo-ocular reflex in the cat: the effects of a long-term frequency-selective procedure." Exp Brain Res **49**(1): 28-34.

Goldberg, J. M. (2000). "Afferent diversity and the organization of central vestibular pathways." Exp Brain Res **130**(3): 277-97.

Goldberg, J. M. et C. Fernandez (1980). "Efferent vestibular system in the squirrel monkey: anatomical location and influence on afferent activity." J Neurophysiol **43**(4): 986-1025.

Goldberg, J. M., S. M. Highstein, A. K. Moschovakis et C. Fernandez (1987). "Inputs from regularly and irregularly discharging vestibular nerve afferents to secondary neurons in the vestibular nuclei of the squirrel monkey. I. An electrophysiological analysis." J Neurophysiol **58**(4): 700-18.

Goldberg, J. M., C. E. Smith et C. Fernandez (1984). "Relation between discharge regularity and responses to externally applied galvanic currents in vestibular nerve afferents of the squirrel monkey." J Neurophysiol **51**(6): 1236-56.

Golowasch, J., L. F. Abbott et E. Marder (1999). "Activity-dependent regulation of potassium currents in an identified neuron of the stomatogastric ganglion of the crab Cancer borealis." J Neurosci **19**(20): RC33.

Goritz, C., D. H. Mauch, K. Nagler et F. W. Pfrieger (2002). "Role of glia-derived cholesterol in synaptogenesis: new revelations in the synapse-glia affair." J Physiol Paris **96**(3-4): 257-63.

Goto, F., H. Straka et N. Dieringer (2001). "Postlesional vestibular reorganization in frogs: evidence for a basic reaction pattern after nerve injury." J Neurophysiol **85**(6): 2643-6.

Goto, M. M., G. G. Romero et C. D. Balaban (1997). "Transient changes in flocculonodular lobe protein kinase C expression during vestibular compensation." J Neurosci **17**(11): 4367-81.

Graf, W. et K. Ezure (1986). "Morphology of vertical canal related second order vestibular neurons in the cat." Exp Brain Res **63**(1): 35-48.

Green, A. M. et H. L. Galiana (1998). "Hypothesis for shared central processing of canal and otolith signals." J Neurophysiol **80**(4): 2222-8.

Grossman, G. E., R. J. Leigh, L. A. Abel, D. J. Lanska et S. E. Thurston (1988). "Frequency and velocity of rotational head perturbations during locomotion." Exp Brain Res **70**(3): 470-6.

Gueritaud, J. P. (1988). "Electrical activity of rat ocular motoneurons recorded in vitro." Neuroscience **24**(3): 837-52.

Haddad, G. M., A. R. Friendlich et D. A. Robinson (1977). "Compensation of nystagmus after VIIIth nerve lesions in vestibulo-cerebellectomized cats." Brain Res **135**(1): 192-6.

Halmagyi, G. M., I. S. Curthoys, P. D. Cremer, C. J. Henderson, M. J. Todd, M. J. Staples et D. M. D'Cruz (1990). "The human horizontal vestibulo-ocular reflex in response to high- acceleration stimulation before and after unilateral vestibular neurectomy." Exp Brain Res **81**(3): 479-90.

Hausser, M. et B. Mel (2003). "Dendrites: bug or feature?" Curr Opin Neurobiol **13**(3): 372-83.

Hetman, M. et A. Gozdz (2004). "Role of extracellular signal regulated kinases 1 and 2 in neuronal survival." Eur J Biochem **271**(11): 2050-5.

Highstein, S. M., J. M. Goldberg, A. K. Moschovakis et C. Fernandez (1987a). "Inputs from regularly and irregularly discharging vestibular nerve afferents to secondary neurons in the vestibular nuclei of the squirrel monkey. II. Correlation with output pathways of secondary neurons." J Neurophysiol **58**(4): 719-38.

Highstein, S. M., J. M. Goldberg, A. K. Moschovakis et C. Fernandez (1987b). "Inputs from regularly and irregularly discharging vestibular nerve afferents to secondary neurons in the vestibular nuclei of the squirrel monkey. II. Correlation with output pathways of secondary neurons." J Neurophysiol **58**(4): 719-38.

Highstein, S. M., R. D. Rabbitt et R. Boyle (1996). "Determinants of semicircular canal afferent response dynamics in the toadfish, Opsanus tau." J Neurophysiol **75**(2): 575-96.

Him, A. et M. B. Dutia (2001). "Intrinsic excitability changes in vestibular nucleus neurons after unilateral deafferentation." Brain Res **908**(1): 58-66.

Honrubia, V., A. Kuruvilla, D. Mamikunian et J. E. Eichel (1987). "Morphological aspects of the vestibular nerve of the squirrel monkey." Laryngoscope **97**(2): 228-38.

Horii, A., P. F. Smith et C. L. Darlington (2001). "Quantitative changes in gene expression of glutamate receptor subunits/subtypes in the vestibular nucleus, inferior olive and flocculus before and following unilateral labyrinthectomy in the rat: real-time quantitative PCR method." Exp Brain Res **139**(2): 188-200.

Igarashi, M. et K. Ishikawa (1985). "Post-labyrinthectomy balance compensation with preplacement of cerebellar vermis lesion." Acta Otolaryngol **99**(3-4): 452-8.

Ito, J., I. Matsuoka, M. Sasa et S. Takaori (1985). "Commissural and ipsilateral internuclear connection of vestibular nuclear complex of the cat." Brain Res **341**(1): 73-81.

Ito, M., S. M. Highstein et J. Fukuda (1970). "Cerebellar inhibition of the vestibulo-ocular reflex in rabbit and cat and its blockage by picrotoxin." Brain Res **17**(3): 524-6.

Ito, M. et M. Kano (1982). "Long-lasting depression of parallel fiber-Purkinje cell transmission induced by conjunctive stimulation of parallel fibers and climbing fibers in the cerebellar cortex." Neurosci Lett **33**(3): 253-8.

Iwamoto, Y., T. Kitama et K. Yoshida (1990a). "Vertical eye movement-related secondary vestibular neurons ascending in medial longitudinal fasciculus in cat I. Firing properties and projection pathways." J Neurophysiol **63**(4): 902-17.

Iwamoto, Y., T. Kitama et K. Yoshida (1990b). "Vertical eye movement-related secondary vestibular neurons ascending in medial longitudinal fasciculus in cat. II. Direct connections with extraocular motoneurons." J Neurophysiol **63**(4): 918-35.

Jensen, D. W. (1979). "Vestibular compensation: tonic spinal influence upon spontaneous descending vestibular nuclear activity." Neuroscience **4**(8): 1075-84.

Jensen, D. W. (1983). "Survival of function in the deafferentated vestibular nerve." Brain Res **273**(1): 175-8.

Johnston, A. R. et M. B. Dutia (1996). "Postnatal development of spontaneous tonic activity in mouse medial vestibular nucleus neurones." Neurosci Lett **219**(1): 17-20.

Johnston, A. R., A. Him et M. B. Dutia (2001). "Differential regulation of GABA(A) and GABA(B) receptors during vestibular compensation." Neuroreport **12**(3): 597-600.

Johnston, A. R., N. K. MacLeod et M. B. Dutia (1994). "Ionic conductances contributing to spike repolarization and after-potentials in rat medial vestibular nucleus neurones." J Physiol **481 (Pt 1)**: 61-77.

Jonas, E. A. et L. K. Kaczmarek (1996). "Regulation of potassium channels by protein kinases." Curr Opin Neurobiol **6**(3): 318-23.

Kaas, J. H., M. M. Merzenich et H. P. Killackey (1983). "The reorganization of somatosensory cortex following peripheral nerve damage in adult and developing mammals." Annu Rev Neurosci **6**: 325-56.

Kandel, E. R., J. H. Schwartz et T. M. Jessel (2003). Principles of Neural Science, McGraw-Hill.

Kang, H. J. et E. M. Schuman (1995). "Neurotrophin-induced modulation of synaptic transmission in the adult hippocampus." J Physiol Paris **89**(1): 11-22.

Kasahara, M. et Y. Uchino (1974). "Bilateral semicircular canal inputs to neurons in cat vestibular nuclei." Exp Brain Res **20**(3): 285-96.

Katz, L. C. et C. J. Shatz (1996). "Synaptic activity and the construction of cortical circuits." Science **274**(5290): 1133-8.

Kaur, S., R. N. Saxena et B. N. Mallick (2001). "GABAergic neurons in prepositus hypoglossi regulate REM sleep by its action on locus coeruleus in freely moving rats." Synapse **42**(3): 141-50.

Kawato, M. et H. Gomi (1992). "The cerebellum and VOR/OKR learning models." Trends Neurosci **15**(11): 445-53.

Kerr, D. R., A. J. Sansom, P. F. Smith et C. L. Darlington (2000). "Comparison of protein kinase activity and protein phosphorylation in the medial vestibular nucleus and prepositus hypoglossi in labyrinthine-intact and labyrinthectomized guinea pigs." J Vestib Res **10**(2): 107-17.

Kevetter, G. A. (1996). "Pattern of selected calcium-binding proteins in the vestibular nuclear complex of two rodent species." J Comp Neurol **365**(4): 575-84.

King, J., Y. Zheng, P. Liu, C. L. Darlington et P. F. Smith (2002). "NMDA and AMPA receptor subunit protein expression in the rat vestibular nucleus following unilateral labyrinthectomy." Neuroreport **13**(12): 1541-5.

Kitahara, T., N. Takeda, T. Kubo et H. Kiyama (1998a). "An implication of protein phosphatase 2A-beta in the rat flocculus for lesion-induced vestibular plasticity." Acta Otolaryngol **118**(5): 685-91.

Kitahara, T., N. Takeda, A. Uno, T. Kubo, M. Mishina et H. Kiyama (1998b). "Unilateral labyrinthectomy downregulates glutamate receptor delta-2 expression in the rat vestibulocerebellum." Brain Res Mol Brain Res **61**(1-2): 170-8.

Klinke, R. et N. Galley (1974). "Efferent innervation of vestibular and auditory receptors." Physiol Rev **54**(2): 316-57.

Korte, G. E. (1979). "The brainstem projection of the vestibular nerve in the cat." J Comp Neurol **184**(2): 279-92.

Kushiro, K., M. Zakir, H. Sato, S. Ono, Y. Ogawa, H. Meng, X. Zhang et Y. Uchino (2000). "Saccular and utricular inputs to single vestibular neurons in cats." Exp Brain Res **131**(4): 406-15.

Lacour, M. et L. Borel (1993). Noyaux vestibulaires et contrôle postural. Noyaux vestibulaires et vertiges. A. Berthoz et P.-P. Vidal. Paris, Arnette**:** 117-151.

Lacour, M., J. P. Roll et M. Appaix (1976). "Modifications and development of spinal reflexes in the alert baboon (Papio papio) following an unilateral vestibular neurotomy." Brain Res **113**(2): 255-69.

Lacour, M., P. P. Vidal et C. Xerri (1981). "Visual influences on vestibulospinal reflexes during vertical linear motion in normal and hemilabyrinthectomized monkeys." Exp Brain Res **43**(3-4): 383-94.

Lacour, M. et C. Xerri (1981). Vestibular compensation : new perspectives. Neuronal plasticity in sensorymotor systems : mechanisms of recovery from lesion. H. Flohr. Berlin, Springer, Verlag**:** 240-253.

Lamour, Y. et R. W. Dykes (1988). "Somatosensory neurons in partially deafferented rat hindlimb granular cortex subsequent to transection of the sciatic nerve: effects of glutamate and acetylcholine." Brain Res **449**(1-2): 18-33.

Langmann, J. (1984). Développement humain, normal et pathologique. Paris.

Lannou, J., W. Precht et L. Cazin (1979). "The postnatal development of functional properties of central vestibular neurons in the rat." Brain Res **175**(2): 219-32.

Lannou, J., W. Precht et L. Cazin (1980). "Development of optokinetic responses in vestibular nuclear neurons in the young rat." Brain Res **202**(1): 217-22.

Lasker, D. M., T. E. Hullar et L. B. Minor (2000). "Horizontal vestibuloocular reflex evoked by high-acceleration rotations in the squirrel monkey. III. Responses after labyrinthectomy." J Neurophysiol **83**(5): 2482-96.

Le Feuvre, Y., V. S. Fenelon et P. Meyrand (2001). "Ontogeny of modulatory inputs to motor networks: early established projection and progressive neurotransmitter acquisition." J Neurosci **21**(4): 1313-26.

LeMasson, G., E. Marder et L. F. Abbott (1993). "Activity-dependent regulation of conductances in model neurons." Science **259**(5103): 1915-7.

Lewis, E. R. et C. W. Li (1973). "Evidence concerning the morphogenesis of saccular receptors in the bullfrog (Rana catesbeiana)." J Morphol **139**(3): 351-61.

Lewis, M. R., J. P. Gallagher et P. Shinnick-Gallagher (1987). "An in vitro brain slice preparation to study the pharmacology of central vestibular neurons." J Pharmacol Methods **18**(3): 267-73.

Lewis, M. R., K. D. Phelan, P. Shinnick-Gallagher et J. P. Gallagher (1989). "Primary afferent excitatory transmission recorded intracellularly in vitro from rat medial vestibular neurons." Synapse **3**(2): 149-53.

Li, M., M. Jia, R. D. Fields et P. G. Nelson (1996). "Modulation of calcium currents by electrical activity." J Neurophysiol **76**(4): 2595-607.

Li, Y. X., W. Tokuyama, H. Okuno, Y. Miyashita et T. Hashimoto (2001). "Differential induction of brain-derived neurotrophic factor mRNA in rat inferior olive subregions following unilateral labyrinthectomy." Neuroscience **106**(2): 385-94.

Lim, K. C., S. T. Lim et H. J. Federoff (2003). "Neurotrophin secretory pathways and synaptic plasticity." Neurobiol Aging **24**(8): 1135-45.

Lisberger, S. G., F. A. Miles et L. M. Optican (1983). "Frequency-selective adaptation: evidence for channels in the vestibulo-ocular reflex?" J Neurosci **3**(6): 1234-44.

Llinas, R. et K. Walton (1979a). Vestibular compensation a distributed property of the central nervous system. Integration in the Nervous System. Wilson. Tokio, Igaku Shoin**:** 145-166.

Llinas, R. et K. Walton (1979b). Vestibular compensation: a distributed property of the central nervous system. Integration in the nervous system. H. Asanuma et V. Wilson. Tokyo, Igaku Shoin.

Llinas, R. R. (1988). "The intrinsic electrophysiological properties of mammalian neurons: insights into central nervous system function." Science **242**(4886): 1654-64.

Lowenstein, O. et R. D. Saunders (1975). "Otolith-controlled responses from the first-order neurons of the labyrinth of the bullfrog (Rana catesbeiana) to changes in linear acceleration." Proc R Soc Lond B Biol Sci **191**(1105): 475-505.

Luyten, W. H., F. R. Sharp et A. F. Ryan (1986). "Regional differences of brain glucose metabolic compensation after unilateral labyrinthectomy in rats: a [14C]2-deoxyglucose study." Brain Res **373**(1-2): 68-80.

Lysakowski, A., L. B. Minor, C. Fernandez et J. M. Goldberg (1995). "Physiological identification of morphologically distinct afferent classes innervating the cristae ampullares of the squirrel monkey." J Neurophysiol **73**(3): 1270-81.

Maeda, M., H. Shimazu et Y. Shinoda (1972). "Nature of synaptic events in cat abducens motoneurons at slow and quick phase of vestibular nystagmus." J Neurophysiol **35**(3): 279-96.

Maffei, L. (2002). "Plasticity in the visual system: role of neurotrophins and electrical activity." Arch Ital Biol **140**(4): 341-6.

Magnusson, A. K., B. Eriksson et R. Tham (1998). "Effects of the GABA agonists baclofen and THIP on long-term compensation in hemilabyrinthectomised rats." Brain Res **795**(1-2): 307-11.

Magnusson, A. K., S. Lindstrom et R. Tham (2000). "GABA(B) receptors contribute to vestibular compensation after unilateral labyrinthectomy in pigmented rats." Exp Brain Res **134**(1): 32-41.

Magnusson, A. K., M. Ulfendahl et R. Tham (2002). "Early compensation of vestibulo-oculomotor symptoms after unilateral vestibular loss in rats is related to GABA(B) receptor function." Neuroscience **111**(3): 625-34.

Majewski, H. et L. Iannazzo (1998). "Protein kinase C: a physiological mediator of enhanced transmitter output." Prog Neurobiol **55**(5): 463-75.

Maklad, A. et B. Fritzsch (2003). "Development of vestibular afferent projections into the hindbrain and their central targets." Brain Res Bull **60**(5-6): 497-510.

Marder, E., L. F. Abbott, G. G. Turrigiano, Z. Liu et J. Golowasch (1996). "Memory from the dynamics of intrinsic membrane currents." Proc Natl Acad Sci U S A **93**(24): 13481-6.

Marlinski, V., M. Plotnik et J. M. Goldberg (2004). "Efferent Actions in the Chinchilla Vestibular Labyrinth." J Assoc Res Otolaryngol.

Matsuoka, I., E. F. Domino et M. Morimoto (1973). "Adrenergic and cholinergic mechanisms of single vestibular neurons in the cat." Adv Otorhinolaryngol **19**: 164-78.

McCabe, B. F. et J. H. Ryu (1969). "Experiments on vestibular compensation." Laryngoscope **79**(10): 1728-36.

McCall, M. A., R. G. Gregg, R. R. Behringer, M. Brenner, C. L. Delaney, E. J. Galbreath, C. L. Zhang, R. A. Pearce, S. Y. Chiu et A. Messing (1996). "Targeted deletion in astrocyte intermediate filament (Gfap) alters neuronal physiology." Proc Natl Acad Sci U S A **93**(13): 6361-6.

McCrea, R. A. et H. Luan (2003). "Signal processing of semicircular canal and otolith signals in the vestibular nuclei during passive and active head movements." Ann N Y Acad Sci **1004**: 169-82.

McCrea, R. A., K. Yoshida, A. Berthoz et R. Baker (1980). "Eye movement related activity and morphology of second order vestibular neurons terminating in the cat abducens nucleus." Exp Brain Res **40**(4): 468-73.

Mehler, W. et J. Rubertone (1986). Anatomy of the vestibular nucleus complex. The rat nervous system. G. PAXINOS. New-york, Academic press**:** 185-219.

Mensinger, A. F., J. P. Carey, R. Boyle et S. M. Highstein (1997). "Differential central projections of physiologically characterized horizontal semicircular canal vestibular nerve afferents in the toadfish, Opsanus tau." J Comp Neurol **384**(1): 71-85.

Mettens, P., G. Cheron et E. Godaux (1994). "Involvement of the N-methyl-D-aspartate receptors of the vestibular nucleus in the gaze-holding system of the cat." Neurosci Lett **174**(2): 209-12.

Minor, L. B. et J. M. Goldberg (1991). "Vestibular-nerve inputs to the vestibulo-ocular reflex: a functional-ablation study in the squirrel monkey." J Neurosci **11**(6): 1636-48.

Minor, L. B., D. M. Lasker, D. D. Backous et T. E. Hullar (1999). "Horizontal vestibuloocular reflex evoked by high-acceleration rotations in the squirrel monkey. I. Normal responses." J Neurophysiol **82**(3): 1254-70.

Mizrahi, A., P. S. Dickinson, P. Kloppenburg, V. Fenelon, D. J. Baro, R. M. Harris-Warrick, P. Meyrand et J. Simmers (2001). "Long-term maintenance of channel distribution in a central pattern generator neuron by neuromodulatory inputs revealed by decentralization in organ culture." J Neurosci **21**(18): 7331-9.

Moore, L. E., M. Hachemaoui, E. Idoux, N. Vibert et P. P. Vidal (2004). "The linear and non-linear relationships between action potential discharge rate and membrane potential in model vestibular neurons." Journal of Nonlinear studies **in press**.

Murai, N., J. Tsuji, J. Ito, M. Mishina et T. Hirano (2003). "Vestibular compensation in glutamate receptor delta-2 subunit knockout mice: dynamic property of vestibulo-ocular reflex." Eur Arch Otorhinolaryngol.

Murphy, G. J. et S. Du Lac (2001). "Postnatal development of spike generation in rat medial vestibular nucleus neurons." J Neurophysiol **85**(5): 1899-906.

Naito, Y., A. Newman, W. S. Lee, K. Beykirch et V. Honrubia (1995). "Projections of the individual vestibular end-organs in the brain stem of the squirrel monkey." Hear Res **87**(1-2): 141-55.

Nelson, A. B., C. M. Krispel, C. Sekirnjak et S. du Lac (2003). "Long-lasting increases in intrinsic excitability triggered by inhibition." Neuron **40**(3): 609-20.

Newlands, S. D., G. A. Kevetter et A. A. Perachio (1989). "A quantitative study of the vestibular commissures in the gerbil." Brain Res **487**(1): 152-7.

Newlands, S. D. et A. A. Perachio (1990a). "Compensation of horizontal canal related activity in the medial vestibular nucleus following unilateral labyrinth ablation in the decerebrate gerbil. I. Type I neurons." Exp Brain Res **82**(2): 359-72.

Newlands, S. D. et A. A. Perachio (1990b). "Compensation of horizontal canal related activity in the medial vestibular nucleus following unilateral labyrinth ablation in the decerebrate gerbil. II. Type II neurons." Exp Brain Res **82**(2): 373-83.

Newlands, S. D. et A. A. Perachio (2003). "Central projections of the vestibular nerve: a review and single fiber study in the Mongolian gerbil." Brain Res Bull **60**(5-6): 475-95.

Newman, E. A. et K. R. Zahs (1997). "Calcium waves in retinal glial cells." Science **275**(5301): 844-7.

Obata, K. et S. M. Highstein (1970). "Blocking by picrotoxin of both vestibular inhibition and GABA action on rabbit oculomotor neurones." Brain Res **18**(3): 538-41.

O'Brien, R. J., S. Kamboj, M. D. Ehlers, K. R. Rosen, G. D. Fischbach et R. L. Huganir (1998). "Activity-dependent modulation of synaptic AMPA receptor accumulation." Neuron **21**(5): 1067-78.

Park, J. J., Y. Tang, I. Lopez et A. Ishiyama (2001). "Unbiased estimation of human vestibular ganglion neurons." Ann N Y Acad Sci **942**: 475-8.

Peterson, E. H. (1998). "Are There Parallel Channels in the Vestibular Nerve?" News Physiol Sci **13**: 194-201.

Peusner, K. D., G. Gamkrelidze et C. Giaume (1998). "Potassium currents and excitability in second-order auditory and vestibular neurons." J Neurosci Res **53**(5): 511-20.

Peusner, K. D. et C. Giaume (1989). "Electrophysiological study of the tangential vestibular nucleus of the chick embryo "in vitro"." Exp Brain Res **74**(1): 80-8.

Plotnik, M., V. Marlinski et J. M. Goldberg (2001). "Efferent-mediated binaural interactions between the vestibular end-organs in the chinchilla." Ann N Y Acad Sci **942**: 479-81.

Poo, M. M. (2001). "Neurotrophins as synaptic modulators." Nat Rev Neurosci **2**(1): 24-32.

Pozzo, T., A. Berthoz et L. Lefort (1990). "Head stabilization during various locomotor tasks in humans. I. Normal subjects." Exp Brain Res **82**(1): 97-106.

Precht, W., R. Baker et Y. Okada (1973). "Evidence for GABA as the synaptic transmitter of the inhibitory vestibulo-ocular pathway." Exp Brain Res **18**(4): 415-28.

Precht, W., R. Llinas et M. Clarke (1971). "Physiological responses of frog vestibular fibers to horizontal angular rotation." Exp Brain Res **13**(4): 378-407.

Precht, W. et H. Shimazu (1965). "Functional connections of tonic and kinetic vestibular neurons with primary vestibular afferents." J Neurophysiol **28**(6): 1014-28.

Precht, W., H. Shimazu et C. H. Markham (1966). "A mechanism of central compensation of vestibular function following hemilabyrinthectomy." J Neurophysiol **29**(6): 996-1010.

Priesol, A. J., G. E. Jones, R. D. Tomlinson et D. M. Broussard (2000). "Frequency-dependent effects of glutamate antagonists on the vestibulo-ocular reflex of the cat." Brain Res **857**(1-2): 252-64.

Putkonen, P. T., J. H. Courjon et M. Jeannerod (1977). "Compensation of postural effects of hemilabyrinthectomy in the cat. A sensory substitution process?" Exp Brain Res **28**(3-4): 249-57.

Puyal, J., G. Devau, S. Venteo, N. Sans et J. Raymond (2002). "Calcium-binding proteins map the postnatal development of rat vestibular nuclei and their vestibular and cerebellar projections." J Comp Neurol **451**(4): 374-91.

Quadroni, R. et T. Knopfel (1994). "Compartmental models of type A and type B guinea pig medial vestibular neurons." J Neurophysiol **72**(4): 1911-24.

Rabbath, G., I. Vassias, P. P. Vidal et C. de Waele (2002). "GluR2-R4 AMPA subunit study in rat vestibular nuclei after unilateral labyrinthectomy: an in situ and immunohistochemical study." Neuroscience **111**(1): 189-206.

Raivich, G., M. Bohatschek, C. U. Kloss, A. Werner, L. L. Jones et G. W. Kreutzberg (1999a). "Neuroglial activation repertoire in the injured brain: graded response, molecular mechanisms and cues to physiological function." Brain Res Brain Res Rev **30**(1): 77-105.

Raivich, G., L. L. Jones, A. Werner, H. Bluthmann, T. Doetschmann et G. W. Kreutzberg (1999b). "Molecular signals for glial activation: pro- and anti-inflammatory cytokines in the injured brain." Acta Neurochir Suppl (Wien) **73**: 21-30.

Raphan, T., V. Matsuo et B. Cohen (1979). "Velocity storage in the vestibulo-ocular reflex arc (VOR)." Exp Brain Res **35**(2): 229-48.

Raymond, J. (1993). Neuro-anatomie et neurotransmetteurs des noyaux vestibulaires. Noyaux vestibulaires et vertiges. A. Berthoz et P.-P. Vidal. paris, Arnette**:** 47-66.

Raymond, J., L. Ez-Zaher, D. Demêmes et M. Lacour (1991). "Quantification of synaptic density changes in the medial vestibular nucleus of the cat following vestibular neurectomy." Restorative Neurology and Neuroscience(3): 197-203.

Reber-Pelle, A. (1984). "Postnatal development of pretectal and NRTP neuron responses to optokinetic stimulation in the rat." Brain Res **314**(1): 111-20.

Rennie, K. J. et J. F. Ashmore (1991). "Ionic currents in isolated vestibular hair cells from the guinea-pig crista ampullaris." Hear Res **51**(2): 279-91.

Richter, E. (1980). "Quantitative study of human Scarpa's ganglion and vestibular sensory epithelia." Acta Otolaryngol **90**(3-4): 199-208.

Richter, E. et H. Spoendlin (1981). "Scarpa's ganglion in the cat." Acta Otolaryngol **92**(5-6): 423-31.

Richter-Levin, G. et I. Akirav (2003). "Emotional tagging of memory formation--in the search for neural mechanisms." Brain Res Brain Res Rev **43**(3): 247-56.

Ried, S., C. Maioli et W. Precht (1984). "Vestibular nuclear neuron activity in chronically hemilabyrinthectomized cats." Acta Otolaryngol **98**(1-2): 1-13.

Ris, L., B. Capron, C. de Waele, P. P. Vidal et E. Godaux (1997a). "Dissociations between behavioural recovery and restoration of vestibular activity in the unilabyrinthectomized guinea-pig." J Physiol **500**(Pt 2): 509-22.

Ris, L., B. Capron, C. de Waele, P. P. Vidal et E. Godaux (1997b). "Dissociations between behavioural recovery and restoration of vestibular activity in the unilabyrinthectomized guinea-pig." J Physiol **500 (Pt 2)**: 509-22.

Ris, L., B. Capron, N. Vibert, P. P. Vidal et E. Godaux (2001a). "Modification of the pacemaker activity of vestibular neurons in brainstem slices during vestibular compensation in the guinea pig." Eur J Neurosci **13**(12): 2234-40.

Ris, L., C. de Waele, M. Serafin, P. P. Vidal et E. Godaux (1995). "Neuronal activity in the ipsilateral vestibular nucleus following unilateral labyrinthectomy in the alert guinea pig." J Neurophysiol **74**(5): 2087-99.

Ris, L. et E. Godaux (1998a). "Neuronal activity in the vestibular nuclei after contralateral or bilateral labyrinthectomy in the alert guinea pig." J Neurophysiol **80**(5): 2352-67.

Ris, L. et E. Godaux (1998b). "Spike discharge regularity of vestibular neurons in labyrinthectomized guinea pigs." Neurosci Lett **253**(2): 131-4.

Ris, L., M. Hachemaoui et E. Godaux (2002). "Effect of labyrinthectomy on the spike generator of vestibular neurons in the guinea pig." Neuroreport **13**(15): 1875-9.

Ris, L., M. Hachemaoui, N. Vibert, E. Godaux, P. P. Vidal et L. E. Moore (2001b). "Resonance of spike discharge modulation in neurons of the guinea pig medial vestibular nucleus." J Neurophysiol **86**(2): 703-16.

Ris, L., S. Saussez, N. Gerrits, E. Godaux et R. Pochet (1999a). "The subdivisions of the guinea pig vestibular complex revealed by acetylcholinesterase staining." J Vestib Res **9**(2): 73-81.

Ris, L., R. Wattiez, P. Falmagne et E. Godaux (1999b). "Changes in protein expression in the vestibular nuclei during vestibular compensation." Neuroreport **10**(16): 3333-9.

Ris, L., R. Wattiez, C. Waele, P. P. Vidal et E. Godaux (1998). "Reappearance of activity in the vestibular neurones of labyrinthectomized guinea-pigs is not delayed by cycloheximide." J Physiol **512 (Pt 2)**: 533-41.

Robinson, D. A. (1975). Oculomotor control signals. Basic Mechanisms of Ocular Motility and their Clinical Implications. P. Bach-Y-Rita et G. Lennestrand. Oxford, Pergamon Press. **24:** 337-374.

Rohregger, M. et N. Dieringer (2002). "Principles of linear and angular vestibuloocular reflex organization in the frog." J Neurophysiol **87**(1): 385-98.

Rohregger, M. et N. Dieringer (2003). "Postlesional vestibular reorganization improves the gain but impairs the spatial tuning of the maculo-ocular reflex in frogs." J Neurophysiol **90**(6): 3736-49.

Rossi, M. L., M. Martini, B. Pelucchi et R. Fesce (1994). "Quantal nature of synaptic transmission at the cytoneural junction in the frog labyrinth." J Physiol **478 (Pt 1)**: 17-35.

Roy, J. E. et K. E. Cullen (2002). "Vestibuloocular reflex signal modulation during voluntary and passive head movements." J Neurophysiol **87**(5): 2337-57.

Roy, J. E. et K. E. Cullen (2004). "Dissociating self-generated from passively applied head motion: neural mechanisms in the vestibular nuclei." J Neurosci **24**(9): 2102-11.

Rusch, A., A. Lysakowski et R. A. Eatock (1998). "Postnatal development of type I and type II hair cells in the mouse utricle: acquisition of voltage-gated conductances and differentiated morphology." J Neurosci **18**(18): 7487-501.

Sans, A., J. Raymond et R. Marty (1972). "[Projections of the cristae ampullares and utricle into the primary vestibular nuclei. Microphysiological study and anatomo-functional correlations]." Brain Res **44**(2): 337-55.

Sans, N., B. Moniot et J. Raymond (1995). "Distribution of calretinin mRNA in the vestibular nuclei of rat and guinea pig and the effects of unilateral labyrinthectomy: a non-radioactive in situ hybridization study." Brain Res Mol Brain Res **28**(1): 1-11.

Sansom, A. J., V. A. Brent, P. E. Jarvie, C. L. Darlington, P. F. Smith, R. Laverty et J. A. Rostas (1997). "In vitro phosphorylation of medial vestibular nucleus and prepositus hypoglossi proteins during behavioural recovery from unilateral vestibular deafferentation in the guinea pig." Brain Res **778**(1): 166-77.

Sansom, A. J., P. F. Smith, C. L. Darlington et R. Laverty (2000). "The effects of protein kinase C and calmodulin kinase II inhibitors on vestibular compensation in the guinea pig." Brain Res **882**(1-2): 45-54.

Sarkisian, V. H. (2000). "Input-output relations of Deiters' lateral vestibulospinal neurons with different structures of the brain." Arch Ital Biol **138**(4): 295-353.

Sasa, M., S. Takeshita, T. Amano et K. Kurisu (2001). "Primary neurotransmitters and regulatory substances onto vestibular nucleus neurons." Biol Sci Space **15**(4): 371-4.

Sato, F. et H. Sasaki (1993). "Morphological correlations between spontaneously discharging primary vestibular afferents and vestibular nucleus neurons in the cat." J Comp Neurol **333**(4): 554-66.

Sato, F., H. Sasaki, N. Ishizuka, S. Sasaki et H. Mannen (1989). "Morphology of single primary vestibular afferents originating from the horizontal semicircular canal in the cat." J Comp Neurol **290**(3): 423-39.

Sato, H., M. Imagawa, K. Kushiro, M. Zakir et Y. Uchino (2000). "Convergence of posterior semicircular canal and saccular inputs in single vestibular nuclei neurons in cats." Exp Brain Res **131**(3): 253-61.

Schaefer, K. et D. Meyer (1974a). Compensation of vestibular lesions. Handbook of sensory physiology. H. Komhuber. Berlin, Springer.

Schaefer, K. P. et D. L. Meyer (1973). Compensatory mechanisms following labyrinthine lesions in the guinea-pig. A simple model of learning. Memory and transfer of information. H. P. Zippel. New York-London, Plenum Press.

Schaefer, K. P. et D. L. Meyer (1974b). Compensation of vestibular lesions. Handbook of Sensory Physiology. H. H. Kornhuber. Berlin, Springer**:** 463-490.

Schaefer, K. P., D. L. Meyer et G. Wilhelms (1979). "Somatosensory and cerebellar influences on compensation of labyrinthine lesions." Prog Brain Res **50**: 591-8.

Schneider, D. (1954). "Das geschitsfeld und der fixiervorgang bei einheimischen anuren." Zeitschr vergl physiol(36): 147-164.

Schubert, M. C. et L. B. Minor (2004). "Vestibulo-ocular physiology underlying vestibular hypofunction." Phys Ther **84**(4): 373-85.

Schwarz, D. W., I. E. Schwarz et K. Hu (1989). "Transmitter neurochemistry of the efferent neuron system innervating the labyrinth." J Otolaryngol **18**(1): 28-31.

Scudder, C. A. et A. F. Fuchs (1992). "Physiological and behavioral identification of vestibular nucleus neurons mediating the horizontal vestibuloocular reflex in trained rhesus monkeys." J Neurophysiol **68**(1): 244-64.

Serafin, M., C. de Waele, A. Khateb, P. P. Vidal et M. Muhlethaler (1991a). "Medial vestibular nucleus in the guinea-pig. I. Intrinsic membrane properties in brainstem slices." Exp Brain Res **84**(2): 417-25.

Serafin, M., C. de Waele, A. Khateb, P. P. Vidal et M. Muhlethaler (1991b). "Medial vestibular nucleus in the guinea-pig. II. Ionic basis of the intrinsic membrane properties in brainstem slices." Exp Brain Res **84**(2): 426-33.

Serafin, M., A. Khateb et M. Muhlethaler (1990). "Electrophysiology and lucifer yellow injection of nucleus gigantocellularis neurones in an isolated and perfused guinea pig brain in vitro." Neurosci Lett **120**(1): 5-8.

Serafin, M., A. Khateb, N. Vibert, P. P. Vidal et M. Muhlethaler (1993). "Medial vestibular nucleus in the guinea-pig: histaminergic receptors. I. An in vitro study." Exp Brain Res **93**(2): 242-8.

Serafin, M., P. P. Vidal et M. Muhlethaler (1996). "Electrophysiological study of nucleus gigantocellularis neurons in guinea-pig brainstem slices." Neuroscience **73**(3): 797-805.

Shibuki, K., H. Gomi, L. Chen, S. Bao, J. J. Kim, H. Wakatsuki, T. Fujisaki, K. Fujimoto, A. Katoh, T. Ikeda, C. Chen, R. F. Thompson et S. Itohara (1996). "Deficient cerebellar long-term depression, impaired eyeblink conditioning, and normal motor coordination in GFAP mutant mice." Neuron **16**(3): 587-99.

Shimazu, H. et W. Precht (1965). "Tonic and kinetic responses of cat's vestibular neurons to horizontal angular acceleration." J Neurophysiol **28**(6): 991-1013.

Sillar, K. T., J. F. Wedderburn et A. J. Simmers (1992). "Modulation of swimming rhythmicity by 5-hydroxytryptamine during post-embryonic development in Xenopus laevis." Proc R Soc Lond B Biol Sci **250**(1328): 107-14.

Sillar, K. T., A. M. Woolston et J. F. Wedderburn (1995). "Involvement of brainstem serotonergic interneurons in the development of a vertebrate spinal locomotor circuit." Proc R Soc Lond B Biol Sci **259**(1354): 65-70.

Simpson, J. I. et W. Graf (1985). "The selection of reference frames by nature and its investigators." Rev Oculomot Res **1**: 3-16.

Sirkin, D. W., W. Precht et J. H. Courjon (1984). "Initial, rapid phase of recovery from unilateral vestibular lesion in rat not dependent on survival of central portion of vestibular nerve." Brain Res **302**(2): 245-56.

Smith, P. F. et I. S. Curthoys (1988). "Neuronal activity in the ipsilateral medial vestibular nucleus of the guinea pig following unilateral labyrinthectomy." Brain Res **444**(2): 308-19.

Smith, P. F. et I. S. Curthoys (1989). "Mechanisms of recovery following unilateral labyrinthectomy: a review." Brain Res Brain Res Rev **14**(2): 155-80.

Smith, P. F. et C. L. Darlington (1991). "Neurochemical mechanisms of recovery from peripheral vestibular lesions (vestibular compensation)." Brain Res Brain Res Rev **16**(2): 117-33.

Smith, P. F. et C. L. Darlington (1994). "Pharmacology of the vestibular system." Baillieres Clin Neurol **3**(3): 467-84.

Smith, P. F. et C. L. Darlington (1997). "The contribution of N-methyl-D-aspartate receptors to lesion-induced plasticity in the vestibular nucleus." Prog Neurobiol **53**(5): 517-31.

Smith, P. F., C. L. Darlington, Q. Yan et M. Dragunow (1998). "Unilateral vestibular deafferentation induces brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein expression in the guinea pig lateral but not medial vestibular nuclei." J Vestib Res **8**(6): 443-7.

Sourdet, V., M. Russier, G. Daoudal, N. Ankri et D. Debanne (2003). "Long-term enhancement of neuronal excitability and temporal fidelity mediated by metabotropic glutamate receptor subtype 5." J Neurosci **23**(32): 10238-48.

Spiegel, E. et T. Démétriades (1925). "Die zentrale kompensation des labyrinthverlustes." Pflügers Arch ges physio(210): 215-222.

Storm, J. F. (1988). "Temporal integration by a slowly inactivating K+ current in hippocampal neurons." Nature **336**(6197): 379-81.

Straka, H., R. Baker et E. Gilland (2002). "The frog as a unique vertebrate model for studying the rhombomeric organization of functionally identified hindbrain neurons." Brain Res Bull **57**(3-4): 301-5.

Straka, H., M. Beraneck, M. Rohregger, L. E. Moore, P. P. Vidal et N. Vibert (2004). "Second-order vestibular neurons form separate pathways with different membrane and discharge properties." J Neurophysiol.

Straka, H., S. Biesdorf et N. Dieringer (1997). "Canal-specific excitation and inhibition of frog second-order vestibular neurons." J Neurophysiol **78**(3): 1363-72.

Straka, H., K. Debler et N. Dieringer (1996a). "Size-related properties of vestibular afferent fibers in the frog: differential synaptic activation of N-methyl-D-aspartate and non-N-methyl-D-aspartate receptors." Neuroscience **70**(3): 697-707.

Straka, H. et N. Dieringer (1993). "Electrophysiological and pharmacological characterization of vestibular inputs to identified frog abducens motoneurons and internuclear neurons in vitro." Eur J Neurosci **5**(3): 251-60.

Straka, H. et N. Dieringer (1995). "Spinal plasticity after hemilabyrinthectomy and its relation to postural recovery in the frog." J Neurophysiol **73**(4): 1617-31.

Straka, H. et N. Dieringer (2004). "Basic organization principles of the VOR: lesons from frogs." Progress in Neurobiology **in press**.

Straka, H., E. Gilland et R. Baker (1998). "Rhombomeric organization of brainstem motor neurons in larval frogs." Biol Bull **195**(2): 220-2.

Straka, H., I. Reichengerger et N. Dieringer (1996b). "Size-related properties of vestibular afferent fibers in the frog: uptake of and immunoreactivity for glycine and aspartate/glutamate." Neuroscience **70**(3): 685-96.

Strupp, M., V. Arbusow, K. P. Maag, C. Gall et T. Brandt (1998). "Vestibular exercises improve central vestibulospinal compensation after vestibular neuritis." Neurology **51**(3): 838-44.

Suarez, C., C. Diaz, J. Tolivia, J. C. Alvarez, C. Gonzalez del Rey et A. Navarro (1997). "Morphometric analysis of the human vestibular nuclei." Anat Rec **247**(2): 271-88.

Suarez, C., C. Gonzalez del Rey, J. Tolivia, J. L. Llorente, C. Diaz, A. Navarro et J. Gomez (1993). "Morphometric analysis of the vestibular complex in the rat." Laryngoscope **103**(7): 762-73.

Sun, Y., H. J. Waller, D. A. Godfrey et A. M. Rubin (2002). "Spontaneous activity in rat vestibular nuclei in brain slices and effects of acetylcholine agonists and antagonists." Brain Res **934**(1): 58-68.

Suwa, H., E. Gilland et R. Baker (1996). "Segmental organization of vestibular and reticular projections to spinal and oculomotor nuclei in the zebrafish and goldfish." Biol Bull(191): 257-259.

Takeda, N., M. Morita et T. Kubo (1987). Histaminergic projection from the posterior hypothalamus to the medial vestibular nucleus of rat and its relation to motion sickness. The vestibular system: neurophysiology and clinical research. M. Graham et J. Kemink. New-york, Raven Press.

Thoby-Brisson, M. et J. Simmers (1998). "Neuromodulatory inputs maintain expression of a lobster motor pattern-generating network in a modulation-dependent state: evidence from long-term decentralization in vitro." J Neurosci **18**(6): 2212-25.

Thoby-Brisson, M. et J. Simmers (2000). "Transition to endogenous bursting after long-term decentralization requires De novo transcription in a critical time window." J Neurophysiol **84**(1): 596-9.

Thoby-Brisson, M. et J. Simmers (2002). "Long-term neuromodulatory regulation of a motor pattern-generating network: maintenance of synaptic efficacy and oscillatory properties." J Neurophysiol **88**(6): 2942-53.

Thoenen, H. (1995). "Neurotrophins and neuronal plasticity." Science **270**(5236): 593-8.

Tighilet, B. et M. Lacour (2001). "Gamma amino butyric acid (GABA) immunoreactivity in the vestibular nuclei of normal and unilateral vestibular neurectomized cats." Eur J Neurosci **13**(12): 2255-67.

Tokuda, M. et O. Hatase (1998). "Regulation of neuronal plasticity in the central nervous system by phosphorylation and dephosphorylation." Mol Neurobiol **17**(1-3): 137-56.

Turrigiano, G., L. F. Abbott et E. Marder (1994). "Activity-dependent changes in the intrinsic properties of cultured neurons." Science **264**(5161): 974-7.

Turrigiano, G., G. LeMasson et E. Marder (1995). "Selective regulation of current densities underlies spontaneous changes in the activity of cultured neurons." J Neurosci **15**(5 Pt 1): 3640-52.

Turrigiano, G. G. (1999). "Homeostatic plasticity in neuronal networks: the more things change, the more they stay the same." Trends Neurosci **22**(5): 221-7.

Turrigiano, G. G., K. R. Leslie, N. S. Desai, L. C. Rutherford et S. B. Nelson (1998). "Activity-dependent scaling of quantal amplitude in neocortical neurons." Nature **391**(6670): 892-6.

Turrigiano, G. G. et S. B. Nelson (2000). "Hebb and homeostasis in neuronal plasticity." Curr Opin Neurobiol **10**(3): 358-64.

Turrigiano, G. G. et S. B. Nelson (2004). "Homeostatic plasticity in the developing nervous system." Nat Rev Neurosci **5**(2): 97-107.

Uchino, Y. (2001). "Otolith and semicircular canal inputs to single vestibular neurons in cats." Biol Sci Space **15**(4): 375-81.

Uchino, Y. et N. Isu (1992). Properties of vestibular-ocular and/or vestibulo-collic neurons in the cat. The head-neck sensory Motor systems. A. Berthoz, P. Vidal et W. Graf. New york, Oxford University Press**:** 266-272.

Uchino, Y., H. Sato, M. Zakir, K. Kushiro, M. Imagawa, Y. Ogawa, S. Ono, H. Meng, X. Zhang, M. Katsuta, N. Isu et V. J. Wilson (2001). "Commissural effects in the otolith system." Exp Brain Res **136**(4): 421-30.

Uno, A., E. Idoux, M. Beraneck, P. P. Vidal, L. E. Moore, V. J. Wilson et N. Vibert (2003). "Static and dynamic membrane properties of lateral vestibular nucleus neurons in Guinea pig brain stem slices." J Neurophysiol **90**(3): 1689-703.

Verkhratsky, A., R. K. Orkand et H. Kettenmann (1998). "Glial calcium: homeostasis and signaling function." Physiol Rev **78**(1): 99-141.

Vetter, D. E., J. R. Mann, P. Wangemann, J. Liu, K. J. McLaughlin, F. Lesage, D. C. Marcus, M. Lazdunski, S. F. Heinemann et J. Barhanin (1996). "Inner ear defects induced by null mutation of the isk gene." Neuron **17**(6): 1251-64.

Vibert, N., A. Babalian, M. Serafin, J. P. Gasc, M. Muhlethaler et P. P. Vidal (1999a). "Plastic changes underlying vestibular compensation in the guinea-pig persist in isolated, in vitro whole brain preparations." Neuroscience **93**(2): 413-32.

Vibert, N., A. Bantikyan, A. Babalian, M. Serafin, M. Muhlethaler et P. P. Vidal (1999b). "Post-lesional plasticity in the central nervous system of the guinea- pig: a "top-down" adaptation process?" Neuroscience **94**(1): 1-5.

Vibert, N., A. Bantikyan, A. Babalian, M. Serafin, M. Muhlethaler et P. P. Vidal (1999c). "Post-lesional plasticity in the central nervous system of the guinea-pig: a "top-down" adaptation process?" Neuroscience **94**(1): 1-5.

Vibert, N., M. Beraneck, A. Bantikyan et P. P. Vidal (2000). "Vestibular compensation modifies the sensitivity of vestibular neurones to inhibitory amino acids." Neuroreport **11**(9): 1921-7.

Vibert, N., C. de Waele, M. Escudero et P. P. Vidal (1993). "The horizontal vestibulo-ocular reflex in the hemilabyrinthectomized guinea-pig." Exp Brain Res **97**(2): 263-73.

Vibert, N., C. De Waele, M. Serafin, A. Babalian, M. Muhlethaler et P. P. Vidal (1997). "The vestibular system as a model of sensorimotor transformations. A combined in vivo and in vitro approach to study the cellular mechanisms of gaze and posture stabilization in mammals." Prog Neurobiol **51**(3): 243-86.

Vidal, P. P., A. Babalian, C. de Waele, M. Serafin, N. Vibert et M. Muhlethaler (1996). "NMDA receptors of the vestibular nuclei neurones." Brain Res Bull **40**(5-6): 347-52.

Vidal, P.-P. et M. Benazet (1993). La génèse du nystagmus vestibulaire, un modèle privilégié pour l'étude du SNC des vertébrés supérieurs. Noyaux vestibulaires et vertiges. A. Berthoz et P.-P. Vidal. Paris, Arnette**:** p. 7-29.

Vidal, P. P., C. de Waele, N. Vibert et M. Muhlethaler (1998). "Vestibular compensation revisited." Otolaryngol Head Neck Surg **119**(1): 34-42.

Vidal, P. P., N. Vibert, M. Serafin, A. Babalian, M. Muhlethaler et C. de Waele (1999). "Intrinsic physiological and pharmacological properties of central vestibular neurons." Adv Otorhinolaryngol **55**: 26-81.

Vitkovic, L., J. Bockaert et C. Jacque (2000a). ""Inflammatory" cytokines: neuromodulators in normal brain?" J Neurochem **74**(2): 457-71.

Vitkovic, L., J. P. Konsman, J. Bockaert, R. Dantzer, V. Homburger et C. Jacque (2000b). "Cytokine signals propagate through the brain." Mol Psychiatry **5**(6): 604-15.

Wall, C., 3rd, D. M. Merfeld, S. D. Rauch et F. O. Black (2002). "Vestibular prostheses: the engineering and biomedical issues." J Vestib Res **12**(2-3): 95-113.

Williams, S. R. et G. J. Stuart (2003a). "Role of dendritic synapse location in the control of action potential output." Trends Neurosci **26**(3): 147-54.

Williams, S. R. et G. J. Stuart (2003b). "Voltage- and site-dependent control of the somatic impact of dendritic IPSPs." J Neurosci **23**(19): 7358-67.

Wilson, V. et G. Melvill Jones (1979). Mammalian vestibular physiology. New-york.

Wilson, V. J., R. Boyle, K. Fukushima, P. K. Rose, Y. Shinoda, Y. Sugiuchi et Y. Uchino (1995). "The vestibulocollic reflex." J Vestib Res **5**(3): 147-70.

Wilson, V. J. et L. P. Felpel (1972a). "Semicircular canal inputs to vestibular nuclear neurons in the pigeon." Prog Brain Res **37**: 157-63.

Wilson, V. J. et L. P. Felpel (1972b). "Specificity of semicircular canal input to neurons in the pigeon vestibular nuclei." J Neurophysiol **35**(2): 253-64.

Xerri, C., S. Gianni, D. Manzoni et O. Pompeiano (1985). "Central compensation of vestibular deficits. IV. Responses of lateral vestibular neurons to neck rotation after labyrinth deafferentation." J Neurophysiol **54**(4): 1006-25.

Xue, J., J. Holt et J. Goldberg (2002). Differences in junctionnal transmission involving caly-bearing and bouton afferents in the turtle posterior crista. Assoc. Res Otolaryngol.

Yamanaka, T., A. Him, S. A. Cameron et M. B. Dutia (2000a). "Rapid compensatory changes in GABA receptor efficacy in rat vestibular neurones after unilateral labyrinthectomy." J Physiol **523 Pt 2**: 413-24.

Yamanaka, T., A. Him, S. A. Cameron et M. B. Dutia (2000b). "Rapid compensatory changes in GABA receptor efficacy in rat vestibular neurones after unilateral labyrinthectomy." J Physiol **523 Pt 2**: 413-24.

Zakir, M., K. Kushiro, Y. Ogawa, H. Sato et Y. Uchino (2000). "Convergence patterns of the posterior semicircular canal and utricular inputs in single vestibular neurons in cats." Exp Brain Res **132**(2): 139-48.

Zhang, W. et D. J. Linden (2003). "The other side of the engram: experience-driven changes in neuronal intrinsic excitability." Nat Rev Neurosci **4**(11): 885-900.

Zhang, X., M. Zakir, H. Meng, H. Sato et Y. Uchino (2001). "Convergence of the horizontal semicircular canal and otolith afferents on cat single vestibular neurons." Exp Brain Res **140**(1): 1-11.

Zimmermann, M. (2001). "Pathobiology of neuropathic pain." Eur J Pharmacol **429**(1-3): 23-37.