

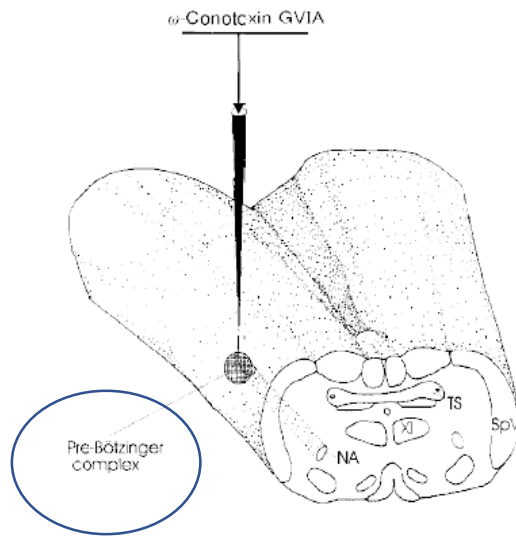
TD

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

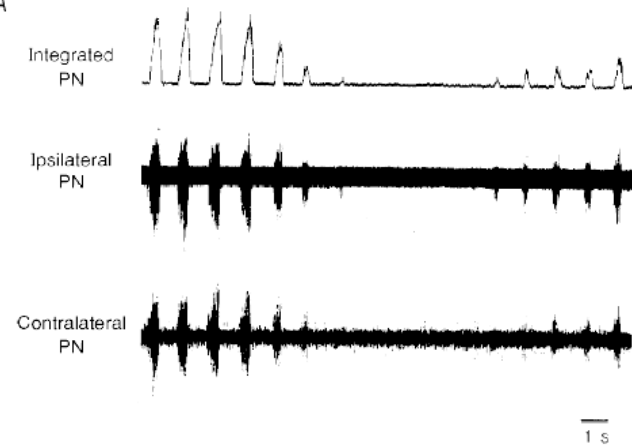
J. M. Ramirez, S. W. Schwarzacher*, O. Pierrefiche, B. M. Olivera†
and D. W. Richter

- 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

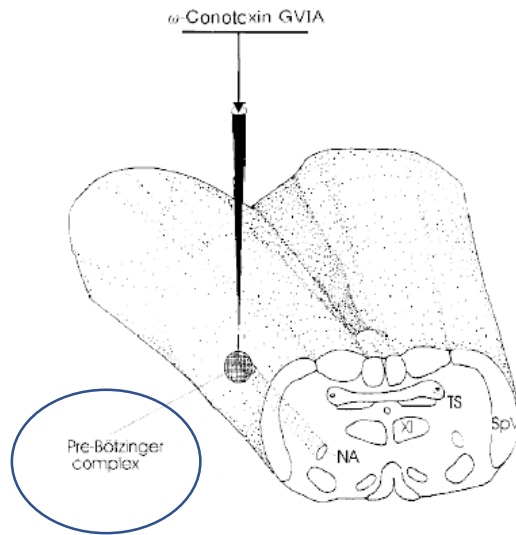


A

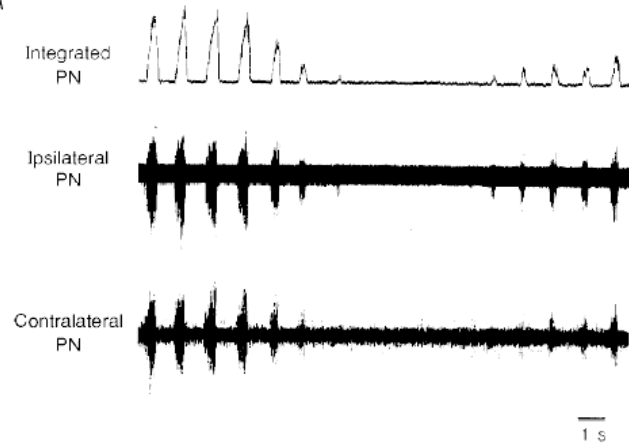


- W-conotoxin GVIA = antagonistes des canaux calciques présynaptiques de type N
- Injection d'un seul côté
- Observation/conclusion ?

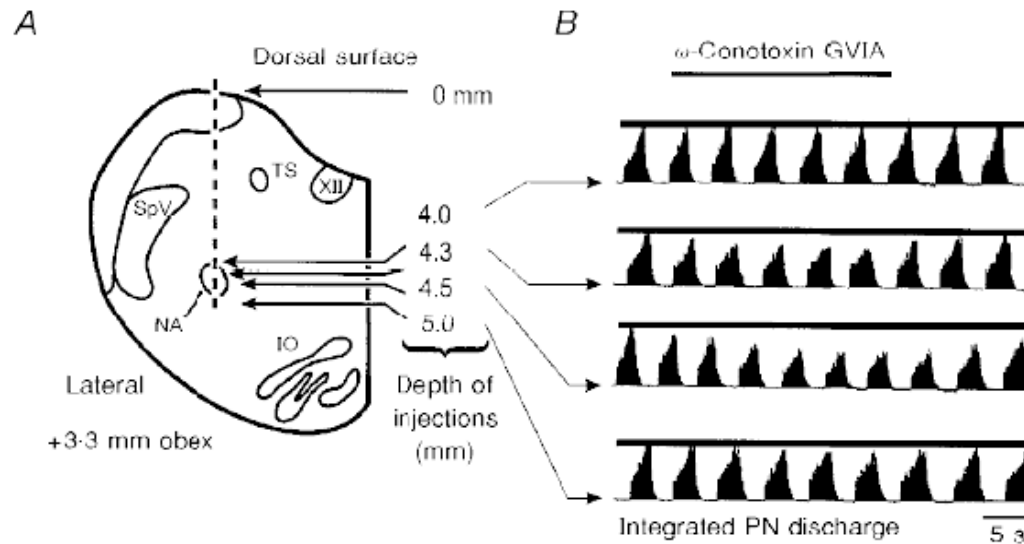
B



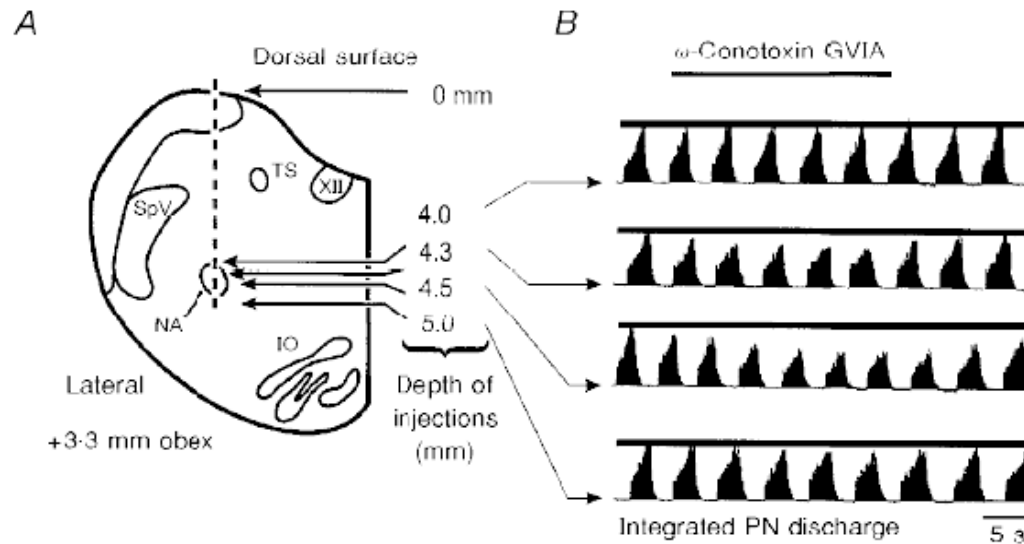
A



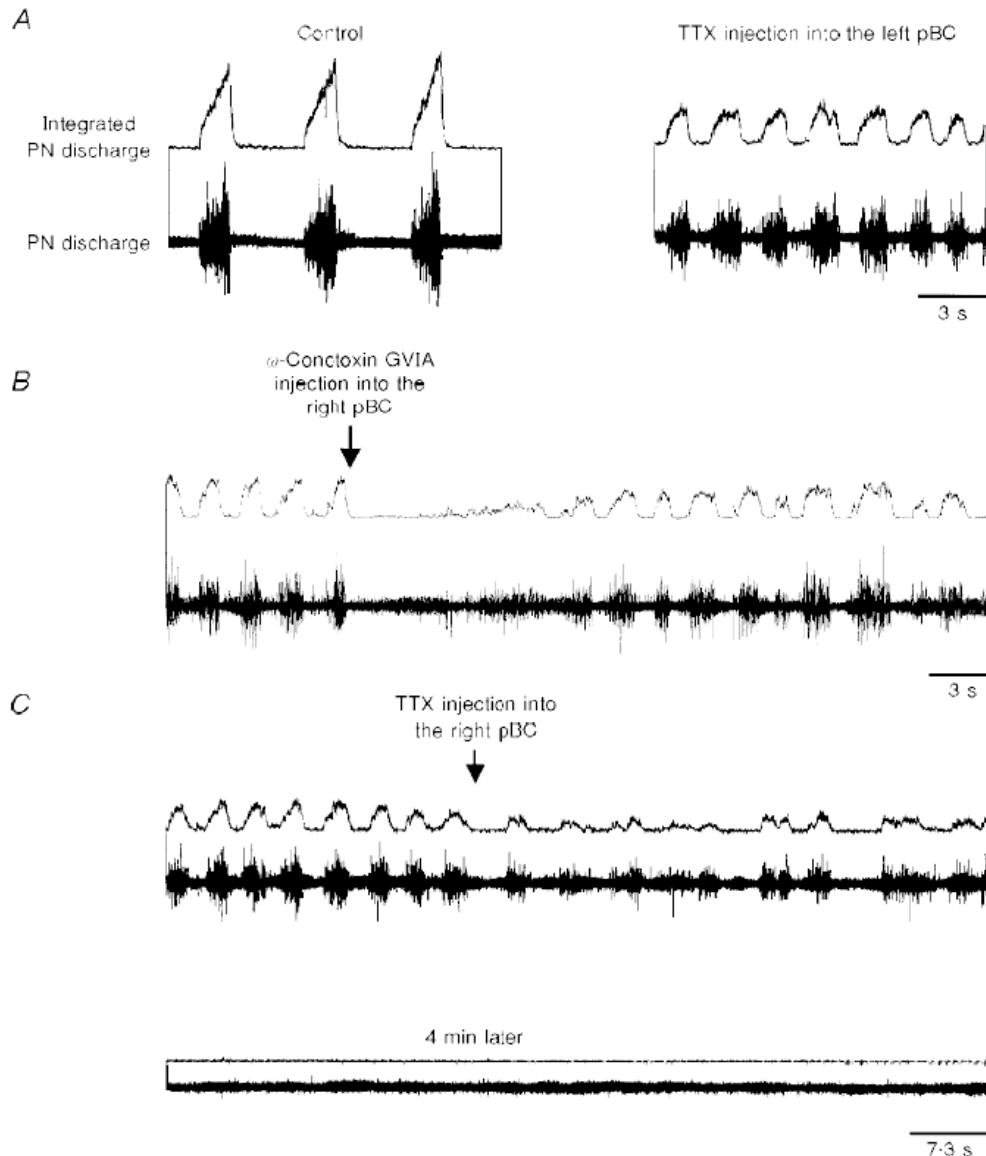
- W-conotoxin GVIA = antagonistes des canaux calciques présynaptiques de type N
- Injection d'un seul côté
- **Observation/conclusion** : L'injection unilatérale de W-conotoxin GVIA induit une apnée bilatérale transitoire. L'effet est donc réversible. Les effets sont bilatéraux alors que l'injection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



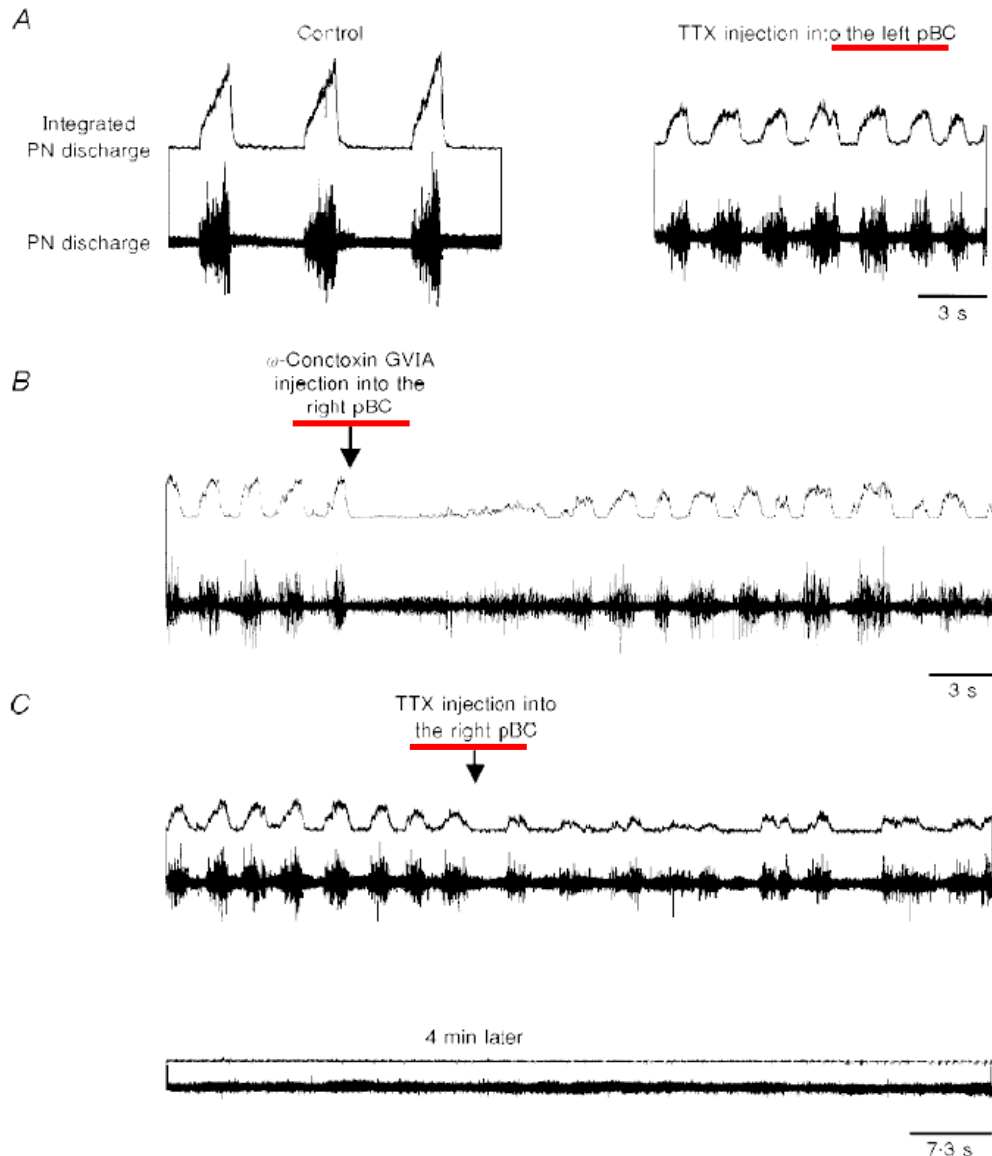
- Décrivez
- Interprétez
- Conclusion sur cette expérience



- 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

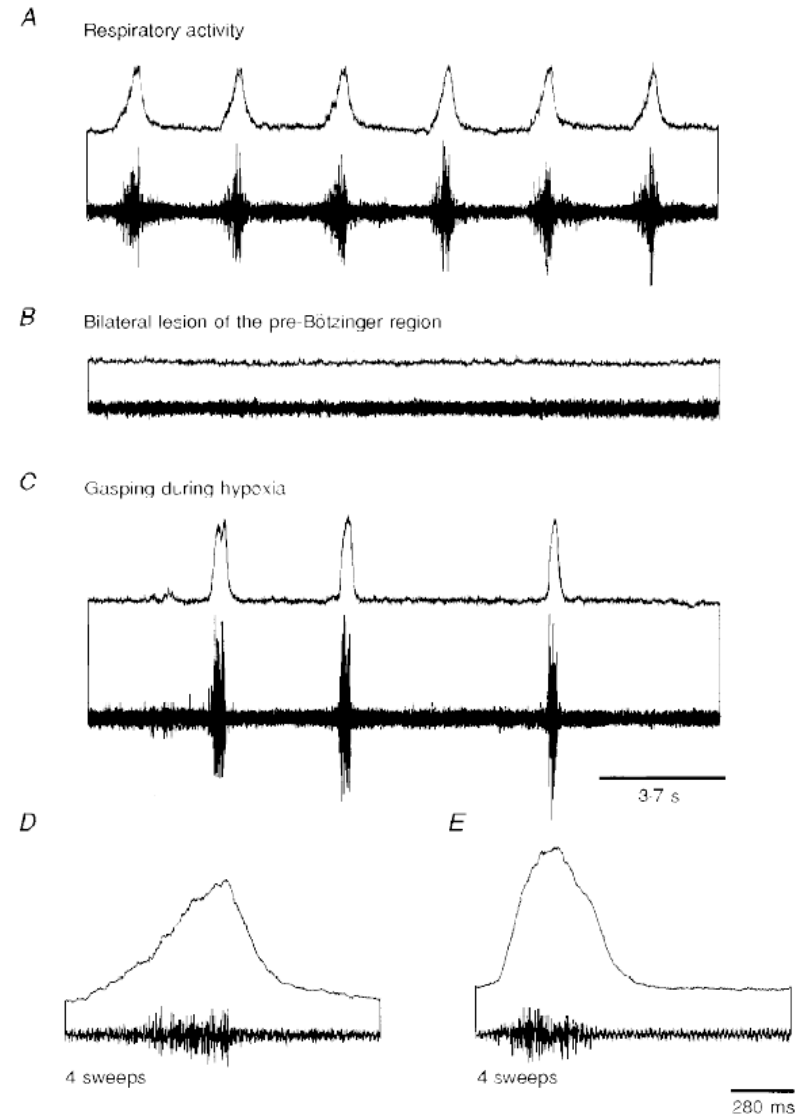


- La TTX (bloque les PA - irréversible) indique....
- Qu'elle est l'intérêt du panneau B ?
- Conclusion suite au panneau C?

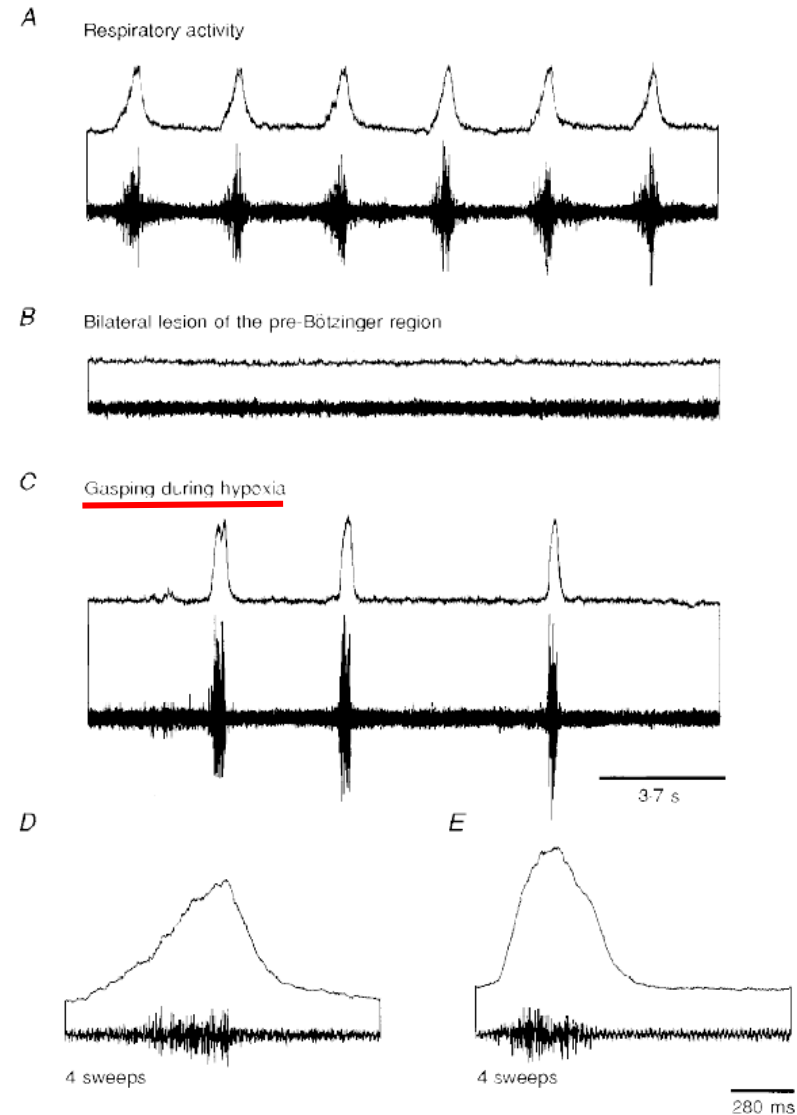


- La TTX (bloque les PA - irréversible) indique....**que le rythme respiratoire peut-être fabriqué à l'aide d'un seul PBC (peut-être pas la fréquence)**
- Qu'elle est l'intérêt du panneau B ? **Il indique un effet supplémentaire du blocage des canaux calciques présynaptiques dans l'autre PBC**
- Conclusion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

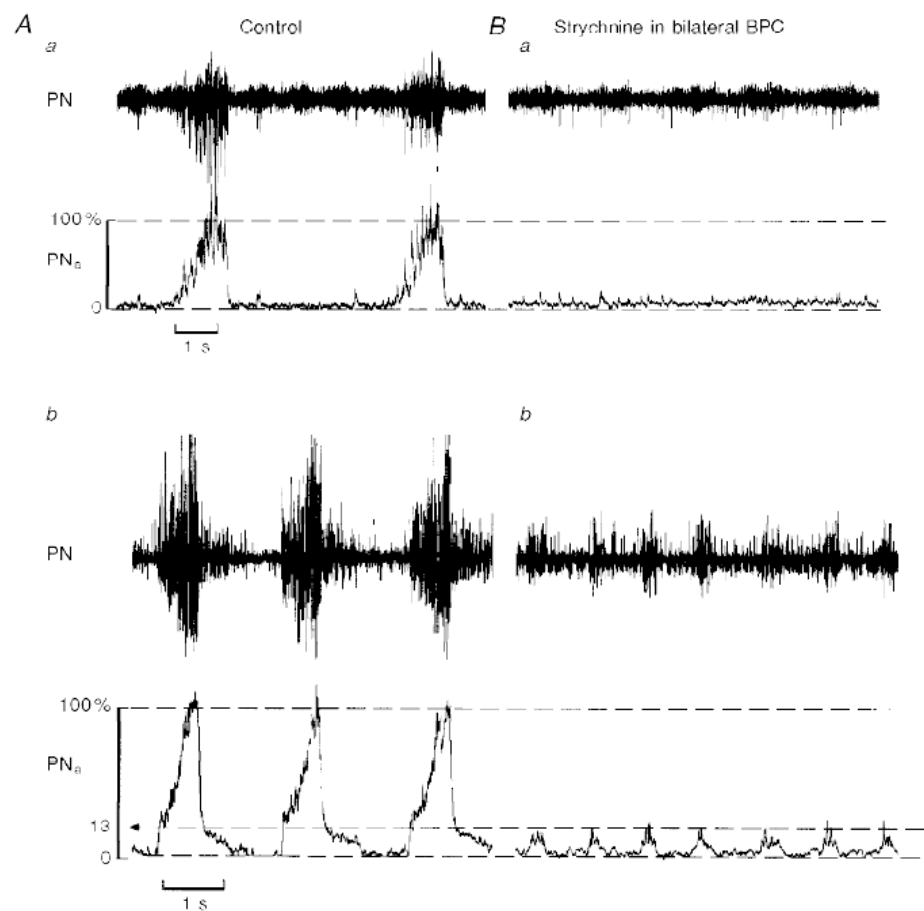


Figure 2. Two typical effects of bilateral injections of strychnine into the pre-Bötzinger complex

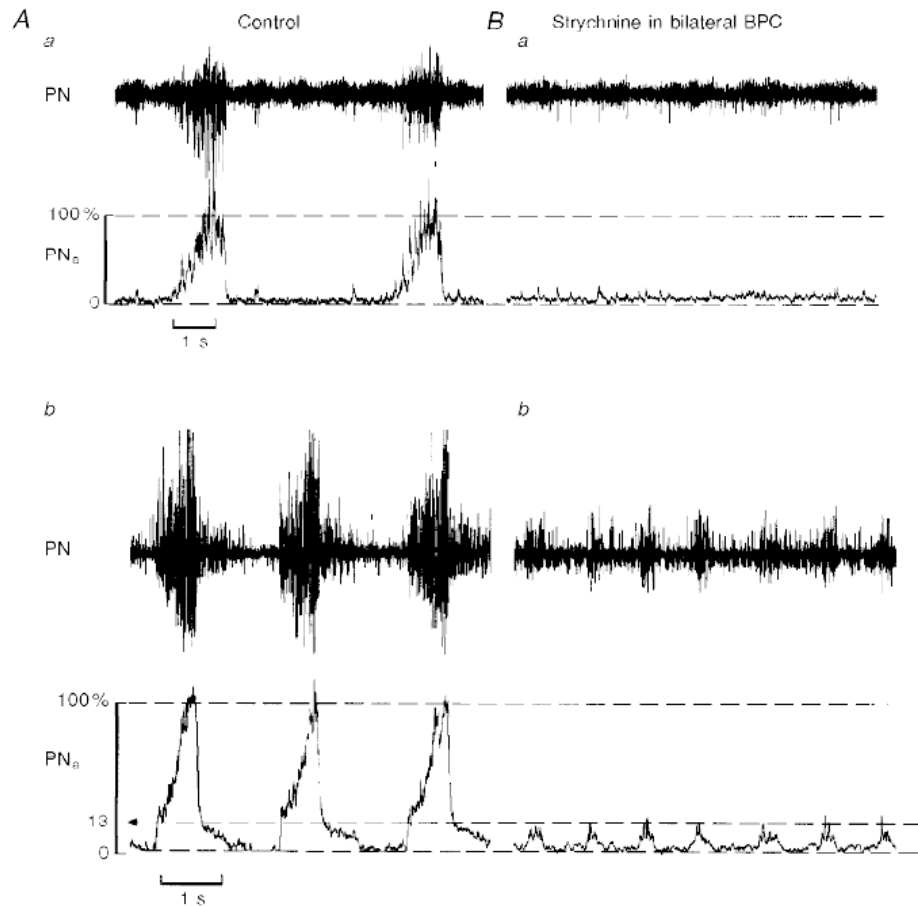
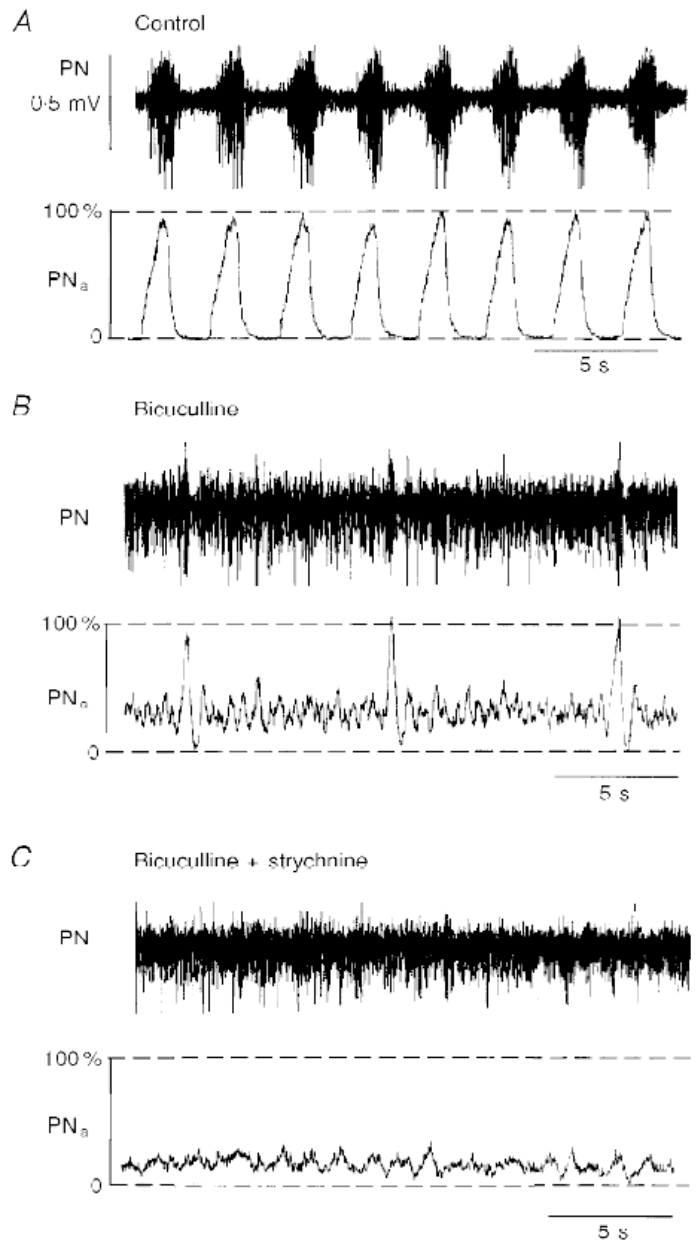
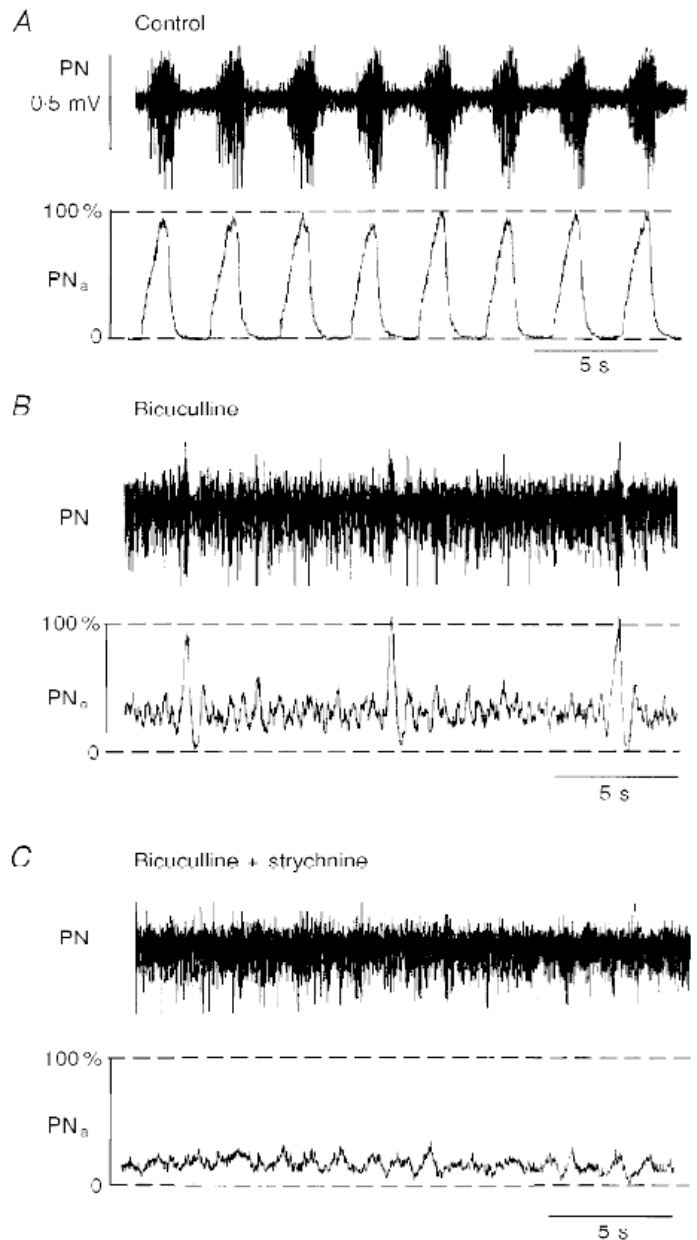


Figure 2. Two typical effects of bilateral injections of strychnine into the pre-Bötzinger complex

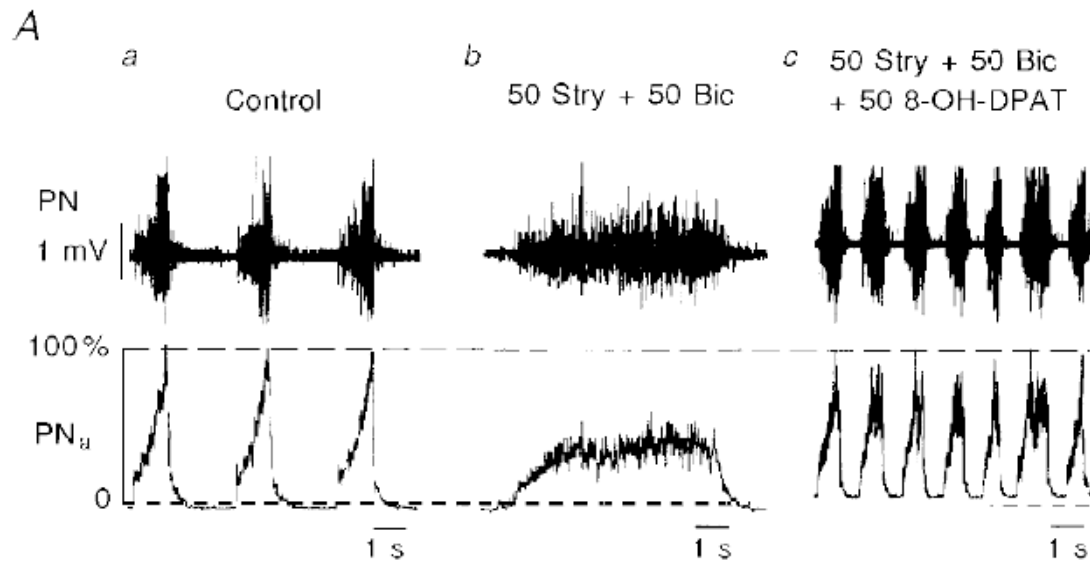
- Injection de strychnine en bilatéral dans chaque PBC → abolition ou très forte perturbation du rythme: les inhibitions glycinergiques sont importantes
- Ces inhibitions semblent jouer sur à la fois l'amplitude et la fréquence de la respiration



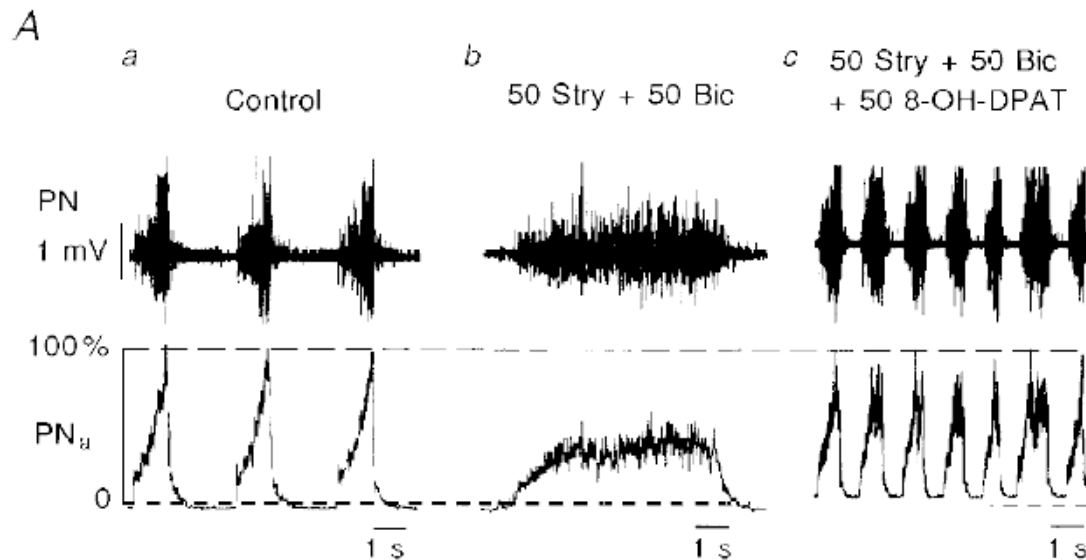
- Injections bilatérales de Bicuculline à 100 μ M et Strychnine à 100 μ M



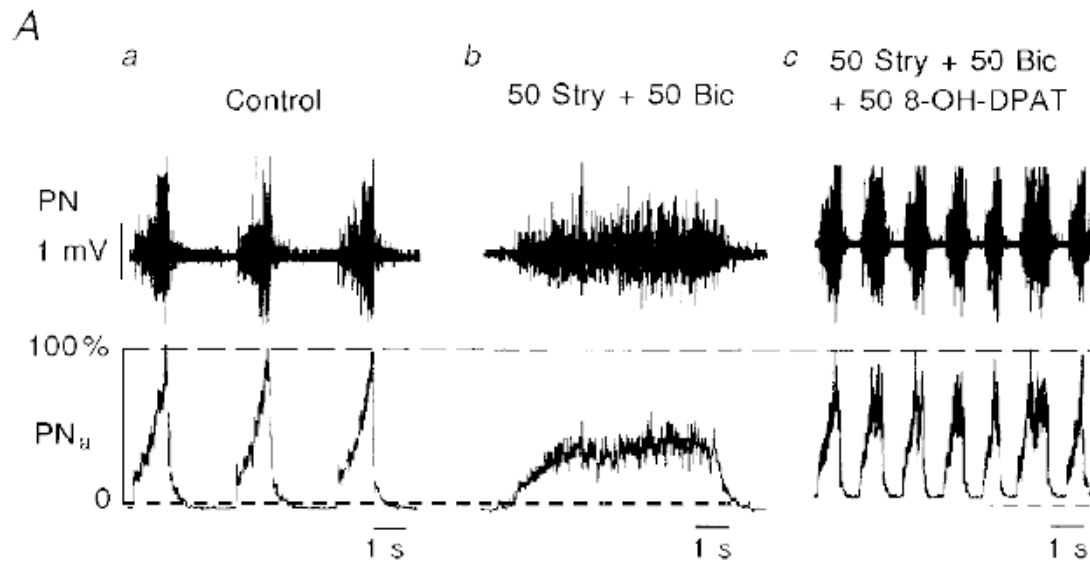
- Injection de bicuculline en bilatéral dans chaque PBC ➔ abolition du rythme avec persistance de petit burst phrénique (est ce du Gaspings?) : les inhibitions GABAergiques sont importantes
- L'ajout de Strychnine bloque définitivement le rythme respiratoire: les deux types d'inhibitions jouent un rôle



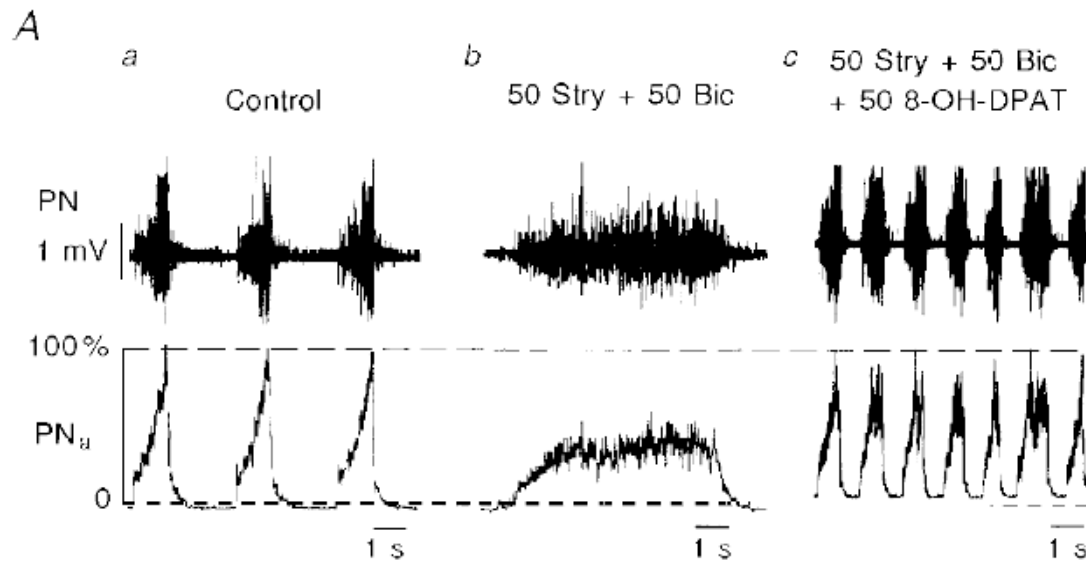
- Injections des mêmes substances mais à des concentrations plus faibles
- Que remarquez-vous?
- Pourquoi utiliser le 8-OH-DPAT?



- 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 apneuse**
- Pourquoi utiliser le 8-OH-DPAT? **Parce qu'on sait qu'il peut réverser les apneuses**



- 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

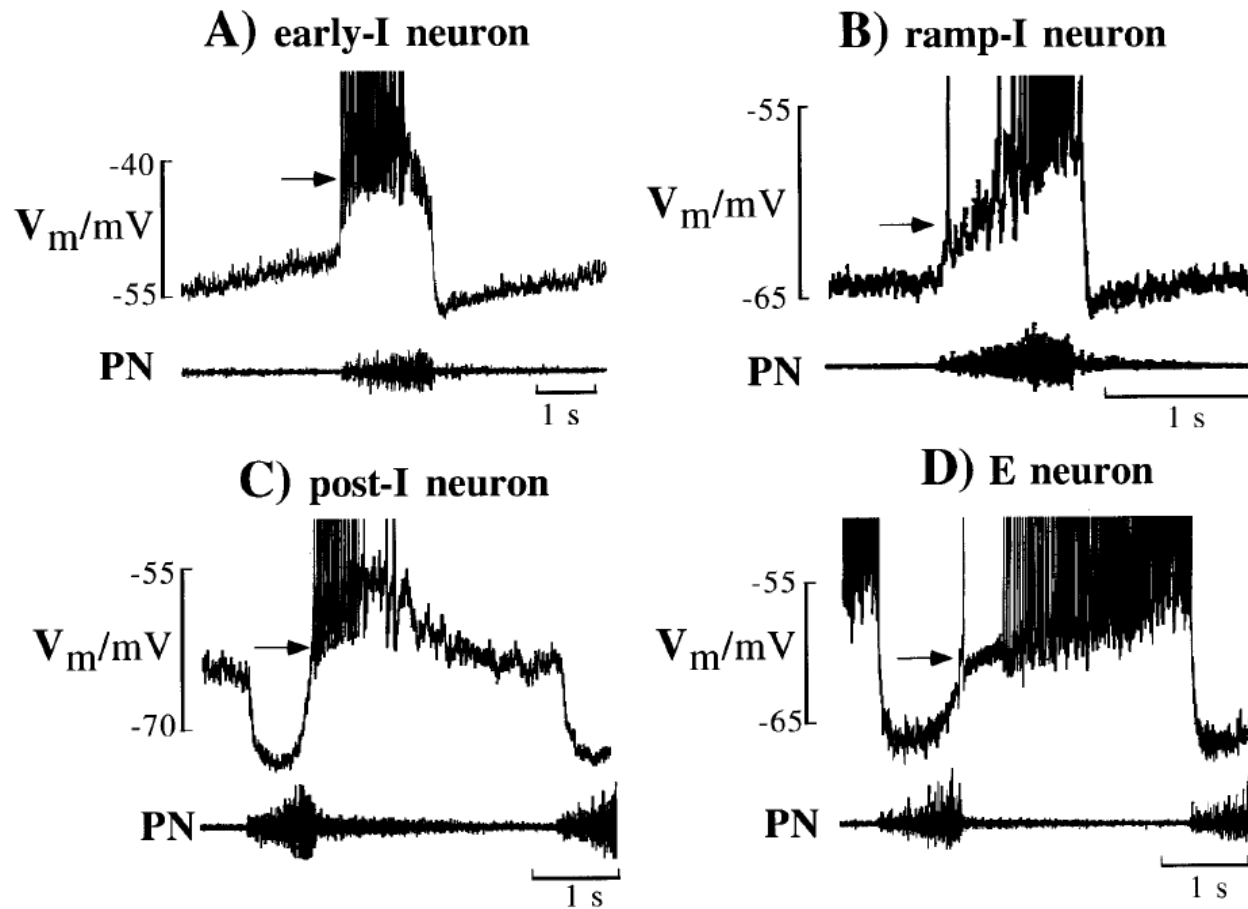
- Pourquoi effectuer une telle étude ?

ORIGINAL ARTICLE

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

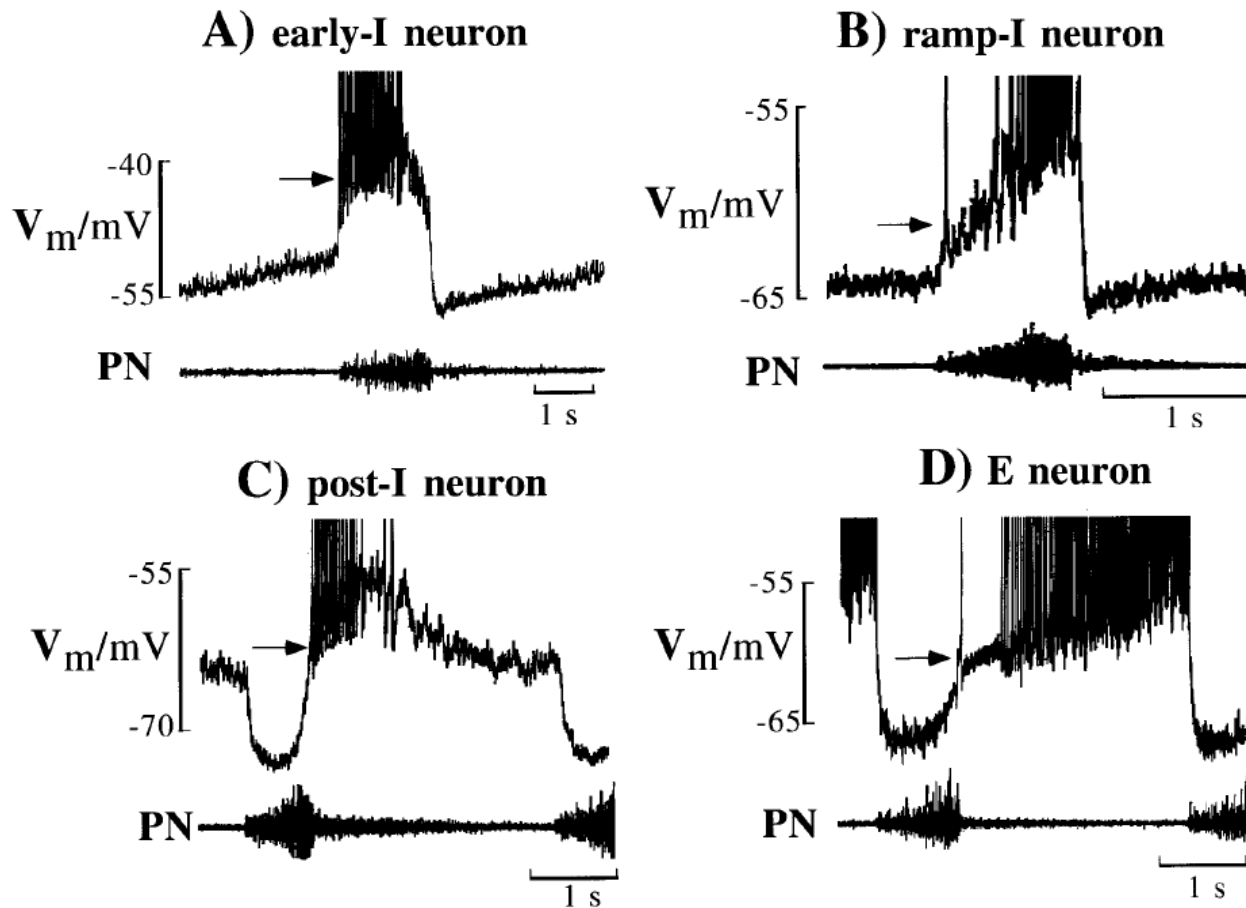
Calcium currents in respiratory neurons of the cat in vivo

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



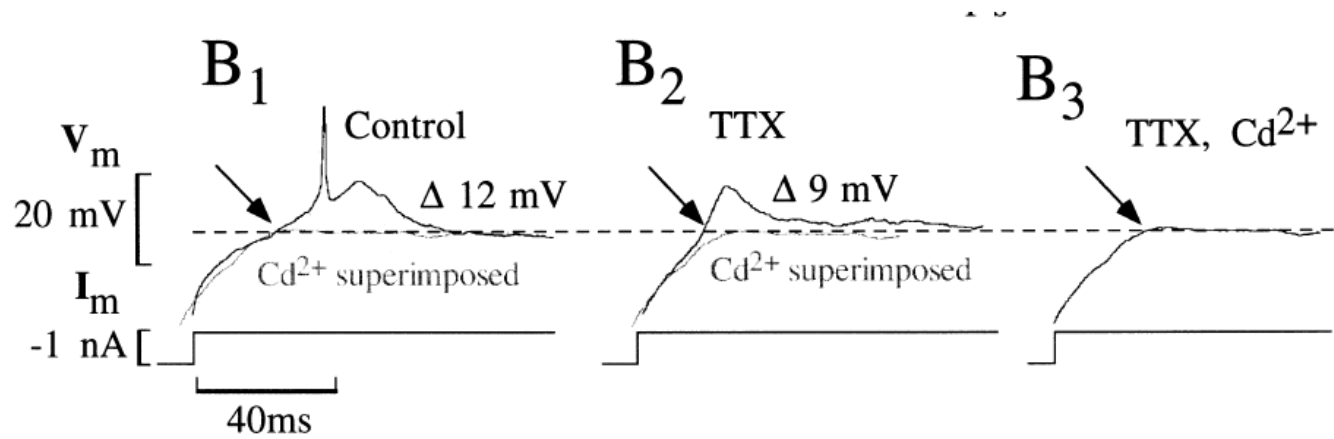
Qu'illustre cette image?

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

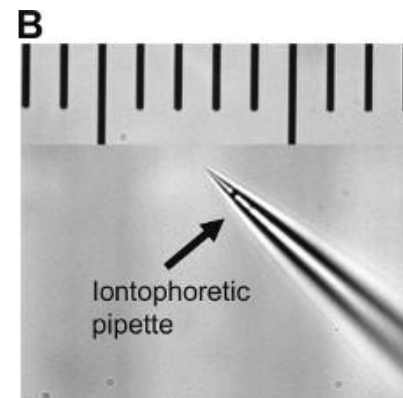
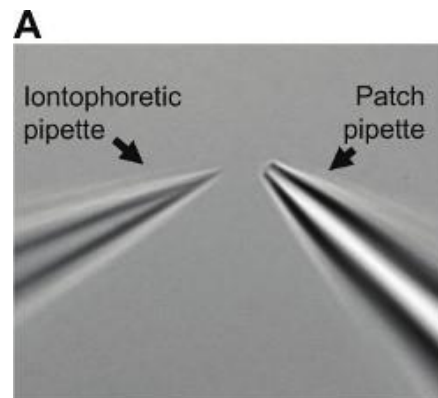
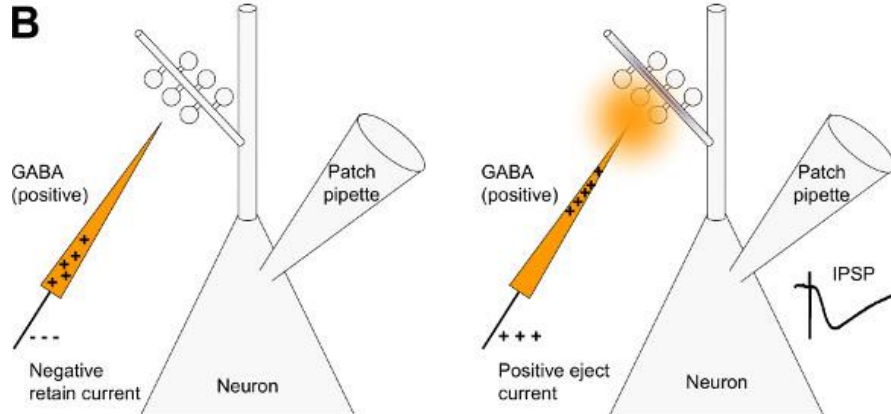
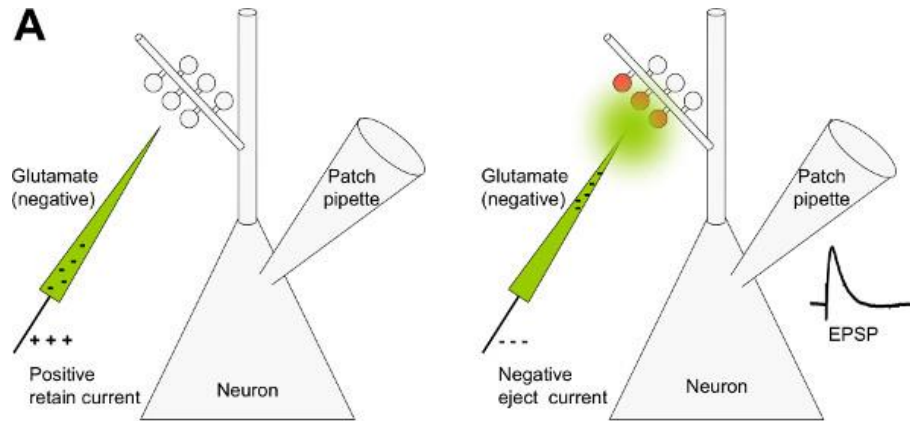


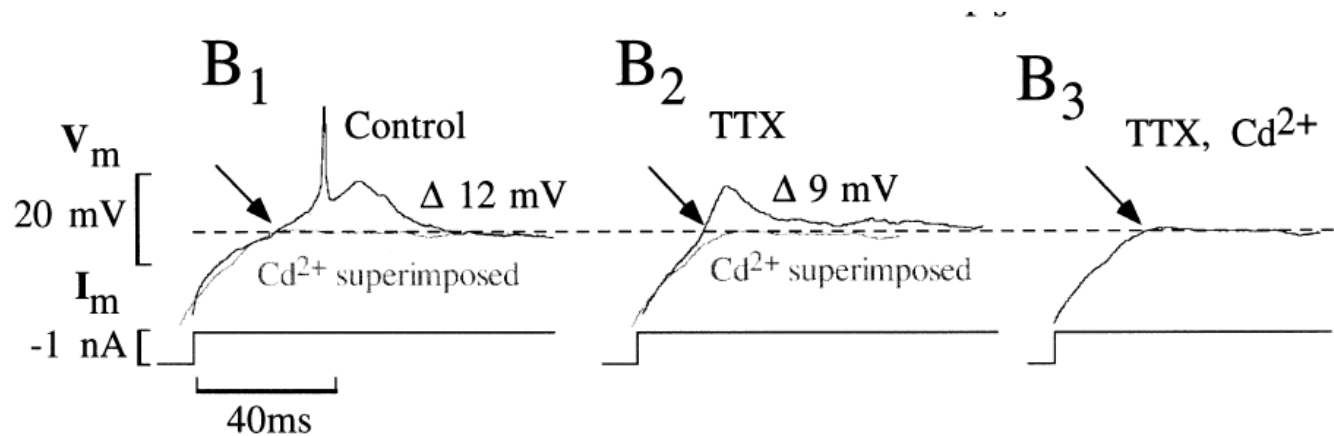
Qu'illustre cette image? Ce sont des enregistrements intracellulaires de neurones respiratoires. On le voit à l'oscillation de leur potentiel de membrane entre un minimum et un maximum au cours de la décharge de PA.

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..)

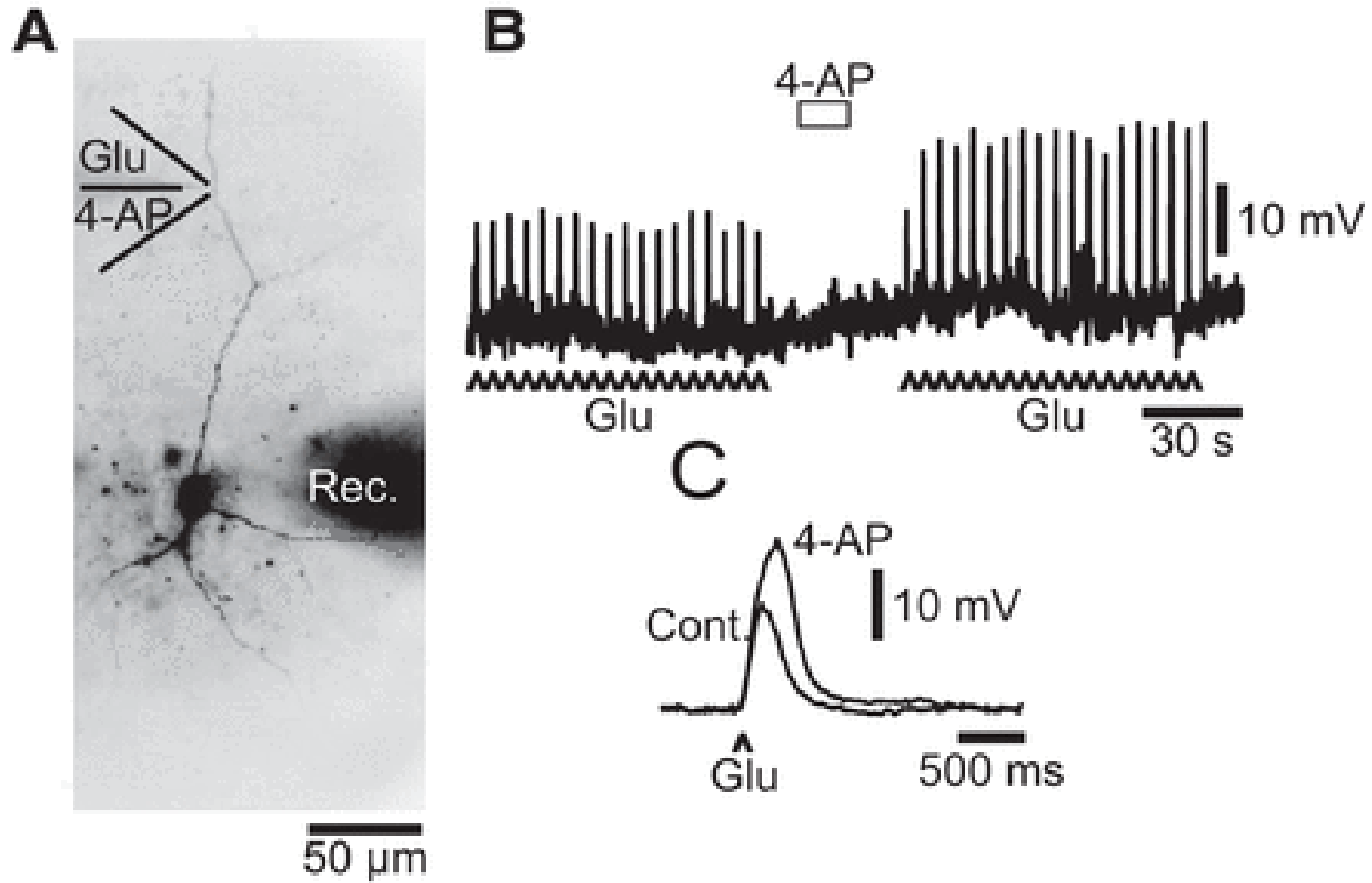


- Technique de ionophorèse
- Décrivez
- Interprétez
- Concluez

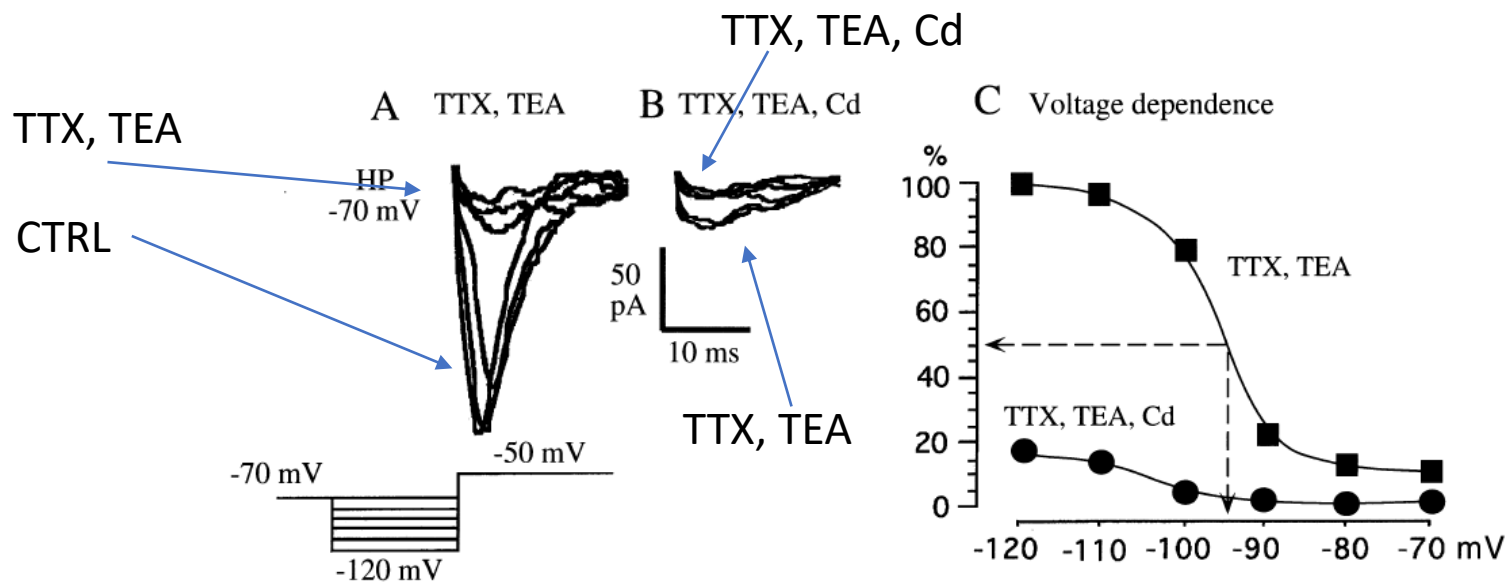




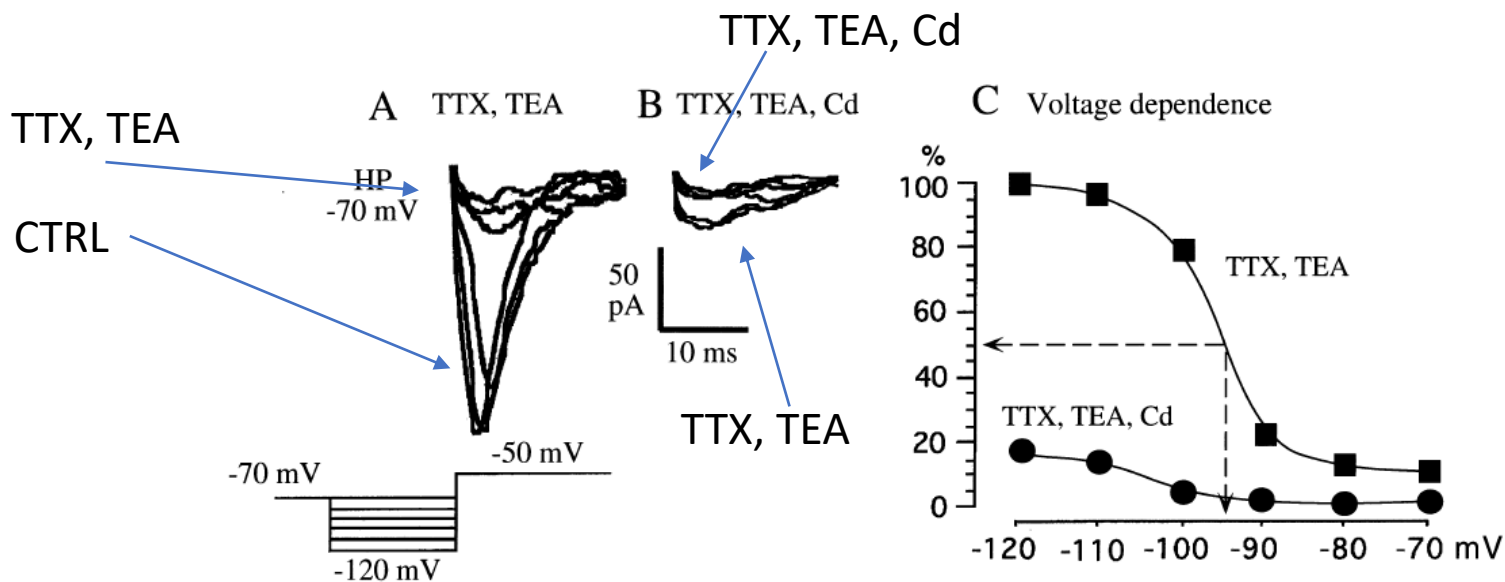
- Technique de ionophorèse
- Décrivez: on est en courant-imposé (j'injecte du courant et je mesure une variation du potentiel) . En B₁, la fermeture du créneau de courant entraîne une dépolarisation transitoire (un rebond de 12 mV) du PM, sur lequel se greffe un PA pas en pleine forme...La trace Cd²⁺ montre ce qui reste en boquant 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 démarrage des bouffées de PA dans les neurones respiratoires.



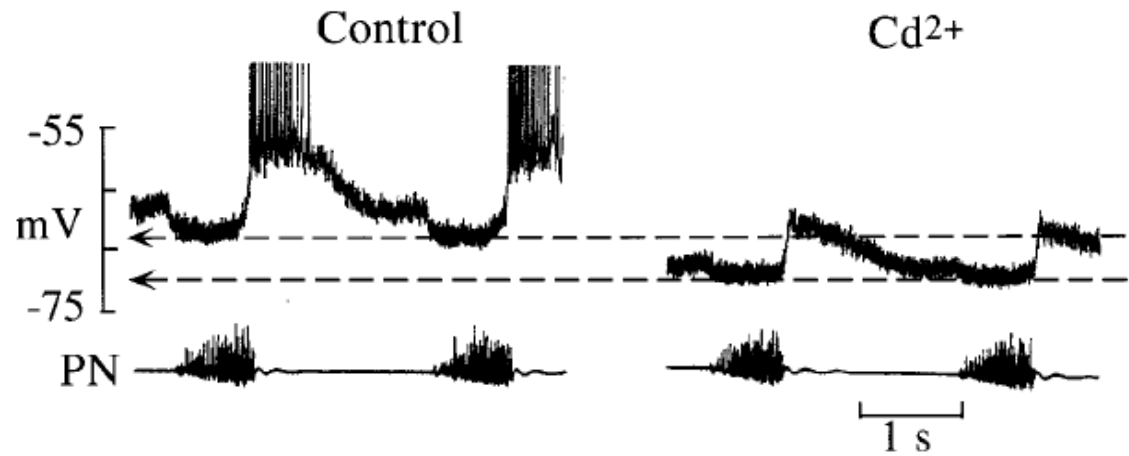
La 4-AP est un antagoniste des courants K^+ voltage dépendants transitoires
Glu = glutamate



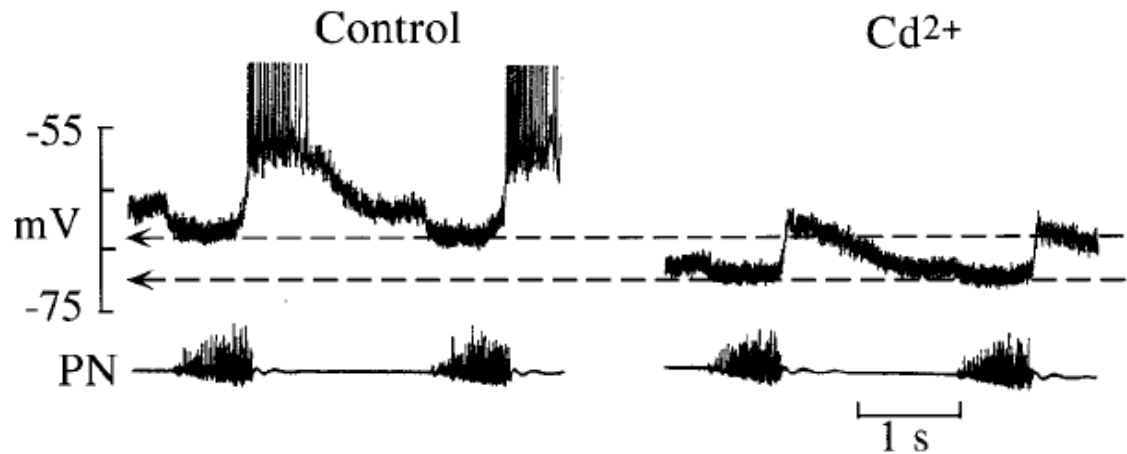
- Panneau A : expliquez le protocole
- Panneau A: décrire les résultats
- Panneau B: décrire les résultats
- Panneau C: expliquez et décrire



- 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'hyperpolariser, 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.

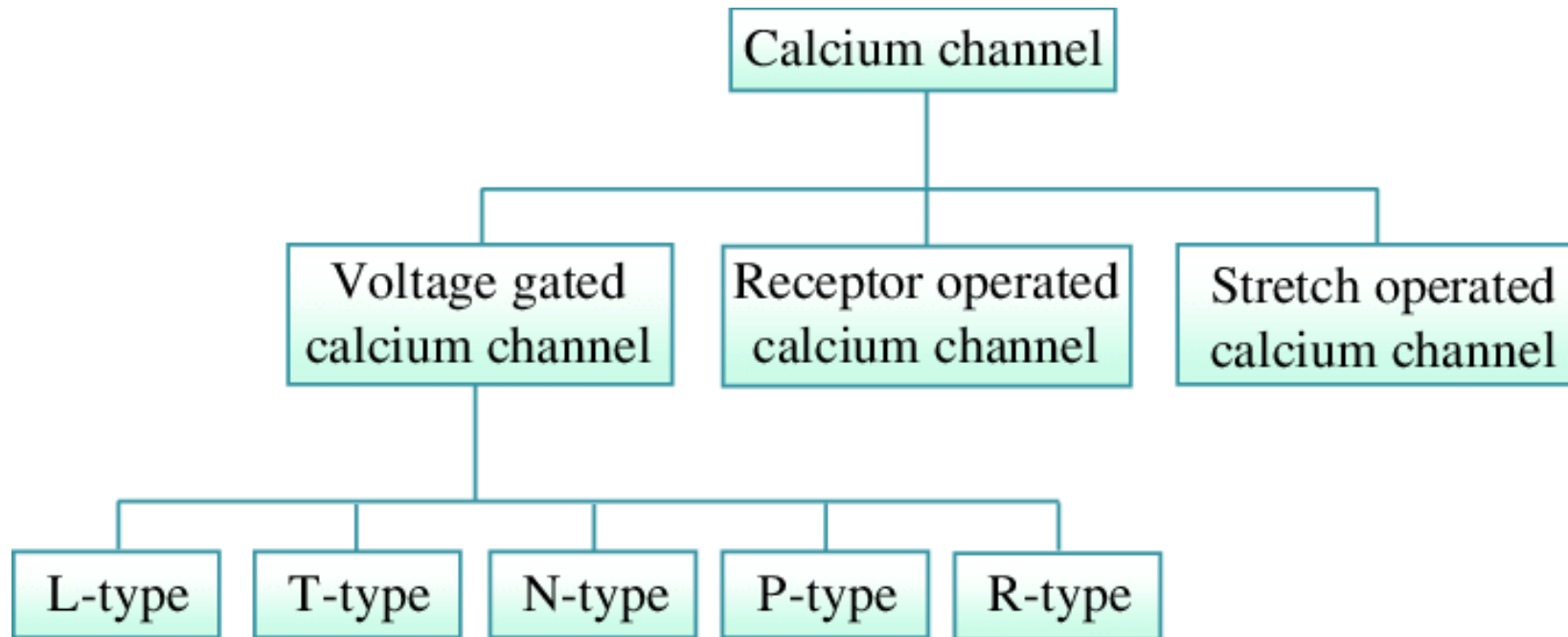


- Décrivez
- Mettez en relation avec les documents précédents



- 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?



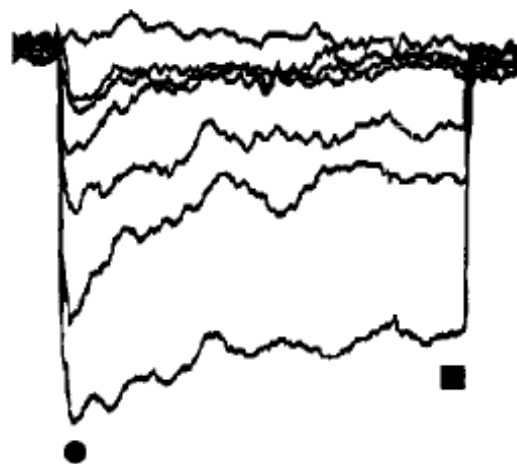
Voltage-gated Calcium Channel

Type	Voltage	Associated Subunit	Location
L-type Calcium Channel	High-Voltage-Activated	$\alpha_2\delta$, β , γ	Skeletal Muscle, Smooth Muscle, Osteoblasts, Ventricular Myocytes and Dendrites of Cortical Neurons
P-type Calcium Channel	High-Voltage-Activated	$\alpha_2\delta$, β , 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	$\alpha_2\delta$, β , possibly γ	Cerebellar Granule Cells
T-Type Calcium Channel	Low-Voltage-Activated	Single α	Neurons Cells, i.e. pacemaker, bone, thalamus

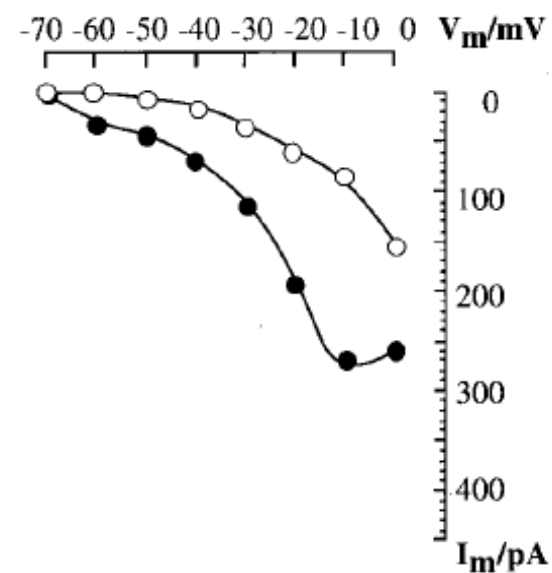
Gerald (2017)

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

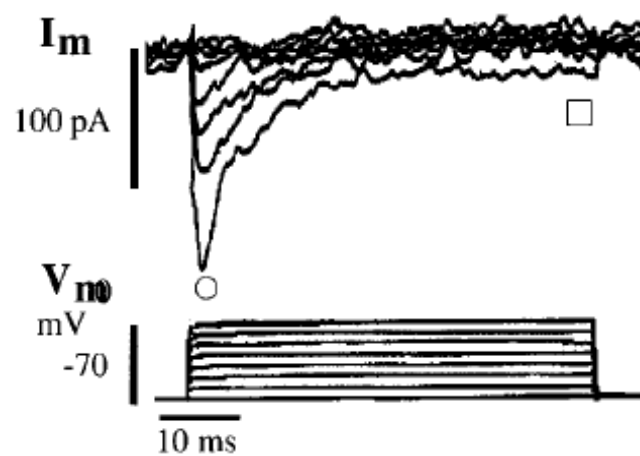
A) Control (TTX, TEA)



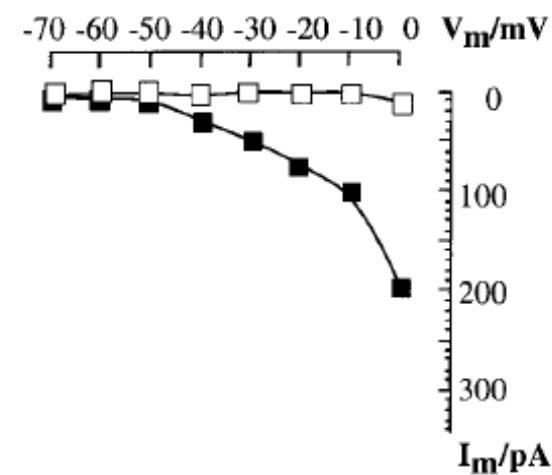
C) Peak currents

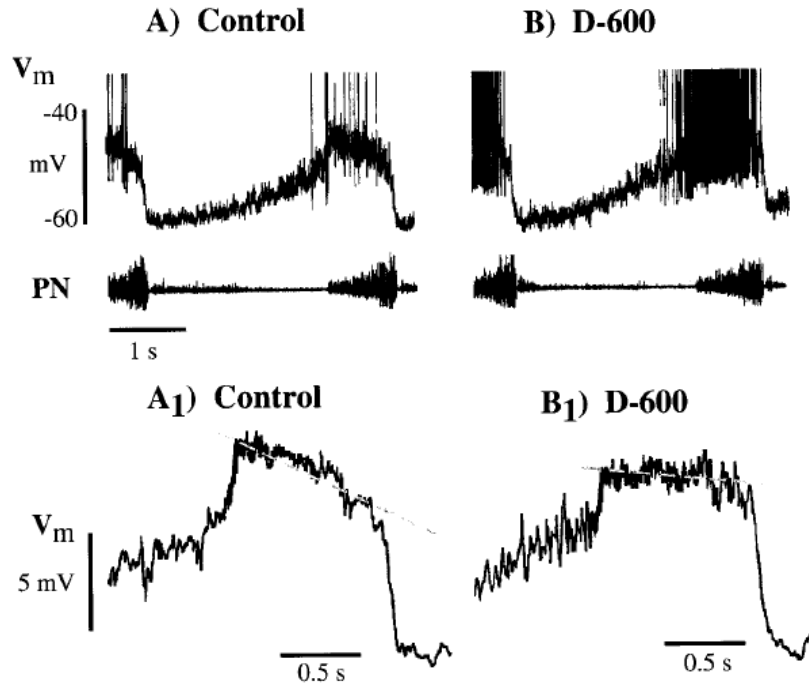


B) Cd^{2+} -Block

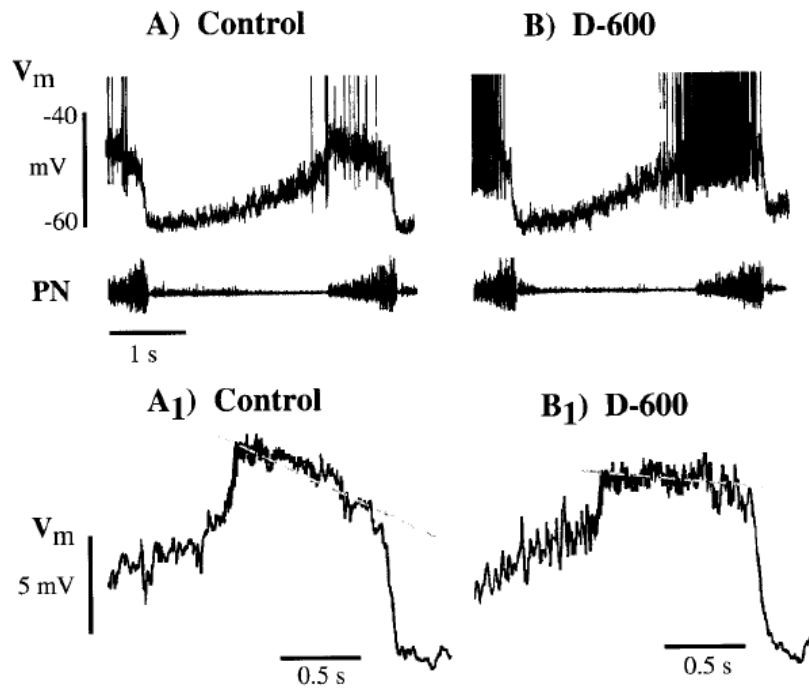


D) Sustained currents





- 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 $K(ca)$.**