

UNIVERSITE

PIERRE ET MARIE CURIE

-PARIS 6-

4 Place Jussieu 75252 PARIS CEDEX 05

PYRAMIDE DE LA SCOLARITE

BUREAU DES ENSEIGNEMENTS DU 3<sup>ème</sup> CYCLE

Cour 13-24

Tel. : 44 27 33 08

DOCTORAT DE L'UNIVERSITE PARIS 6

Spécialité :

SCIENCES DE LA VIE

RAPPORT de SOUTENANCE

de THESE

Thèse soutenue le 07 JANVIER 1995

par Mademoiselle GUYON ALICE

Sujet de la thèse :

CARACTERISATION ET MODULATION DES COURANTS CALCIQUES DANS LES NEURONES THALAMO-CORTICAUX. ROLE DU COURANT CALCIQUE A BAS SEUIL.

Composition du jury :

MR MARTY

MR MILES

MR ASCHER

MR FELTZ

MR TRITSCH

RAPPORT de soutenance

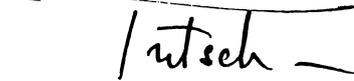
(utiliser le verso de ce document pour le rapport de soutenance)

Mention accordée au candidat \*  
par le jury :

PARIS, le 07 JANVIER 1995

Le président et les membres du jury :

Très honorable avec félicitations



Richard Miles.



\* L'article 27 de l'arrêté du 30 mars 1992 prévoit l'attribution des mentions :

- honorable
- très honorable
- très honorable avec félicitations

**RAYER OBLIGATOIREMENT LES MENTIONS INUTILES**

L'exposé de Mademoiselle Guyon a été considéré par l'ensemble du jury comme remarquable. Structuré et clair, il a permis de donner à l'ensemble des résultats une unité qui n'était pas a priori facile à percevoir.

La discussion a fait apparaître quelques faiblesses dans deux groupes d'interprétations. 1) La conclusion suivant laquelle une différence majeure existerait entre les courants T des cellules du GL/VB et ceux des cellules du RT est apparue un peu prématurée parce que fondée sur un trop petit nombre d'expériences, et ne prenant pas assez en compte l'expansion exceptionnelle de l'arbre dendritique des cellules du RT. 2) Le fait que la caractérisation électrophysiologique des effets de l'éthosuximide n'a pu être faite que sur des rats GAERS jeunes (ne présentant pas encore de crises) affaiblit les conclusions que l'on peut tirer de l'insensibilité à l'éthosuximide des courants T.

Ces critiques, et quelques autres concernant des points mineurs (comme celui d'une rédaction un peu trop "lisse" du manuscrit) n'ont pas paru devoir diminuer de façon sensible l'appréciation très positive des membres du jury sur la qualité du travail présenté, et en particulier sur l'intérêt des observations indiquant la présence sur les neurones du GL de deux récepteurs GABA-B distincts, chacun couplé à un canal calcique différent. Il s'agit là d'une observation très originale, qui justifiera sans doute d'importants développements.

Le jury a estimé que le caractère original des résultats, la remarquable qualité de l'exposé et les évidentes qualités professionnelles de Mademoiselle Alice Guyon justifiaient que lui soit attribuée la plus haute mention.

4, Place Jussieu - 75252 Paris Cedex 05

SERVICE DE LA SCOLARITE

Bureau des Enseignements du 3e cycle

Pyramide - Cour 14-24

Tél. : 44.27

Neuroscience

R A P P O R T

de M ..... Alan MARTY .....  
 qualité ..... Directeur de Recherche CNRS .....  
 Lieu d'exercice ..... Göttingen .....  
 sur la Thèse présentée par M<sup>me</sup> ..... A. GUYON .....  
 ayant pour sujet : ..... CARACTERISATION ET MODULATION DES  
 ..... COURANTS CALCIQUES DANS LES NEURONES  
 ..... THALAMO-CORTICAUX. RÔLE DU COURANT  
 ..... CALCIQUE A BAS SEUIL. .....

Le travail de thèse de Mme Guyon porte sur les mécanismes de transformation de l'information sensorielle dans les cellules relais du thalamus. Sur le plan expérimental, Mme Guyon s'appuie principalement sur des expériences utilisant la technique de patch-clamp dans des préparations de tranches de thalamus de Rat.

Mme Guyon s'est premièrement intéressée à un sous-type de courants calciques, dits "à bas seuil" ou "de type T" dont on sait qu'ils sont présents dans le thalamus et qu'ils y jouent un rôle important dans la régulation de phénomènes périodiques. Il a été montré qu'il est possible d'enregistrer des courants de type T dans les neurones thalamiques à condition d'utiliser des animaux dont l'âge ne dépasse pas 15 jours. Les résultats ont été comparés entre les cellules relais et les cellules du noyau réticulé thalamique, qui envoient une inhibition rétroactive sur les cellules relais. Les deux types de cellules ont des courants de type T, mais avec des caractéristiques différentes: leur amplitude est moindre, et ils sont inactivés par des dépolarisations plus faibles pour les cellules du noyau réticulé que pour celles des cellules relais.

Ayant décrit les propriétés des courants de type T dans deux sortes de cellules thalamiques, Mme Guyon s'est attachée à tester l'idée souvent avancée que ces courants pourraient jouer un rôle dans des situations pathologiques comme dans une crise épileptique du type "petit mal". Ici, les résultats ont été largement négatifs. C'est ainsi qu'il n'a pas été possible de mettre en évidence de différences entre les courants de type T de deux souches de Rat dont l'une est spontanément épileptique et l'autre pas. Par ailleurs ni l'éthosuximide, un agent anticonvulsant efficace contre les crises "petit mal", ni le backofen, qui

favorise l'apparition des crises, n'ont eu un effet quelconque sur les courants de type T des deux sortes de neurones thalamiques examinés.

Mme Guyon a donc été amenée à examiner l'hypothèse que d'autres courants calciques pourraient jouer un rôle essentiel dans le déclenchement des oscillations thalamiques. Elle a analysé les propriétés des canaux calciques "à haut seuil" des cellules relais. Trois sous-types ont été révélés: canaux de type L, N et d'un troisième type non caractérisé (canaux résiduels, appelés R). Le baclofen réduit l'amplitude des courants de type N et R. Cependant une analyse fine a révélé que ces deux actions se produisent dans des gammes de concentration différentes: 0.5 à 10  $\mu\text{M}$  pour la deuxième, et supérieure à 10  $\mu\text{M}$  pour la première. Mme Guyon s'est alors attachée à poursuivre cette distinction sur le plan pharmacologique. Elle a découvert que le CGP 55845A bloque les deux effets du baclofen tandis que le CGP 35348 et le phaclofen, deux autres bloquants des récepteurs GABA<sub>B</sub>, ne bloquent que l'effet sur la composante de type N. Ces résultats suggèrent fortement l'existence de deux types distincts de récepteurs GABA<sub>B</sub> dans cette préparation, chacun modulant de façon propre une fraction des canaux calciques à haut seuil.

Au cours de ce travail, Mme Guyon a fait preuve d'excellentes qualités d'expérimentaliste et de beaucoup de rigueur dans la conduite et l'interprétation de ses résultats. Les analyses des courants calciques ont été poussées au maximum de ce qu'elle pouvaient donner étant données les redoutables difficultés liées à la géométrie complexe des neurones. Les résultats sur les canaux calciques à haut seuil et sur leur régulation par le GABA sont remarquables de plusieurs points de vue. D'une part, ils suggèrent que la cible des effets du GABA dans cette préparation pourrait être les canaux à haut seuil, ce qui réclame une réinterprétation de l'hypothèse souvent avancée d'un rôle prépondérant des canaux à bas seuil dans la régulation des phénomènes d'activité nerveuse oscillatoire. Deuxièmement ils apportent une indication très forte en faveur de l'existence de plusieurs sous-types de récepteurs GABA<sub>B</sub> dans cette préparation, et ils esquissent les premiers éléments d'une pharmacologie différentielle de ces différents récepteurs. Enfin ils indiquent que chaque sous-type de récepteur est couplé de façon spécifique à un ou à plusieurs sous-types correspondants de canaux calciques. Les implications de ces résultats s'étendent bien au-delà de l'étude des noyaux thalamiques.

En conclusion, l'ensemble du travail de Mme Guyon est de haute qualité et laisse prévoir une carrière de chercheur productive.



4, Place Jussieu - 75252 Paris Cedex 05

SERVICE DE LA SCOLARITE

Bureau des Enseignements du 3e cycle

Pyramide - Cour 14-24

Tél. : 44.27

Neurosciences

## R A P P O R T

de M ..... Richard Miles.  
 qualité ..... Directeur des Recherches, CNRS.  
 Lieu d'exercice ..... Institut Pasteur, 25 rue de Dr Roux, 75724 Paris  
 sur la Thèse présentée par M ..... Mme. Alice GUYON.  
 ayant pour sujet : ..... Caractérisation et modulation des courants calciques  
 dans les neurones thalamo-corticaux. Rôle du courant calcique à bas seuil.

Dans sa thèse, ALICE GUYON a décrit plusieurs composantes d'un courant entrant dû aux ions calciques dans les cellules principales du thalamus. Elle a considéré le rôle des ces courantes dans les activités physiologiques et pathologiques que montre cette structure. Finalement la modulation des ces courantes par l'activation des récepteurs GABA-B a été étudiée.

La thèse commence par une section d'introduction où est résumé l'état actuel de nos connaissances sur le thalamus. D'abord l'organisation cellulaire de cette structure et les conductances intrinsèques des neurones principales sont rappelées. Puis les contributions de ces courantes à le répertoire des patterns de décharge des cellules thalamo-corticales sont considérées. Finalement les propriétés cellulaires et synaptiques sont intégrées afin d'expliquer les oscillations rythmiques des populations des cellules thalamiques associées avec les états comportementales tels que le sommeil et les états pathologiques tels que les épilepsies de type "crise d'absence". Cette sommaire est soigneusement présenté et sert admirablement à diriger ses lecteurs vers les courantes calciques et leur rôle physiologique - sujet principal de la thèse. Les expériences, que décrit ce travail, ont été conduit en utilisant les tranches fins du thalamus et les cellules dissociées venant du cette même structure. Le matériel et les méthodes expérimentales sont clairement exposées.

Deux articles venant des travaux d'Alice GUYON sont déjà parus dans les revues "Neuroreport" et "Journal of Physiology" et un troisième est sous presse, elle aussi dans le "Journal of Physiology".

Le courant calcique a bas seuil (dit T) est impliqué dans les oscillations du potentiel membranaire des cellules thalamiques. Cette courante a été caractérisée dans plusieurs types des cellules thalamiques. En particulier la courante T paraît d'être plus faible dans les cellules inhibitrices du noyau réticulaire du thalamus que dans les cellules thalamo-corticales. Les enregistrements effectuées depuis les cellules en tranche ont permis de suggérer une localisation dendritique de ces canaux dans les cellules principales. Une contribution possible de ces canaux T a la synchronisation pathologique a été recherché en utilisant les rats (GAERS) qui présentent

un modèle génétique de crises d'absence. L'absence d'un changement aux propriétés des canaux T a été constatée dans un premier article publiée dans "Neuroreport". En plus le médicament ethosuximide, qui par voie intra-peritoneale réduit la fréquence des décharges en points-ondes, a été montre de n'avoir aucun effet sur la courante T enregistré, soit depuis les cellules en tranche, soit depuis les cellules dissociées. Ceci, qui me parait d'être clairement établi, contredit les travaux de Huguenard et Prince.

Les travaux décrits dans un deuxième article, ont été effectuées en collaboration avec l'équipe de V. Crunelli à Cardiff. Leur sujet c'est l'activation de la courante T par les événements synaptiques induit par la voie optique. Cette courante est inactivée au potentiel de repos. Mais l'hyperpolarisation d'une cellule post-synaptique peut le rendre activable par une PPSE afférente ce qui conduit à l'émission d'une bouffe des potentiels d'action. La composante rapide de la PPSE initié par les récepteurs du type AMPA a été démontrée plus significatif pour la décharge des potentiels d'actions par les chocs isolées. En revanche les trains des chocs afférents conduisent à une composante plus lente de la PPSE, mediee par les récepteurs du type NMDA, qui elle aussi peut déclencher les potentiels d'action.

Le courante T n'est pas la seule voie d'entrée du calcium dans les cellules thalamiques. Les données moléculaires sont en train de nous montre qu'il existe une pléthore des canaux calciques activés par les changements du potentiel transmembranaire. Dans un troisième manuscrit sous presse Alice Guyon à réussie a démontré une modulation différentielle de plusieurs courantes calciques par le transmetteur GABA agissant apparemment par deux types des récepteurs GABA-B. Le courante T, elle, n'est pas modifiée par l'activation de ces récepteurs. Par contre la courante calcique dit N est réduit par la baclofen (agoniste des récepteurs GABA-B) à une concentration de 50  $\mu\text{M}$ . En plus une courante appelée R (correspondant probablement à celui dit Q par Tsien) est diminué par les doses de la baclofen autour de 1  $\mu\text{M}$ .

Je considère que les travaux décrits dans la thèse de ALICE GUYON ont été effectués avec soin. Elle a démontré un bon niveau d'expertise technique qui a été bien utilisé afin de poursuivre les questions intéressantes. Trois articles déjà parus ou sous presse représentent une réelle contribution à notre compréhension des courantes calciques dans les cellules thalamiques et de leur modulation. Ses travaux justifient l'attribution au candidat du titre de Docteur de l'Université Paris VI. Je donne donc un avis favorable pour la soutenance de cette thèse.

Richard Miles

Paris, le 13 décembre  
1994.