

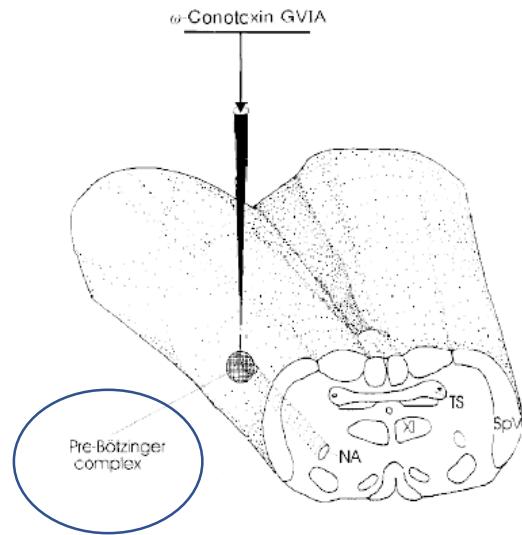
TD

Selective lesioning of the cat pre-Bötzinger complex *in vivo* eliminates breathing but not gasping

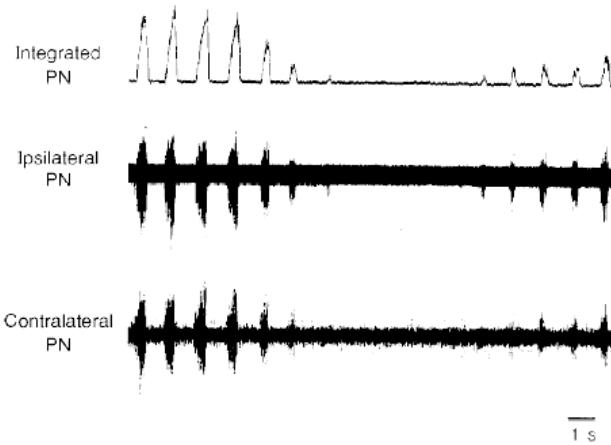
J. M. Ramirez, S. W. Schwarzacher *, O. Pierrefiche, B. M. Olivera †
and D. W. Richter

- Contexte: le réseau respiratoire peut fabriquer au moins 2 rythmes: eupnée et gasping
- Ces activités proviennent-elles d'un seul réseau de neurones ou de deux réseaux ?
- Utilisation ici, d'une préparation dite « *in vivo* » : animal anesthésié, bivagotomisé, curarisé, ventilé artificiellement
- Enregistrement électrophysiologique des neurones respiratoires et tests pharmacologiques
- Pourquoi une approche *in vivo* semble-t-elle nécessaire?

B

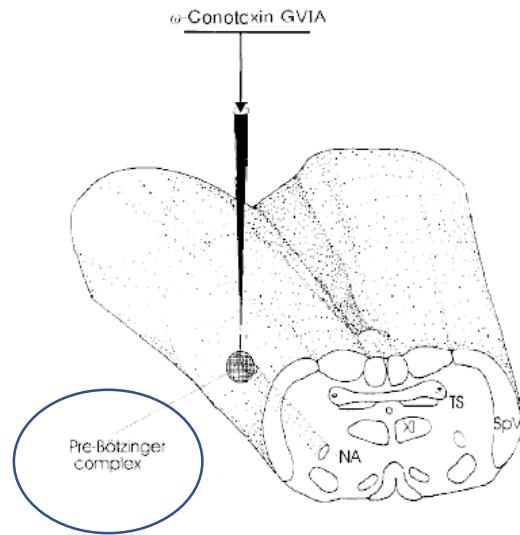


A

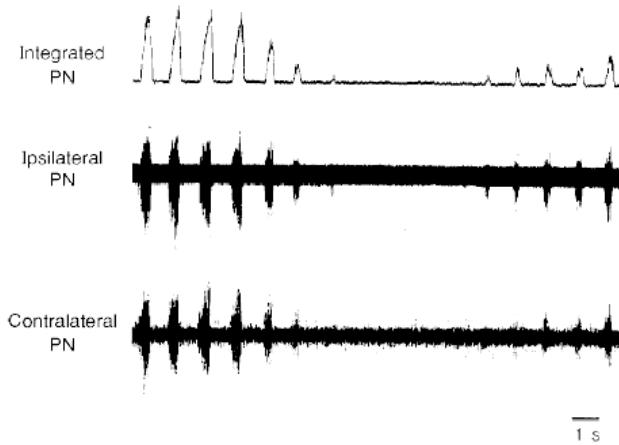


- W-conotoxin GVIA = antagonistes des canaux calciques présynaptiques de type N
- Injection d'un seul côté
- Observation/conclusion ?

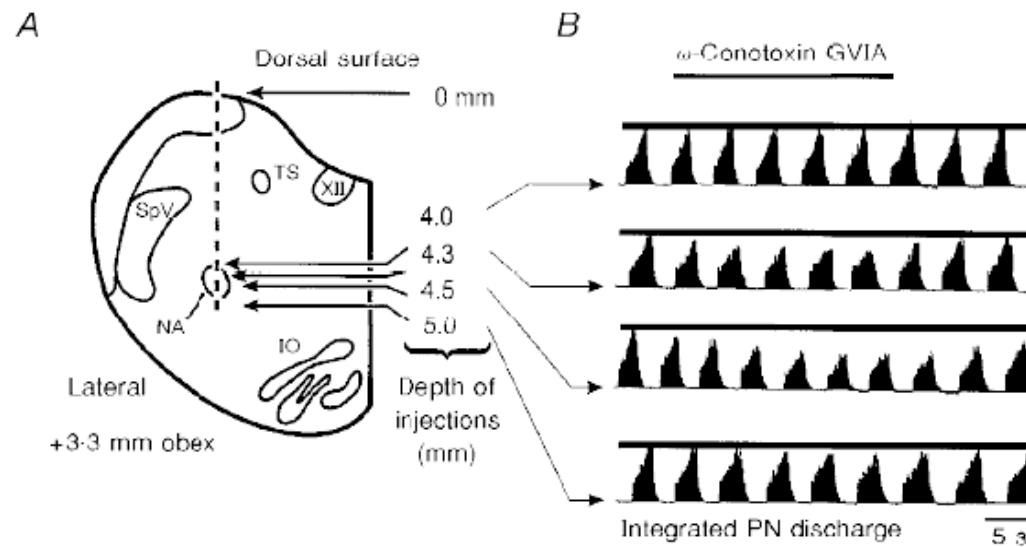
B



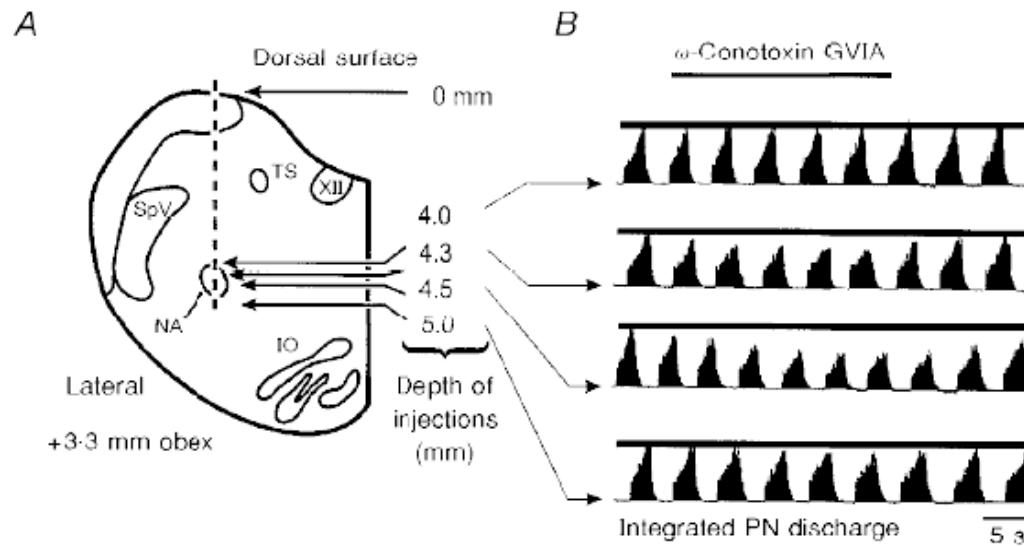
A



- W-conotoxin GVIA = antagonistes des canaux calciques présynaptiques de type N
- Injection d'un seul côté
- **Observation/conclusion** : L'injection unilatérale de W-conotoxin GVIA induit une apnée bilatérale transitoire. L'effet est donc réversible. Les effets sont bilatéraux alors que l'injection n'a été effectuée que d'un seul côté.

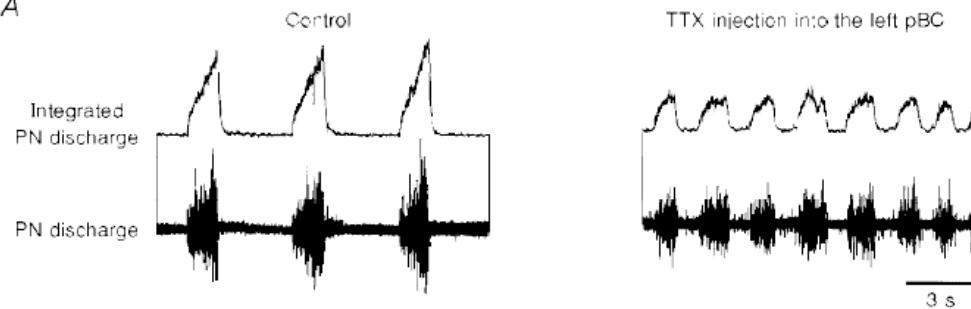


- Décrivez
- Interprétez
- Conclusion sur cette expérience

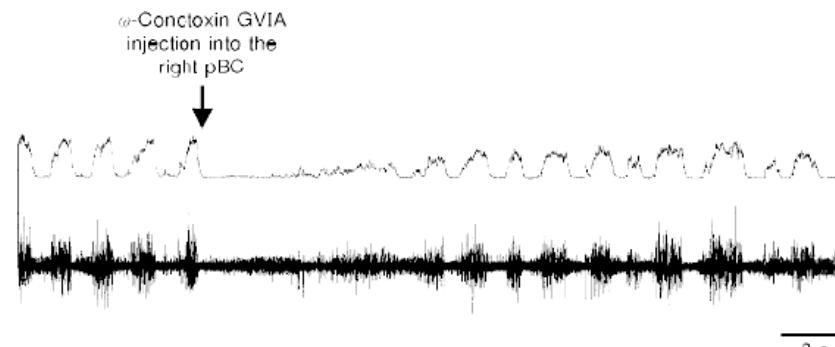


- Décrivez
- Interprétez
- **Conclusion** sur cette expérience ici
- Les effets sont réversibles et à des endroits précis....on peut donc se servir de cette toxine pour localiser la région d 'intérêt

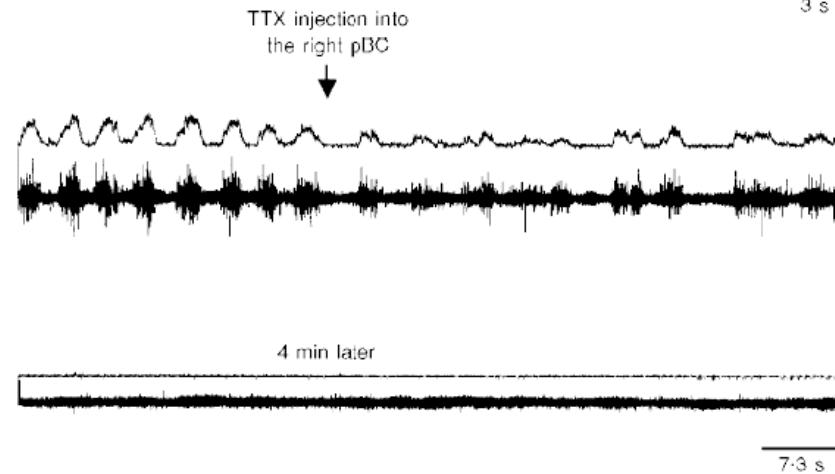
A



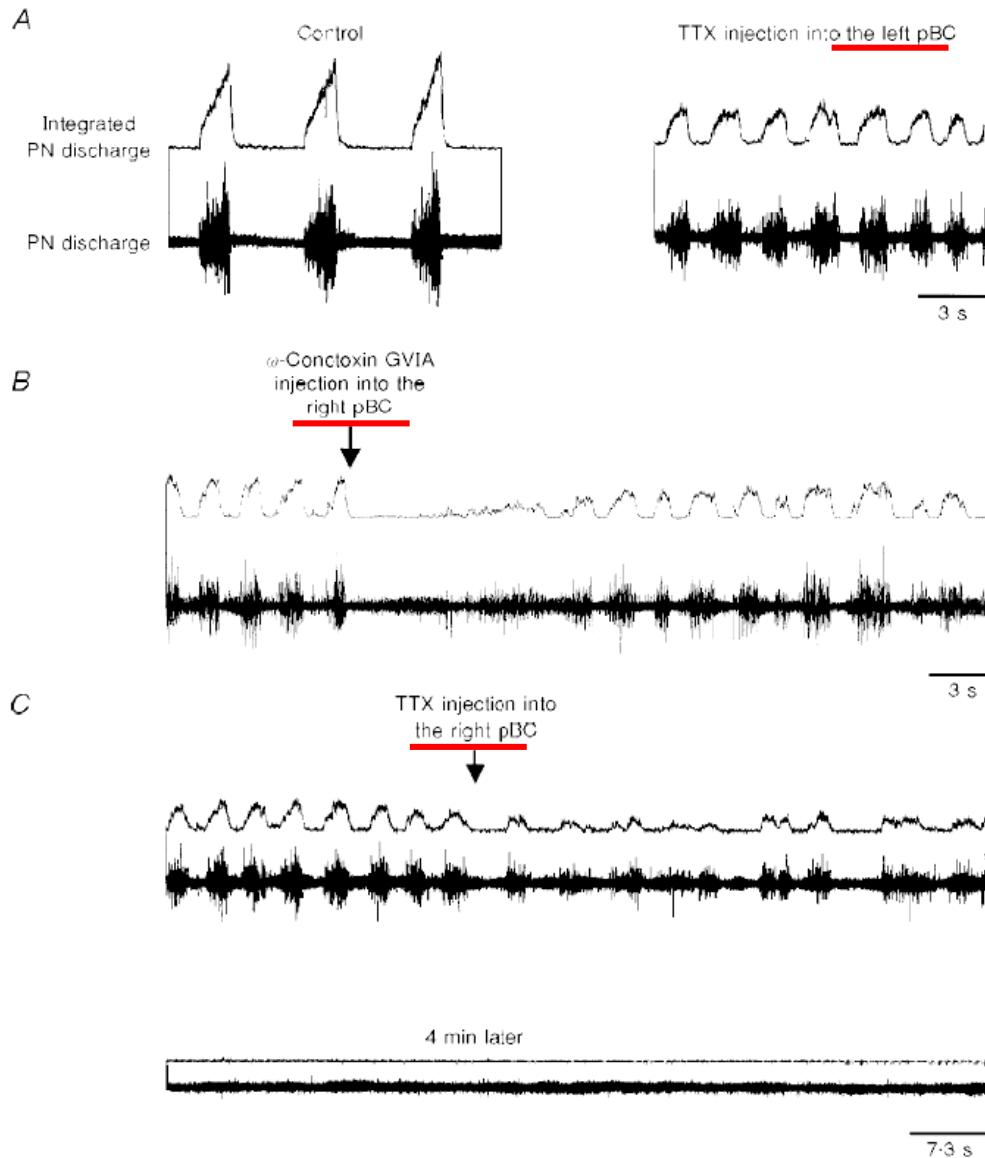
B



C

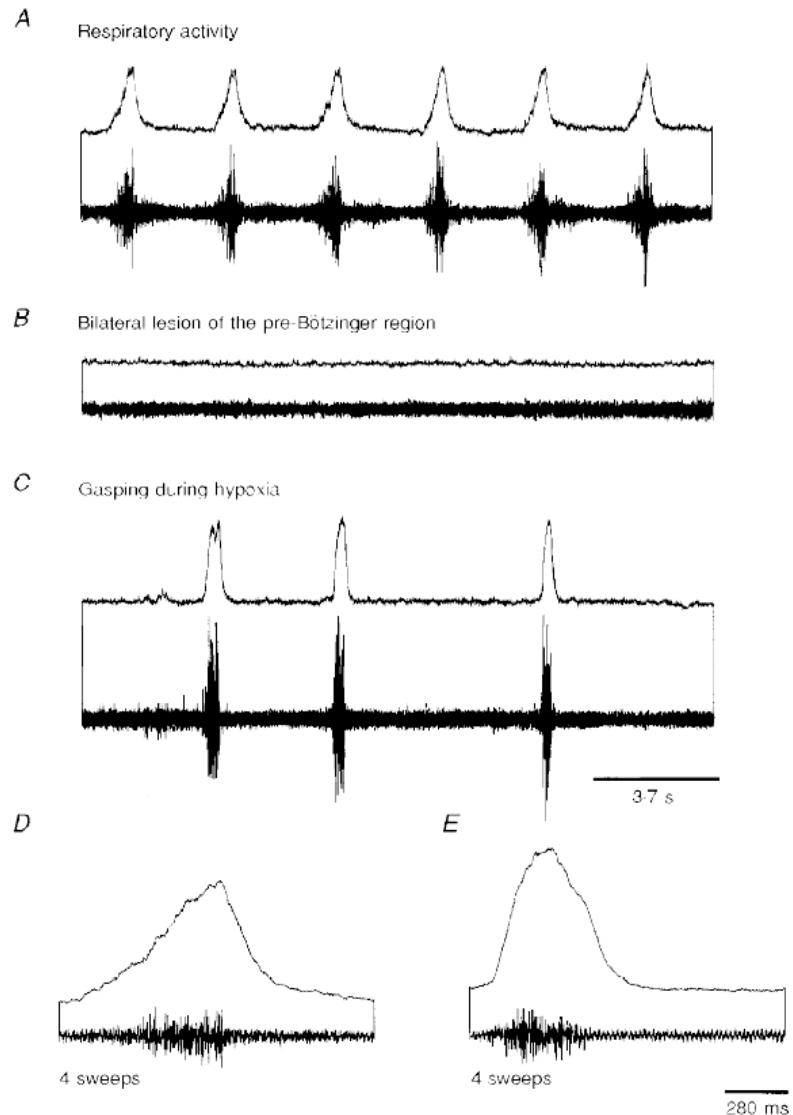


- La TTX (bloque les PA - irréversible) indique....
- Qu'elle est l'intérêt du panneau B ?
- Conclusion suite au panneau C?

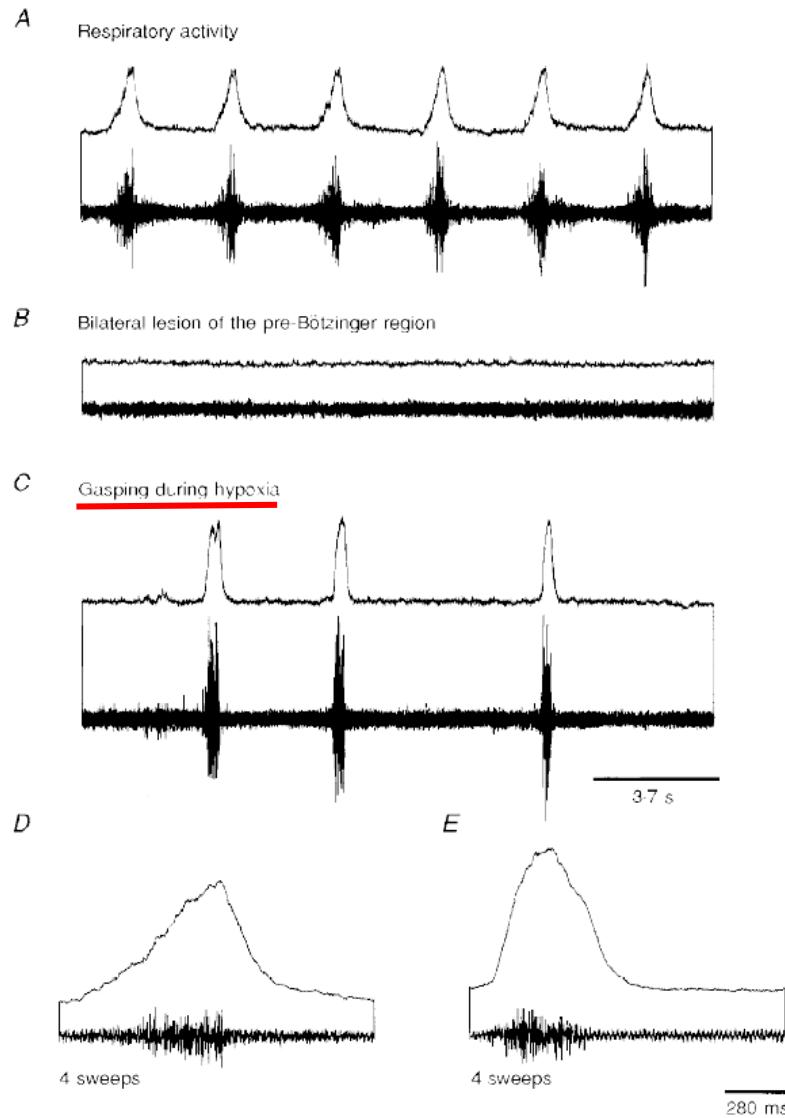


- La TTX (bloque les PA - irréversible) indique....**que le rythme respiratoire peut-être fabriqué à l'aide d'un seul PBC (peut-être pas la fréquence)**
- Qu'elle est l'intérêt du panneau B ? **Il indique un effet supplémentaire du blocage des canaux calciques présynaptiques dans l'autre PBC**
- Conclusion suite au panneau C? **seul le blocage irréversible des DEUX PBC bloque la respiration**

- Que montre et démontre cette image?
- Pourquoi faire un panneau D et E?



- Que montre et démontre cette image? En A et B on montre l'abolition du rythme respiratoire suite au blocage irréversible bilatérale des 2 PBC. Le panneau C montre qu'à partir de B, si on passe en hypoxie, le gasping est observé → le gasping n'est pas généré par les PBC → deux réseaux différents
- Pourquoi faire un panneau D et E? Pour convaincre que le rythme déclenché en hypoxie n'est pas de l'eupnée mais bien du Gasping



Blockade of synaptic inhibition within the pre-Bötzinger complex in the cat suppresses respiratory rhythm generation *in vivo*

O. Pierrefiche, S. W. Schwarzacher *, A. M. Bischoff and D. W. Richter

- Cette étude fait logiquement suite à la précédente, pourquoi?

Blockade of synaptic inhibition within the pre-Bötzinger complex in the cat suppresses respiratory rhythm generation *in vivo*

O. Pierrefiche, S. W. Schwarzacher *, A. M. Bischoff and D. W. Richter

- Cette étude fait logiquement suite à la précédente, pourquoi?
- Même méthodologie, même préparation expérimentale *in vivo* et puisqu'on a mis en évidence le rôle crucial du PBC dans le rythme respiratoire, nous allons voir maintenant le rôle des inhibitions (les propriétés de réseau) dans ce complexe: est ce que le rythme chez le chat adulte est du à des propriétés de réseau?

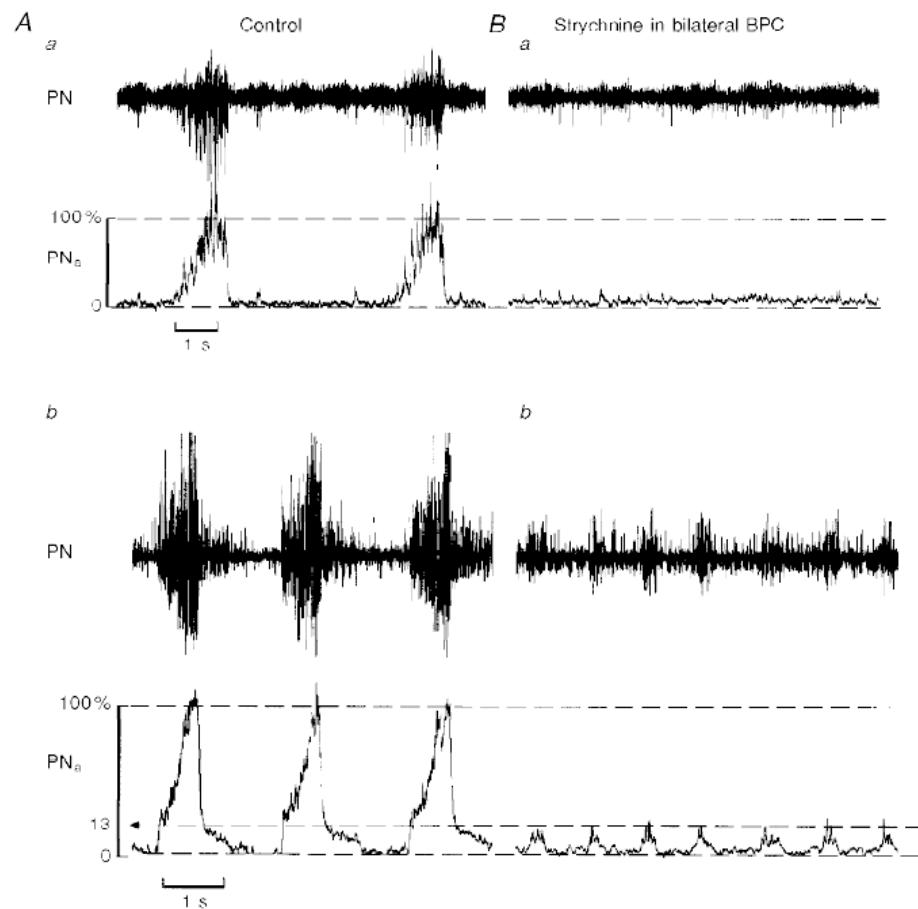


Figure 2. Two typical effects of bilateral injections of strychnine into the pre-Bötzinger complex

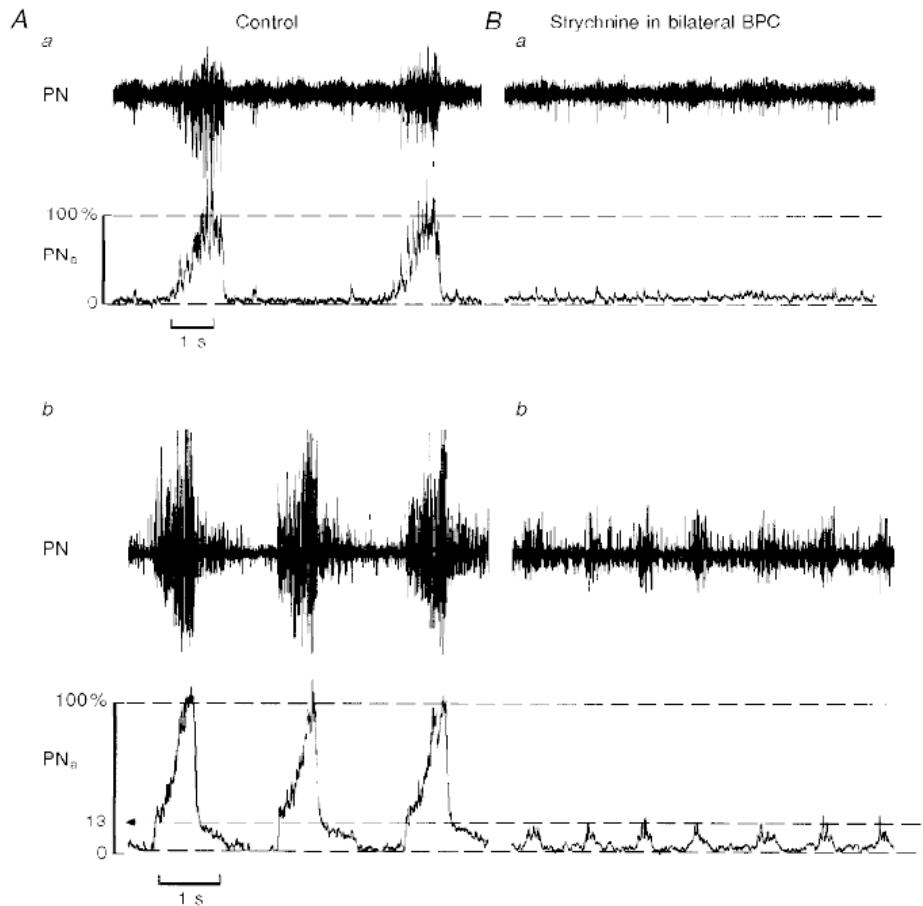
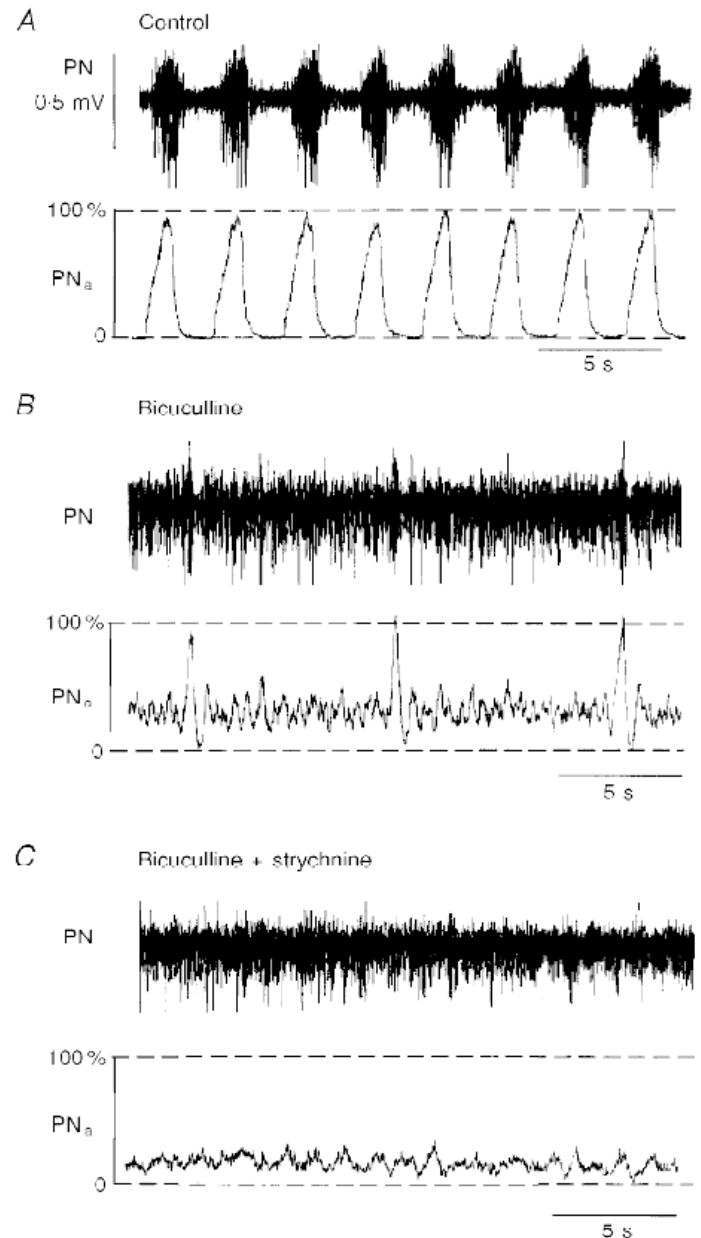
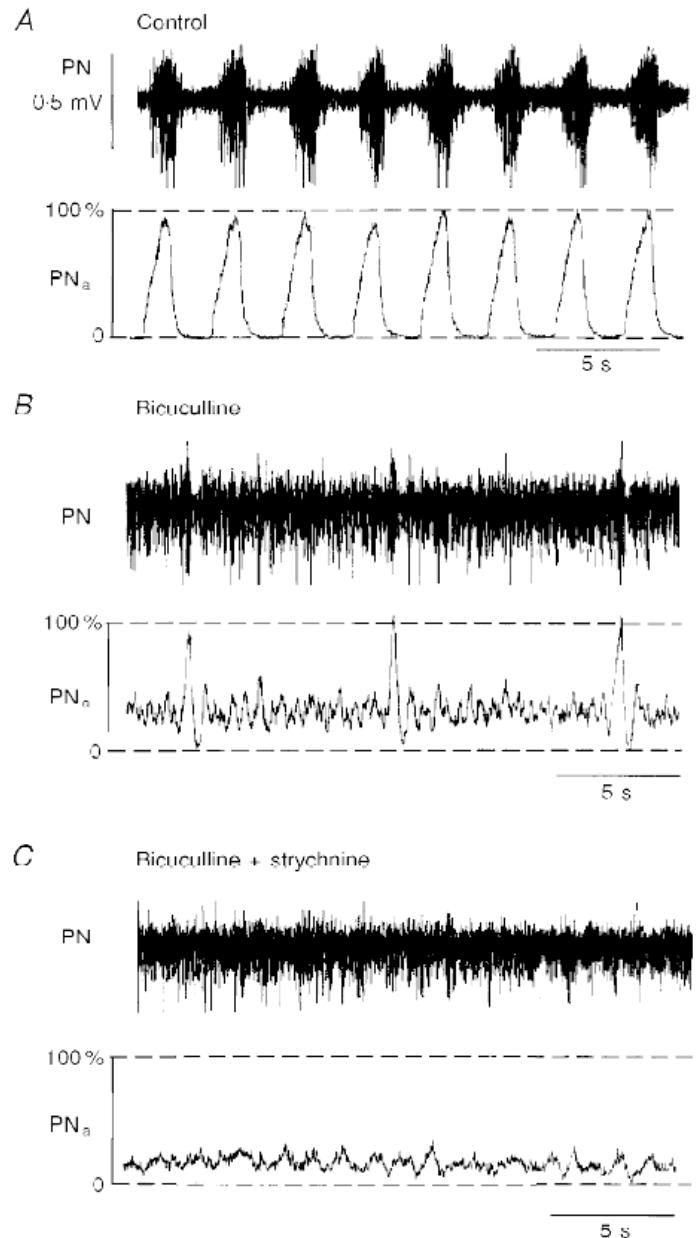


Figure 2. Two typical effects of bilateral injections of strychnine into the pre-Bötzing complex

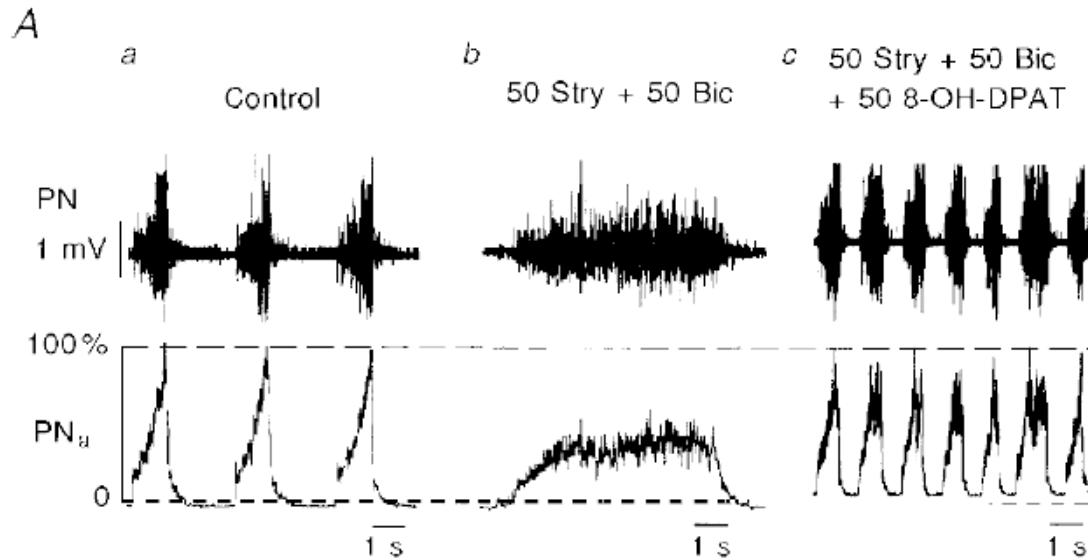
- Injection de strychnine en bilatéral dans chaque PBC → abolition ou très forte perturbation du rythme: les inhibitions glycinergiques sont importantes
- Ces inhibitions semblent jouer sur à la fois l'amplitude et la fréquence de la respiration



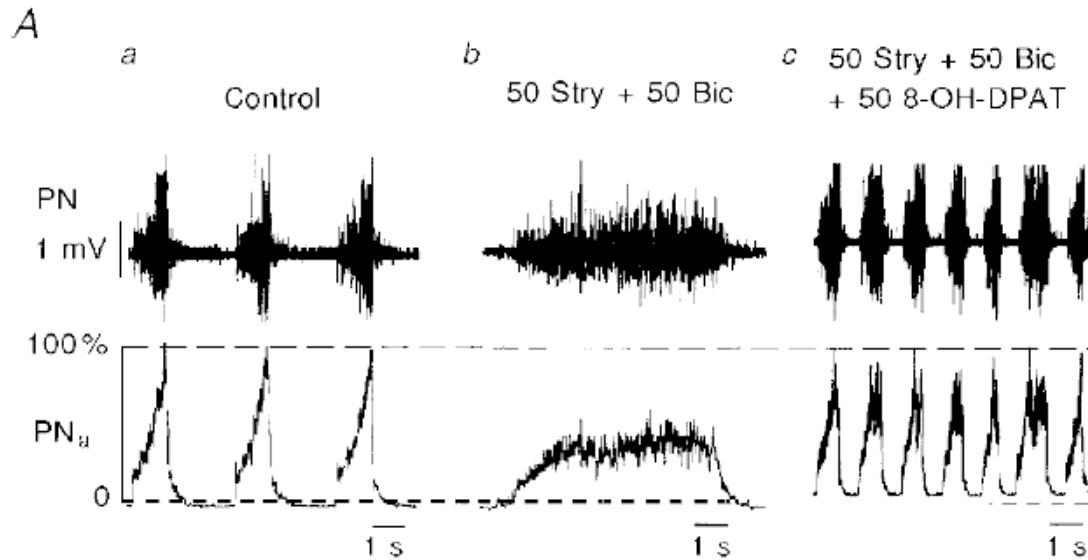
- Injections bilatérales de Bicuculline à 100 μ M et Strychnine à 100 μ M



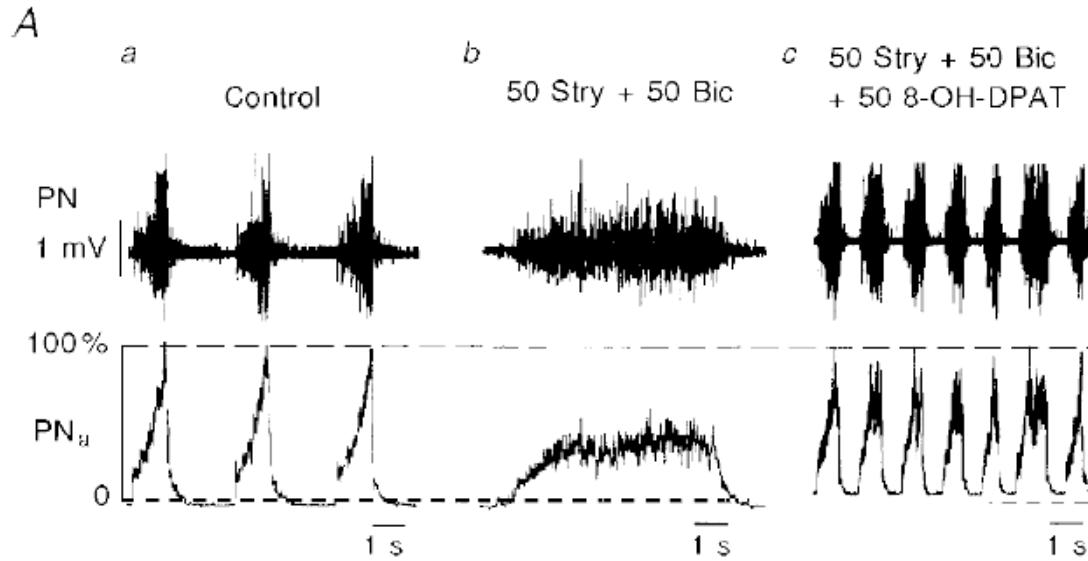
- Injection de bicuculline en bilatéral dans chaque PBC → abolition du rythme avec persistance de petit burst phrénique (est ce du Gasping?) : les inhibitions GABAergiques sont importantes
- L'ajout de Strychnine bloque définitivement le rythme respiratoire: les deux types d'inhibitions jouent un rôle



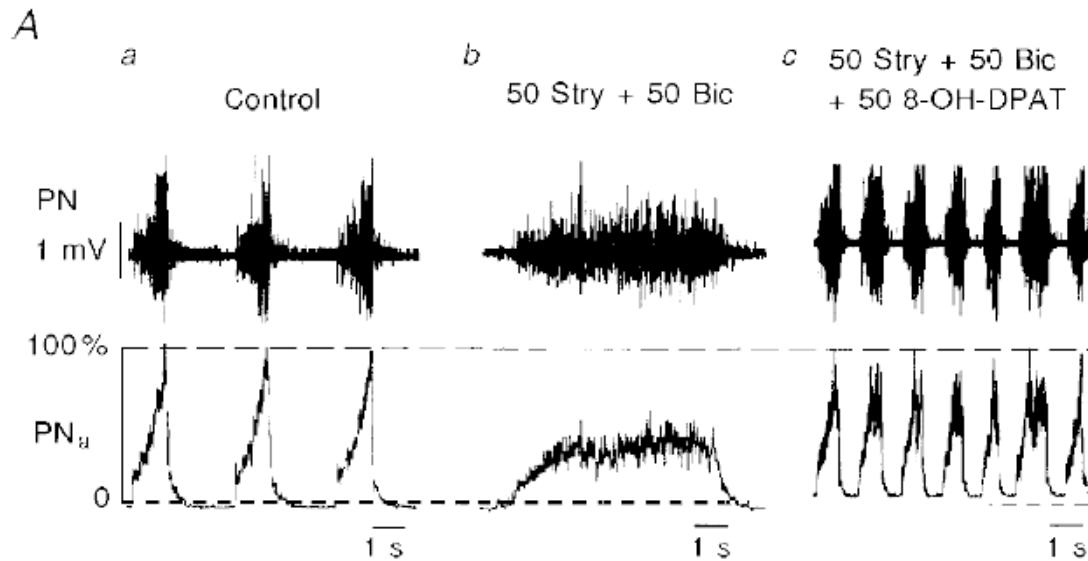
- Injections des mêmes substances mais à des concentrations plus faibles
- Que remarquez-vous?
- Pourquoi utiliser le 8-OH-DPAT?



- Injections des mêmes substances mais à des concentrations plus faibles
- Que remarquez-vous? **A plus faible concentration bloquer les deux types d'inhibitions dans les PBC induit une apnéeuse**
- Pourquoi utiliser le 8-OH-DPAT? **Parce qu'on sait qu'il peut réverser les apnéeuses**



- Injections des mêmes substances mais à des concentrations plus faibles.
- Comment interpréteriez-vous son mode d'action dans le contexte de l'expérience présente?



- Injections des mêmes substances mais à des concentrations plus faibles.
- Comment interpréteriez-vous son mode d'action dans le contexte de l'expérience présente? Nous avons bloqué les inhibitions GABA et Gly porté par le chlore et le 8-OH-DPAT est un agoniste du R-5-HT1A. Ce récepteur doit déclencher une inhibition des neurones par une conductance non chlore = une conductance????

ORIGINAL ARTICLE

O. Pierrefiche · A. Haji · A. Bischoff · D.W. Richter

Calcium currents in respiratory neurons of the cat in vivo

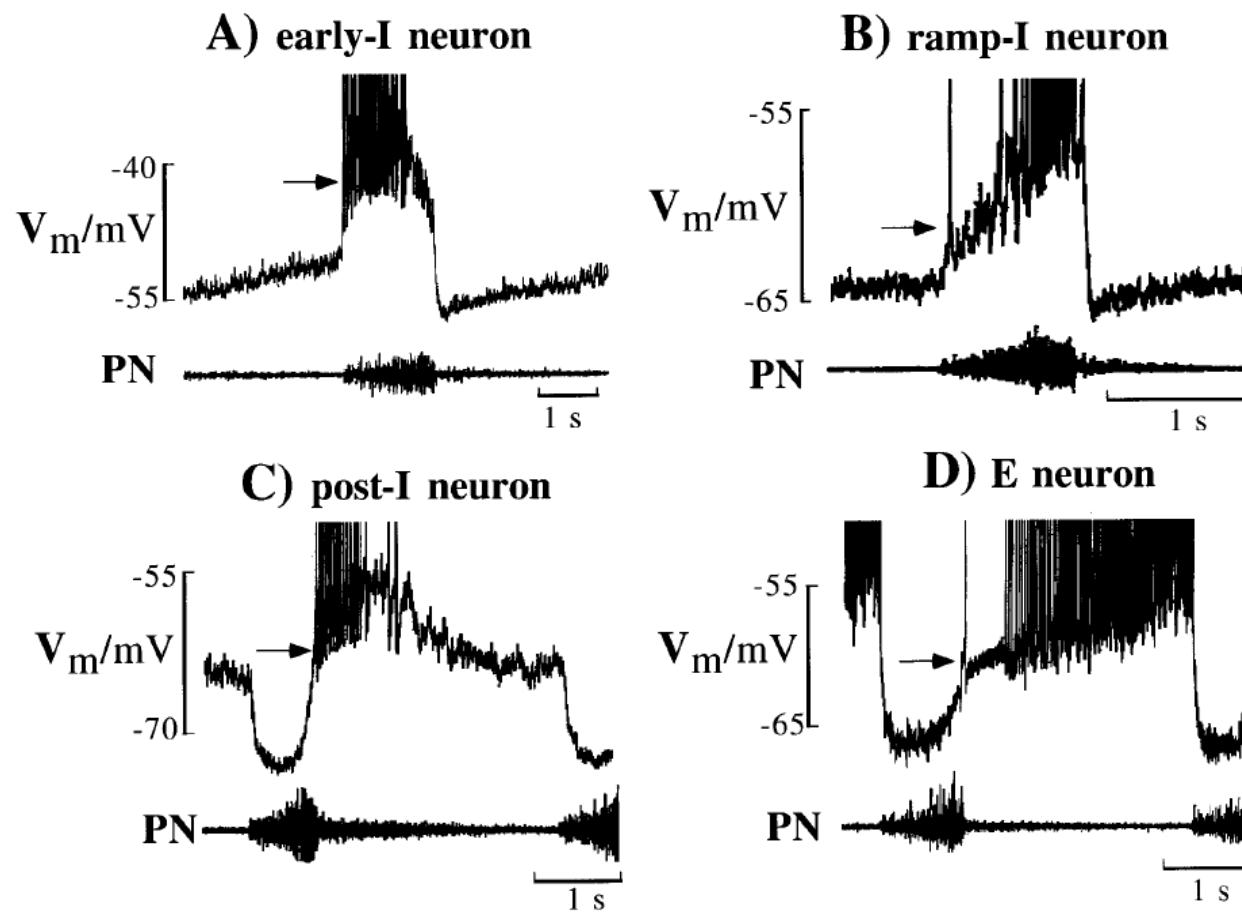
- Pourquoi effectuer une telle étude ?

ORIGINAL ARTICLE

O. Pierrefiche · A. Haji · A. Bischoff · D.W. Richter

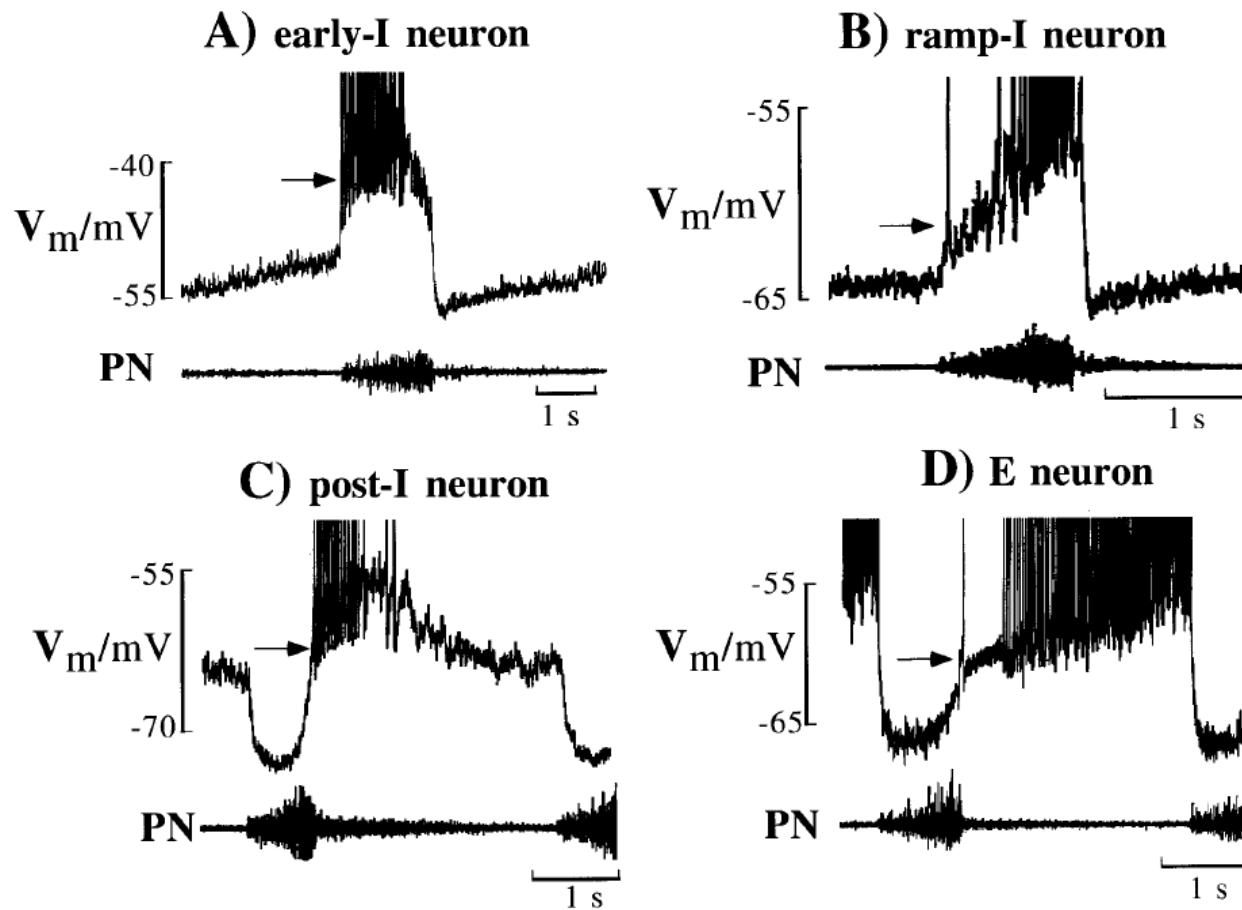
Calcium currents in respiratory neurons of the cat in vivo

- Pourquoi effectuer une telle étude ?
- Parce que se pose la question du rôle des propriétés intrinsèques dans la fabrication du rythme respiratoire



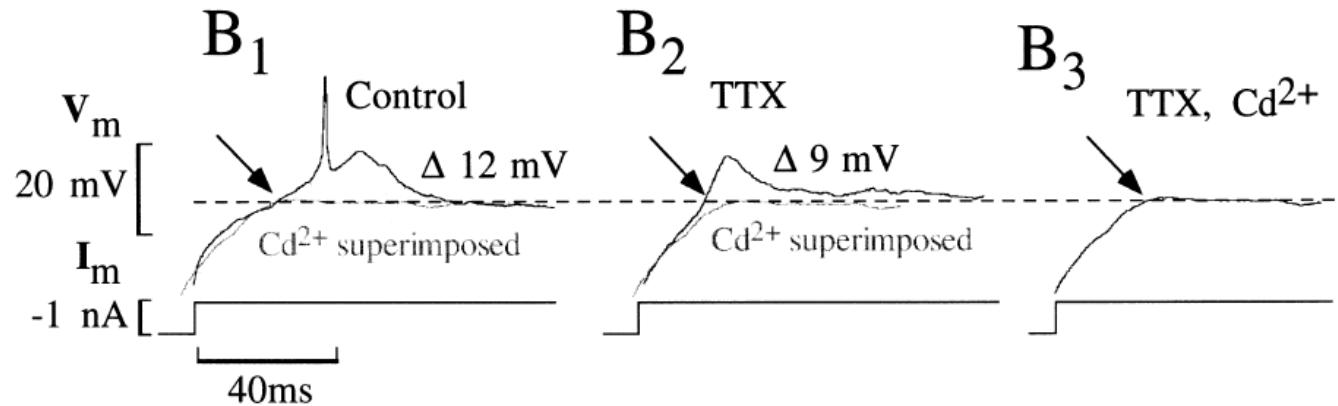
Qu'illustre cette image?

Pourquoi est-elle intéressante dans le contexte de cette étude?

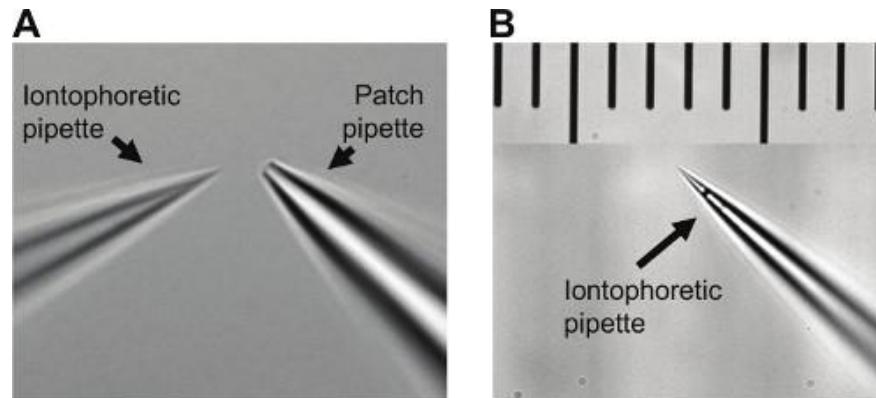
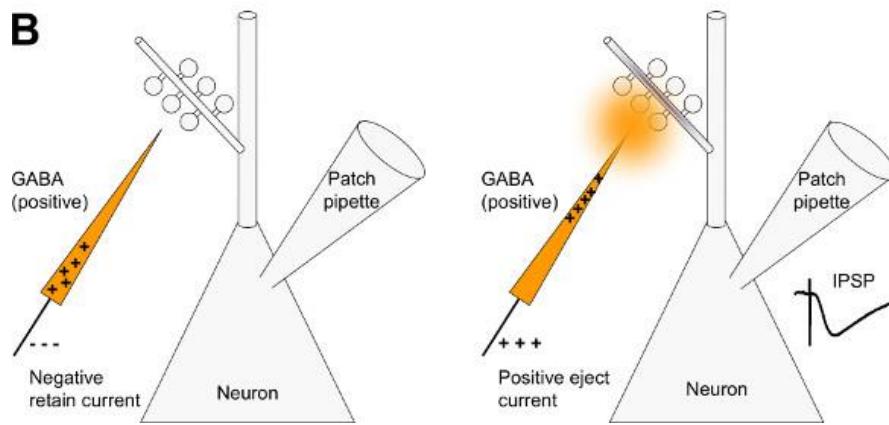
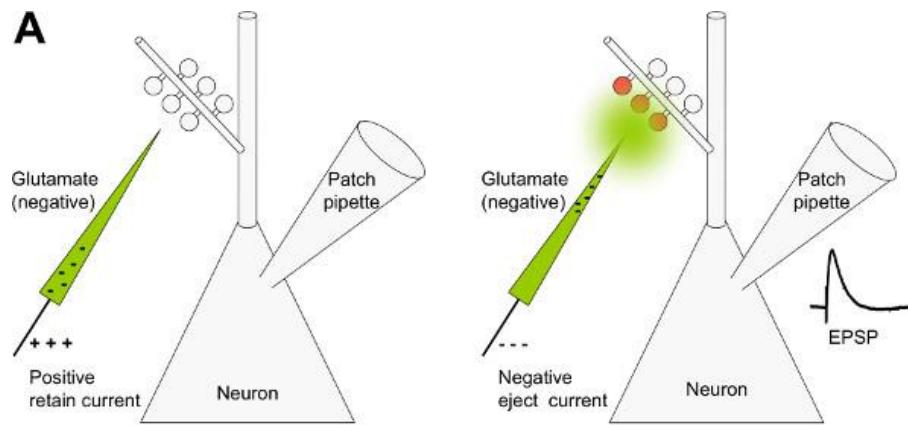


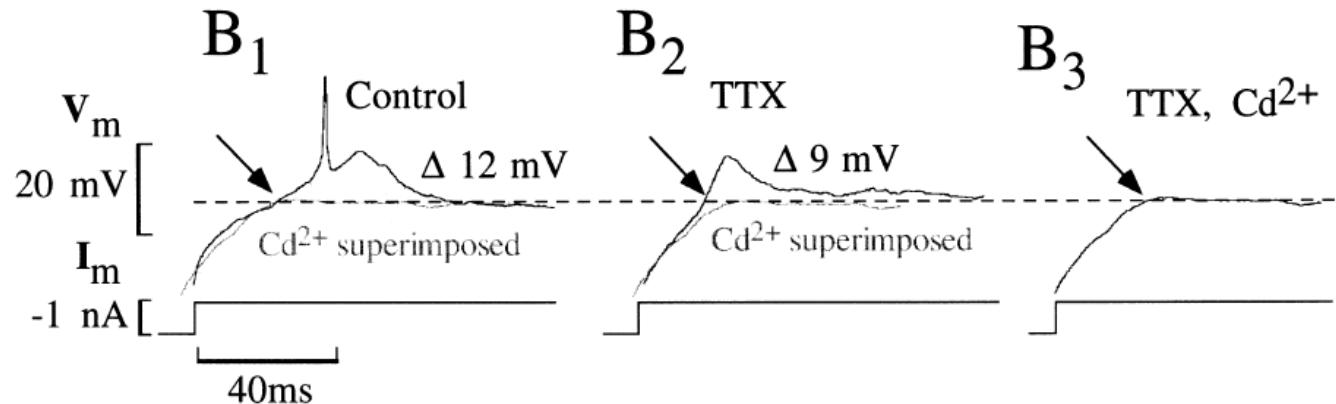
Qu'illustre cette image? Ce sont des enregistrements intracellulaires de neurones respiratoires. On le voit à l'oscillation de leur potentiel de membrane entre un minimum et un maximum au cours de la décharge de PA.

Pourquoi est-elle intéressante dans le contexte de cette étude? Cette technique est la seule à révéler les PPSI et les PPSE, donc les inhibitions et les excitations synaptiques et on observe également des particularités de ces oscillations (les flèches: le rebond, des silences à certains moment précis du cycle..)

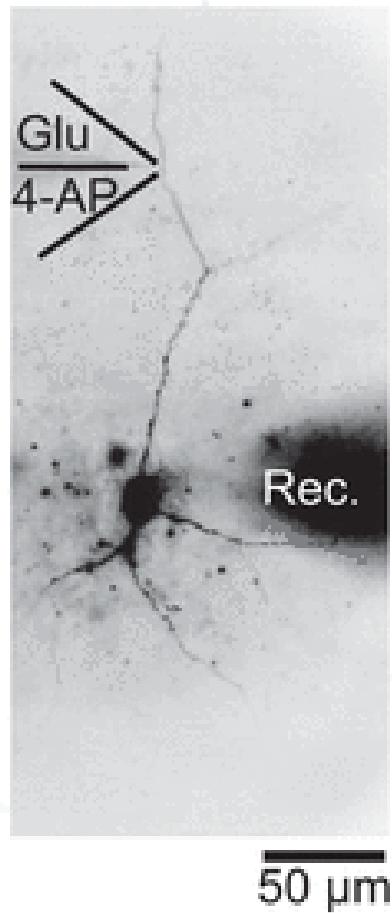
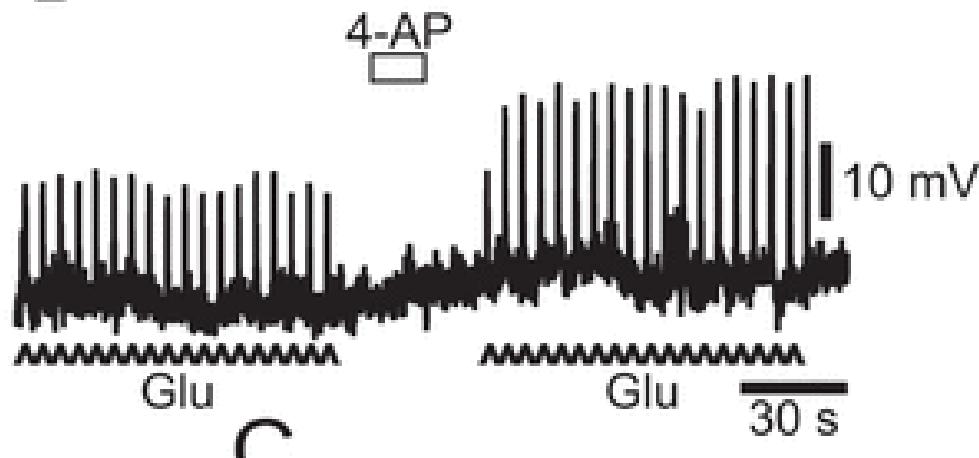
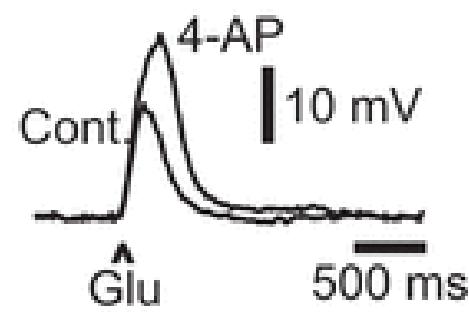


- Technique de ionophorése
- Décrivez
- Interprétez
- Concluez

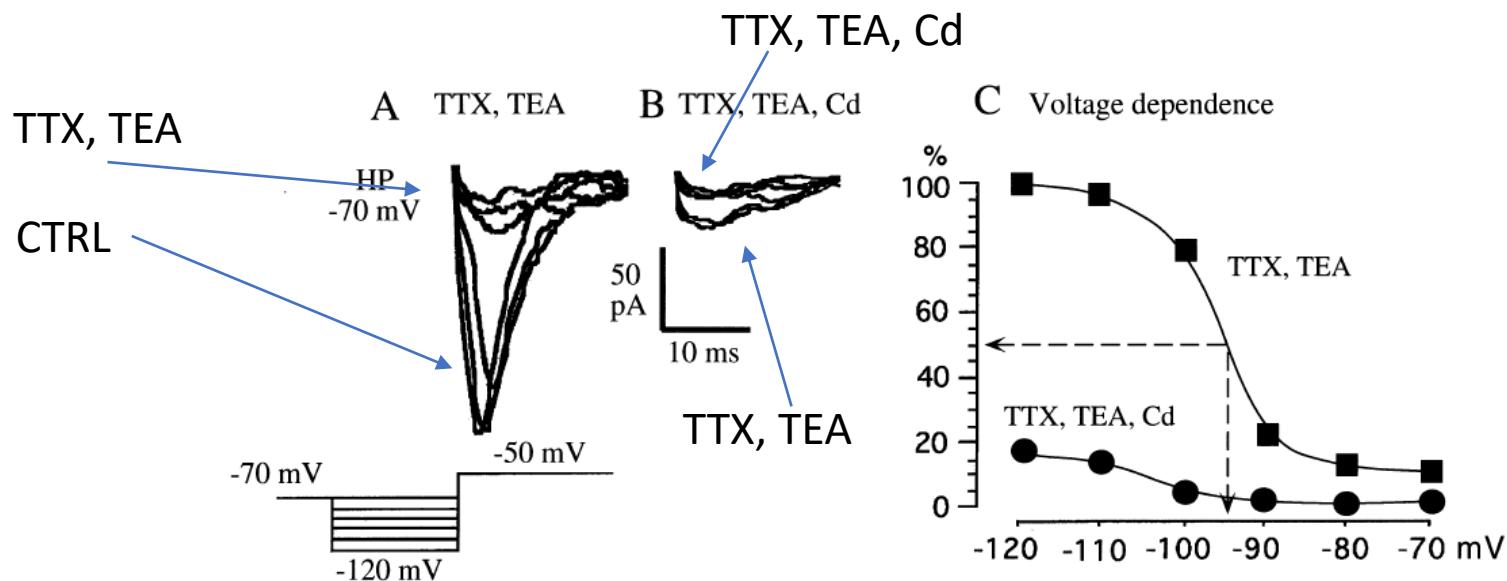




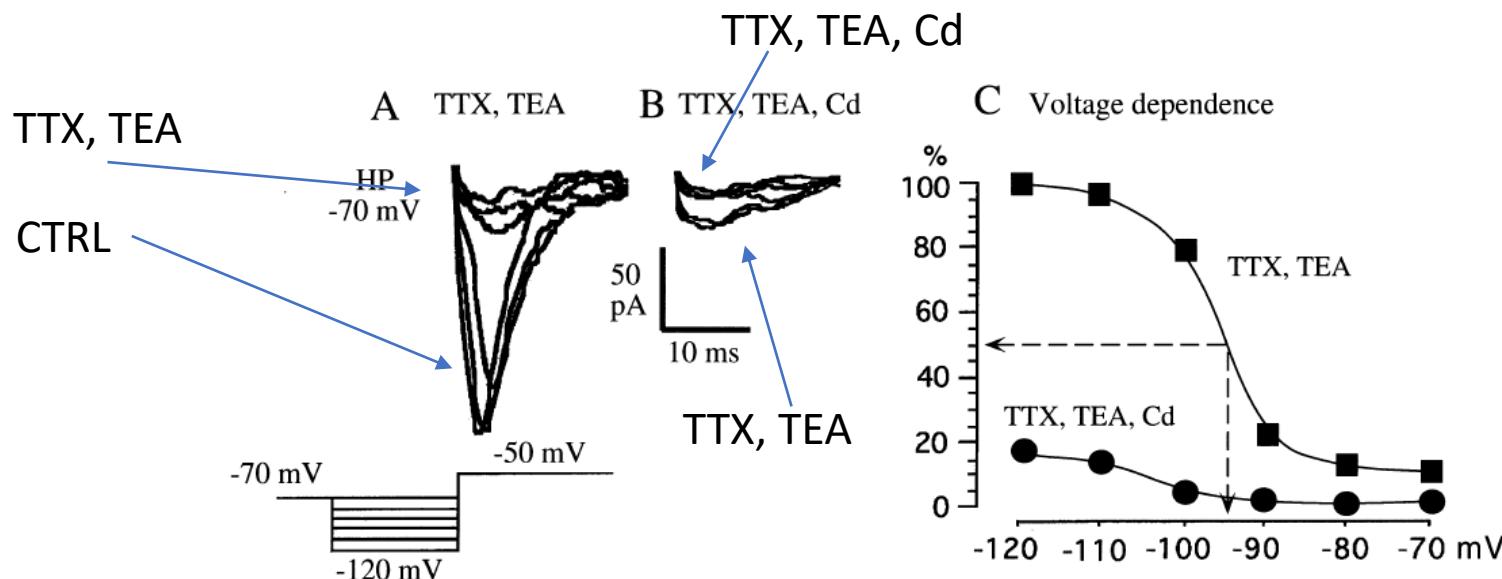
- Technique de ionophorése
- Décrivez: on est en courant-imposé (j'injecte du courant et je mesure une variation du potentiel). En B1, la fermeture du créneau de courant entraîne une dépolarisation transitoire (un rebond de 12 mV) du PM, sur lequel se greffe un PA pas en pleine forme...La trace Cd²⁺ montre ce qui reste en bloquant les canaux calciques. En B2 la présence de TTX élimine le PA, il reste un rebond de 9 mV. En B3, la présence de Cd²⁺ abolit ce rebond
- Interprétez: la fin d'une inhibition du PM s'accompagne d'un rebond du PM dû à une entrée de calcium et qui va jusqu'à générer un PA
- Concluez: des courants calciques sont importants dans le déclenchement des bouffées de PA dans les neurones respiratoires.

A**B****C**

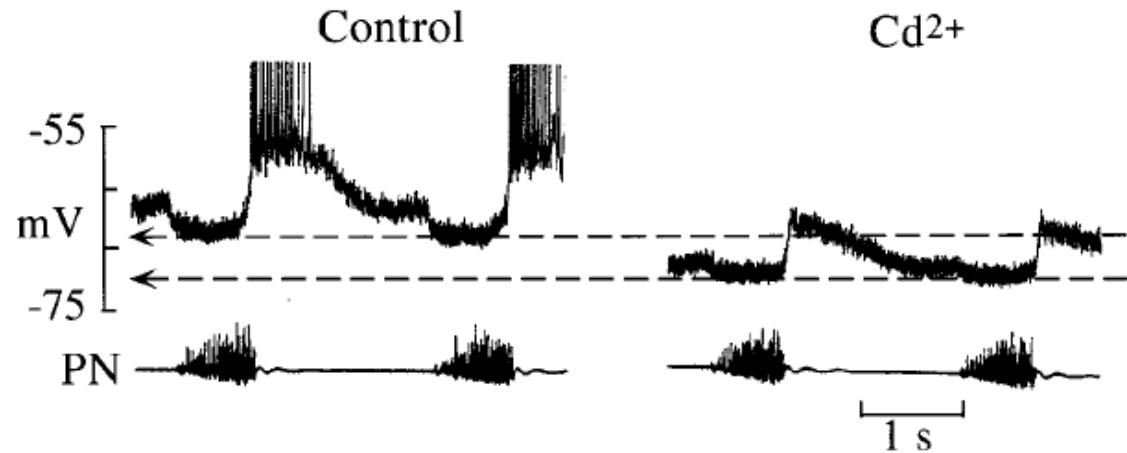
La 4-AP est un antagoniste des courants K⁺ voltage dépendants transitoires
Glu = glutamate



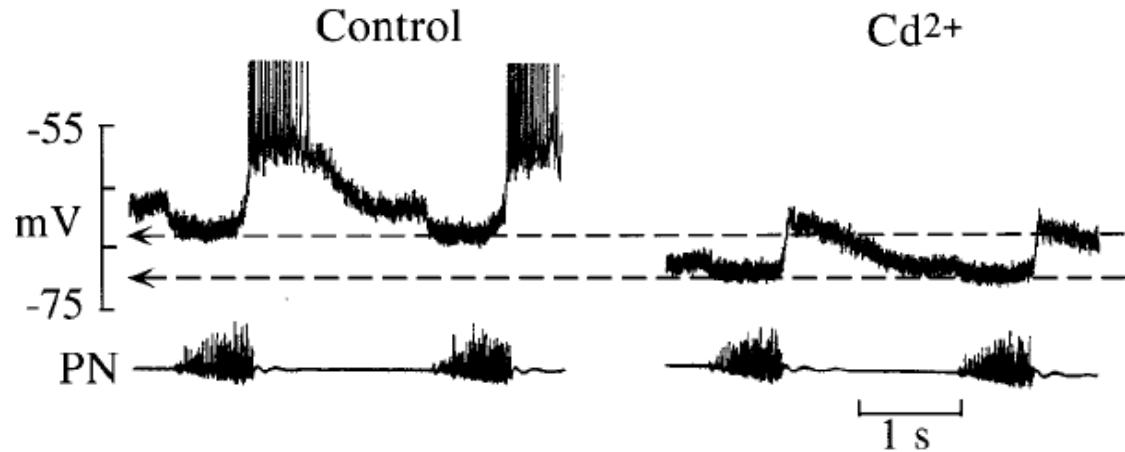
- Panneau A : expliquez le protocole
- Panneau A: décrire les résultats
- Panneau B: décrire les résultats
- Panneau C: expliquez et décrire



- Panneau A : Nous sommes en voltage-imposé, j'hyperpolarise le neurone à différents niveaux entre -70 et -120 mV et le neurone répond en conséquence sous la forme de courants transmembranaires. Panneau A: A la fermeture du créneau de voltage, je vois apparaître un courant vers le bas (= courant entrant dépolarisant), court (transitoire) en présence de TTX et de TEA → ce n'est pas sodique ni potassique
- Panneau B: Il disparaît en présence de Cd → c'est du calcium
- Panneau C: expliquez et décrire : Amplitude du courant transitoire en fonction du voltage en présence de TTX et TEA, puis de TTX, TEA et Cd. Le courant est fortement présent lorsque le neurone est hyperpolarisé à -120 mV et peu ou pas vers -70 mV. Pour le voir il faut donc l'hyperpolarisé, il s'agit d'une courbe de déinactivation du courant CaT!!! C'est calcium parce que Cd réduit l'amplitude du courant à tous les voltages testés.

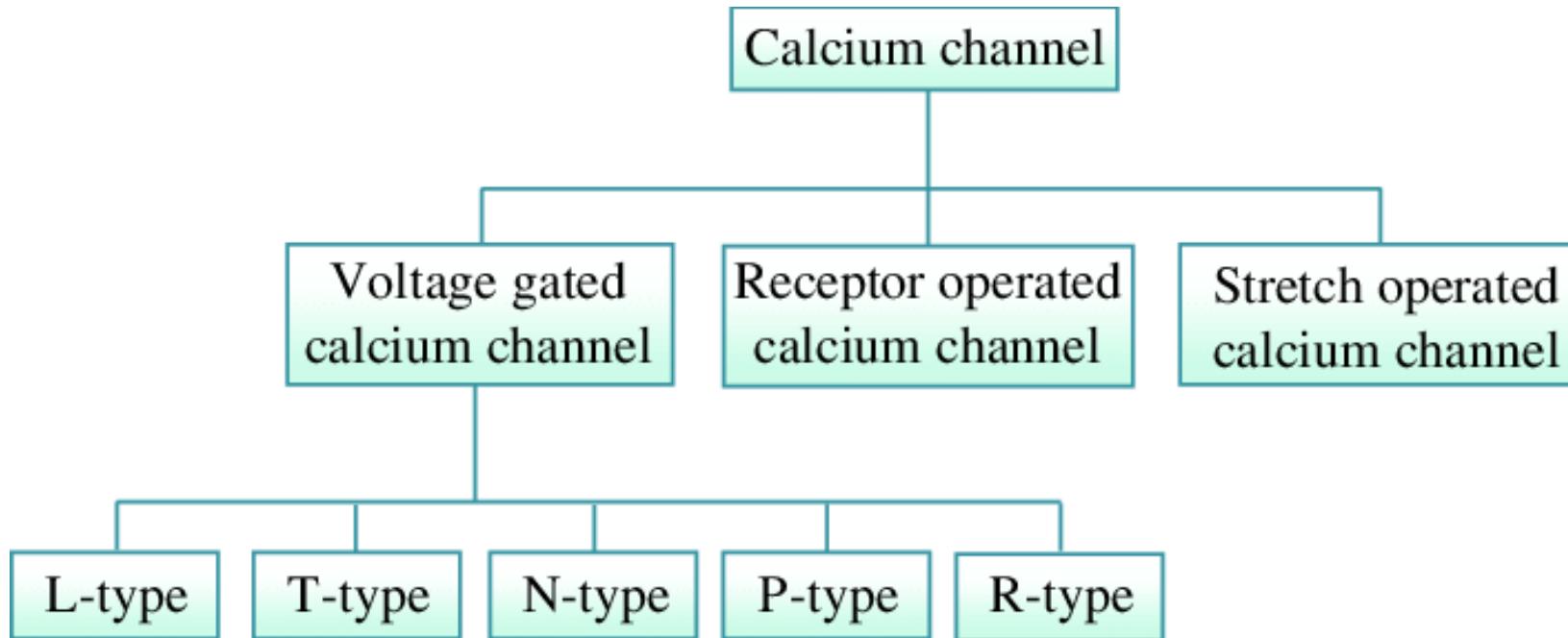


- Décrivez
- Mettez en relation avec les documents précédents



- Décrivez: Nous sommes en courant-imposé....la présence de Cd hyperpolarise le neurone
- Mettez en relation avec les documents précédents
- Par rapport aux doc précédents, je peux rajouter que le courant calcique n'existe pas que pendant un rebond post-inhibition. Probablement il en existe aussi pendant la phase de dépolarisation

Autres courants calciques?



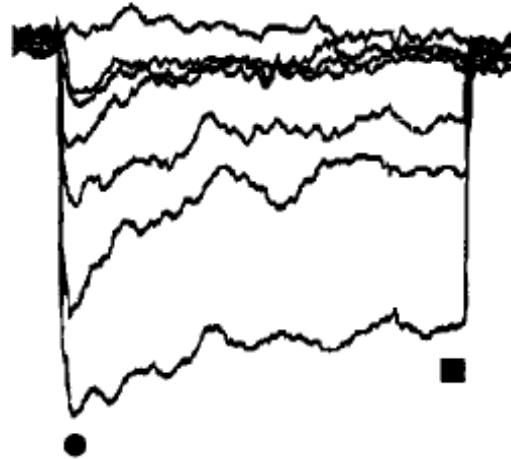
Voltage-gated Calcium Channel

Type	Voltage	Associated Subunit	Location
L-type Calcium Channel	High-Voltage-Activated	$\alpha_2\delta, \beta, \gamma$	Skeletal Muscle, Smooth Muscle, Osteoblasts, Ventricular Myocytes and Dendrites of Cortical Neurons
P-type Calcium Channel	High-Voltage-Activated	$\alpha_2\delta, \beta$, possibly γ	Purkinje Neurons
N-type Calcium Channel	High-Voltage-Activated	$\alpha_2\delta, \beta_{1,3,4}$, possibly γ	Throughout Brain and Peripheral Nervous System
R-Type Calcium Channel	Intermediate-Voltage-Activated	$\alpha_2\delta, \beta$, possibly γ	Cerebellar Granule Cells
T-Type Calcium Channel	Low-Voltage-Activated	Single α	Neurons Cells, i.e. pacemaker, bone, thalamus

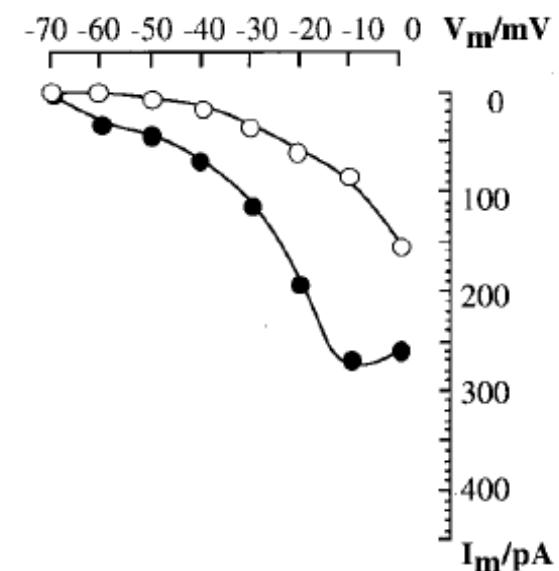
Gerald (2017)

Pourquoi s'interresser à ceux-là dans le contexte de la respiration?

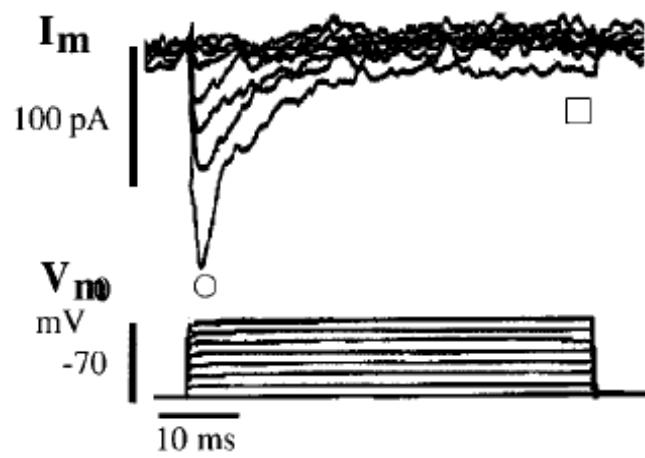
A) Control (TTX, TEA)



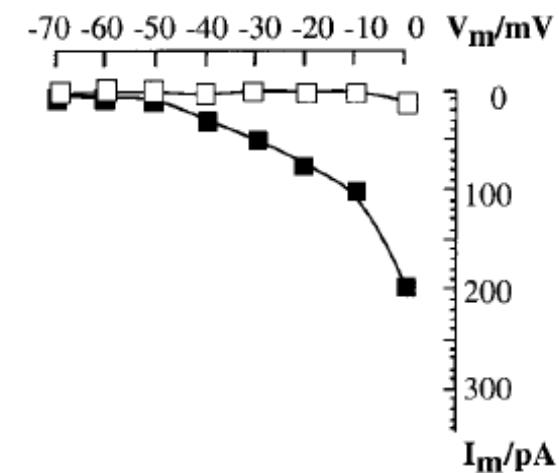
C) Peak currents

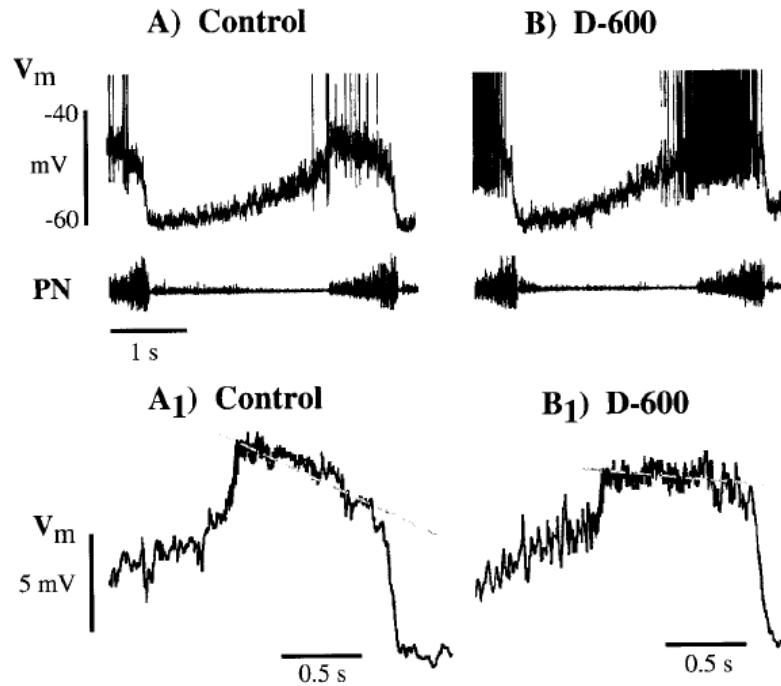


B) Cd^{2+} -Block

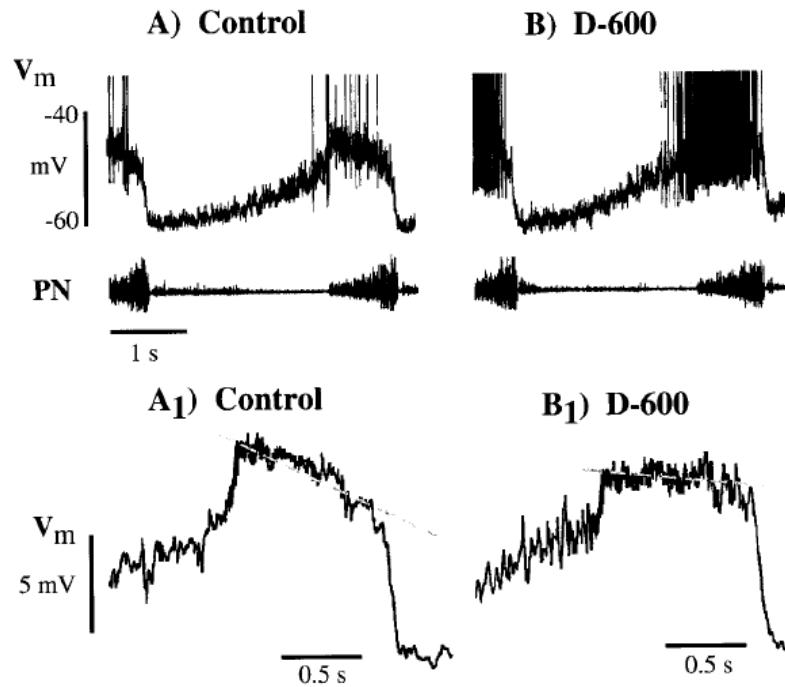


D) Sustained currents





- Injection intracellulaire de D-600, un bloquant des canaux calciques voltage-dépendants
- Que vous indique cette petite expérience supplémentaire sur la façon dont est fabriqué le rythme des neurones respiratoires?
- De quel courant pourrait-il s'agir ici?



- Injection intracellulaire de D-600, un bloquant des canaux calciques voltage-dépendants
- Que vous indique cette petite expérience supplémentaire sur la façon dont est fabriqué le rythme des neurones respiratoires? **Le D-600 dépolarise le neurone pendant la phase de dépolarisation puisqu'on rajoute des PA en B).** Le signal filtré en A1-B1 indique que le D-600 a changé la pente de repolarisation du neurone en la ralentissant, ainsi il y aura plus de PA.
- De quel courant pourrait-il s'agir ici? **Il s'agit d'un courant calcique hyperpolarisant que nous avons bloqué → on dépolarise le neurone. On peut penser à un K_{Ca} .**