

SOUSSION D'UN SUJET DE THÈSE – ECOLE DOCTORALE VIE ET SANTÉ

UNITÉ : Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives (INCI) – UPR3212 CNRS

EQUIPE

Intitulé de l'équipe : Signalisation Nociceptive dans la moelle épinière

Responsable de l'équipe: Prof. Rémy Schlichter

E-mail : schlichter@inci-cnrs.unistra.fr

Téléphone : 03.88.45.66.65.

Site web éventuel :

COMPOSITION DE L'ÉQUIPE

Nombre de chercheurs : 5

Nombre de ITA : 2

Nombre de doctorants : 3

Nombre de post-docs : 1

Autres :

CONCERNANT LA THÈSE

Nom du Directeur de thèse : Rémy Schlichter

Mail du Directeur de thèse : schlichter@inci-cnrs.unistra.fr

Téléphone : 03.88.45.66.65.

Thèse en co-encadrement : Non

Thèse en co-direction : Non

Thèse en co-tutelle : Non

Nombre de thèses en cours pour le Directeur de thèse : 1 (soutenance le 7 juillet 2015)

En cas de co-direction, co-encadrement ou co-tutelle :

Nom du co-directeur/encadrant :

Université du co-directeur/encadrant :

Nombre de thèses en cours pour le co-directeur/encadrant :

THÈSE(S) EN COURS POUR LE DIRECTEUR DE THÈSE

Nombre de thèses en cours : 1

Pour chaque doctorant en cours :

Nom : Seibt

Prénom : Frederik

Début de la thèse : octobre 2011

Fin prévisionnelle : juillet 2015

SOUSSION D'UN SUJET DE THÈSE – ECOLE DOCTORALE VIE ET SANTÉ

DOCTEURS ISSUS DE L'ÉQUIPE (durant les 5 dernières années)

Nombre de docteurs issus de l'équipe (max 3) :

Nom du docteur : Kadiri

Prénom du docteur : Nabila

Date de soutenance : 17 septembre 2010

Situation actuelle : Chef de projet chez SEMIA, Strasbourg (France).

Nom du docteur : Petitjean

Prénom du docteur : Hugues

Date de soutenance : 1 juillet 2011

Situation actuelle : Post-doctorant Université McGill, Montréal, Canada

Nom du docteur : Mesnage

Prénom du docteur : Bruce

Date de soutenance : 4 novembre 2013

Situation actuelle : Diplôme de professionnalisation en biotechnologies, Lyon

CONCERNANT LE SUJET PROPOSÉ

Titre : *(max 190 caractères, espaces compris)*

Caractérisation des mécanismes nerveux induisant l'analgésie spinale dans les douleurs aiguës et chroniques : importance des communications entre cellules gliales et neurones.

Projet : *(max 3990 caractères espaces compris, pas de caractères spéciaux)*

La douleur est un état qui accompagne de nombreuses pathologies et représente un enjeu majeur de santé publique. Les douleurs chroniques, et en particulier les douleurs neuropathiques, sont difficiles à traiter car elles sont souvent résistantes aux médicaments classiquement utilisés tels que les antidépresseurs tricycliques ou les anti-épileptiques.

La corne dorsale de la moelle épinière (CDME) est une structure importante dans la réception, l'intégration et la transmission des messages sensoriels nociceptifs jusqu'aux étages corticaux où ils donneront éventuellement lieu à une perception douloureuse.

La noradrénaline (NA) libérée à partir d'axones de neurones du locus coeruleus projetant vers la CDME exerce de puissants effets analgésiques mettant en jeu des adrénocéphes (AR) de type alpha2 (α_2 -AR). Les agonistes des α_2 -ARs (e.g. clonidine) sont utilisés en tant qu'analgésiques dans les douleurs chroniques chez l'homme. Cependant, leur injection périphérique occasionne des effets indésirables sévères (hypotension, bradycardie).

Nous avons récemment montré que la facilitation de la transmission synaptique inhibitrice dans les couches profondes de la CDME par l'activation de α_2 -ARs nécessite une **étape obligatoire impliquant les cellules gliales** et la modulation de libération de **gliotransmetteurs** (glutamate, ATP). Un tel rôle fondamental des cellules gliales n'a pas été décrit auparavant dans les effets analgésiques de la NA au niveau spinal. Par conséquent, nos objectifs sont de **caractériser en détail les mécanismes qui sous-tendent ce phénomène aux niveaux cellulaires et des réseaux neuronaux et gliaux** et de déterminer si ce phénomène est à l'origine des **effets analgésiques**



SOUSSION D'UN SUJET DE THÈSE – ECOLE DOCTORALE VIE ET SANTÉ

observés au plan comportemental (test nociceptifs). Dans ce but, nous allons utiliser une approche multidisciplinaire et combiner des techniques électrophysiologiques (patch-clamp), de biologie moléculaire (PCR, siRNA, transgénèse virale), d'imagerie du calcium et de l'ATP, de tests comportementaux et d'optogénétique. Nous utiliserons des systèmes de culture de cellules gliales et de coculture de neurones et de cellules gliales de la CDME ainsi que des préparations de tranches aiguës de moelle épinière. Nous caractériserons les mécanismes par lesquels la NA, et en particulier l'activation des $\alpha 2$ -ARs, influence la **concentration de calcium libre intracellulaire** et la **libération de gliotransmetteurs** dans les/à partir des cellules gliales dans la CDME avec un intérêt particulier pour les **canaux TRPC** qui jouent un rôle important dans les entrées de calcium dans les cellules gliales. Nous déterminerons quels types de canaux TRPC (TRPC1-7) sont exprimés dans les cellules gliales. Nous caractériserons également les **systèmes de seconds messagers** recrutés par la NA et rechercherons si et **comment ces messagers modulent les canaux TRPC**. Les résultats obtenus sur les cultures/cocultures seront vérifiés et approfondis dans les **réseaux neuronaux et gliaux natifs** dans des tranches aiguës de moelle épinière. Les conséquences de la libération endogène de NA seront évaluées par **optogénétique** en utilisant des souris transgéniques dans lesquelles la « channel rhodopsin 2 », un canal cationique que l'on peut activer par la lumière, sera exprimé sélectivement dans les neurones noradrénergiques. Le rôle des $\alpha 2$ -ARs gliaux sur le **comportement nociceptif** sera étudié en utilisant des lignées de souris transgéniques dans lesquelles les $\alpha 2A$ -ARs sont spécifiquement inactivés ou exprimés dans les cellules gliales. Nous rechercherons si d'autres neurotransmetteurs sont susceptibles de mimer les effets de la stimulation des $\alpha 2$ -ARs. L'activation de ces récepteurs devrait reproduire les effets analgésiques des $\alpha 2$ -ARs et si des agonistes de ces récepteurs peuvent passer la barrière hémato-encéphalique après administration périphérique, ils pourraient représenter des **molécules intéressantes pour des stratégies analgésiques chez les patients douloureux chroniques**.

Compétences souhaitées : *(max 590 caractères, espaces et sauts de lignes compris)*

Bonnes connaissances de base en neurosciences (perméabilité membranaire, canaux ioniques, transmission synaptique, réseaux de neurones, neurophysiologie sensorielle) et si possible en biologie cellulaire et en neuropharmacologie.

Intérêt pour l'étude de la transmission synaptique et de sa modulation.

Motivation, curiosité scientifique, intérêt pour les approches inter et pluridisciplinaires.

Qualités humaines requises pour le travail en équipe

Expertises qui seront acquises au cours de la formation : *(max 590 caractères, espaces et sauts de lignes compris)*

Technique du patch-clamp sur tranches et sur culture cellulaire

Imagerie du calcium intracellulaire

Immunocytochimie

Culture primaire de neurones de moelle épinière

Préparation de tranche de moelle épinière

Techniques de neuropharmacologie

Analyse de données électrophysiologiques et d'imagerie

Analyse d'un problème scientifique d'un niveau moléculaire jusqu'à un niveau très intégré.

Test comportementaux

SOUSSION D'UN SUJET DE THÈSE – ECOLE DOCTORALE VIE ET SANTÉ

Mot clé (servira pour la consultation des sujets) : *(max 40 caractères, espaces compris)*

Communication glie-neurone

PUBLICATIONS MAJEURES DE L'ÉQUIPE RELATIVES AU SUJET AU COURS DES 3 DERNIÈRES ANNÉES. SI NOUVEAU SUJET SANS PUBLICATION, MERCI D'INDIQUER 3 PUBLICATIONS RÉCENTES DU DIRECTEUR DE THESE.

1) Petitjean, H., Rodeau, J.-L. & **Schlichter, R.**. Interactions between superficial and deep dorsal horn spinal cord neurons in the processing of nociceptive information. **Eur. J. Neurosci.**, (2012), 36, 3500-3508.

2) Pawlowski, S., Gaillard, S., Ghorayeb, I., Ribeiro-da-Silva, A., **Schlichter, R.** & Cordero-Erausquin, M. A novel population of cholinergic neurons in the macaque spinal dorsal horn of potential clinical relevance for pain therapy **J. Neurosci.**, (2013), 33, 3727-3737.

3) Petitjean, H., Hugel, S., Barthas, F., Bohren, Y., Barrot, M., Yalcin, I. & **Schlichter, R.** Activation of TRPV2-expressing primary afferents stimulates synaptic transmission in the deep dorsal horn of the rat spinal cord and elicits mechanical hyperalgesia. **Eur. J. Neurosci.**, (2014), 40, 3189-3202.

CONTRATS DE L'ÉQUIPE *(max 140 caractères, espaces et sauts de lignes compris)*

ANR Neurosciences

IDEX, Investissements d'avenir de l'Université de Strasbourg

Partie à rédiger en anglais :

TOPIC

Title : *(max 190 caractères, espaces compris)*

Characterization of the neural mechanisms underlying spinal analgesia in acute and chronic pain : importance of glia to neuron communication.

Project : *(max 3990 caractères espaces compris, pas de caractères spéciaux)*

Pain is associated with numerous pathologies and represents a major public health issue. Chronic pain states, and in particular neuropathic pain, are difficult to treat because a substantial fraction among them is reluctant to the analgesic effects of morphine as well as to the pain reducing effects of tricyclic antidepressants or antiepileptic drugs that are generally used a first line treatments in neuropathic pain.

The dorsal horn (DH) of the spinal cord is an important structure for relaying, integrating, transmitting and modulating nociceptive messages which are conveyed along dedicated pathways to the cortex where they will generate the complex sensation of pain.

Noradrenaline (NA) released in the dorsal horn (DH) of the spinal cord from axons originating in the locus coeruleus has potent analgesic effects involving alpha2-adrenoceptors (a2-AR). a2-

SOUSSION D'UN SUJET DE THÈSE – ECOLE DOCTORALE VIE ET SANTÉ

ARs are also the main ARs expressed in the DH of the human spinal cord and α_2 -AR agonists such as clonidine are widely used in anesthesia and for their analgesic properties in acute as well as in chronic neuropathic or inflammatory situations. However, although α_2 -AR agonists are potent analgesic agents when given intrathecally, their peripheral administration is problematic because of their adverse effects (hypotension, bradycardia).

We have recently shown that the facilitation of inhibitory synaptic transmission in the deep DH of the spinal cord by α_2 -ARs involves an obligatory action on glial cells that in turn release gliotransmitters (glutamate and ATP). Such a fundamental role of glial cells has not been previously documented in the analgesic action of NA at the spinal level. Consequently, our aims are to **unravel the mechanisms underlying this phenomenon at the cellular and network levels** and to determine if this phenomenon has a **functional correlate/impact at the behavioral level**. To this end we will use a **multidisciplinary approach** and combine electrophysiological (patch-clamp), molecular biology (PCR, siRNA, viral transfection), calcium and ATP imaging, behavioral tests and optogenetics. The studies will be carried out on glial cell cultures and glia-neuron cocultures from the DH of the spinal cord and on acute spinal cord slices of mice. We will investigate the mechanisms by which NA and in particular activation of α_2 -ARs affects the **free intracellular concentration of calcium in glial cells and the release of gliotransmitters** in the DH of the spinal cord with a particular emphasis on the role of **TRPC channels** that play a major role in store-operated and receptor-operated calcium entry in glial cells. We will also determine which TRPC channel types (TRPC1-7) are expressed in glial cells. In addition, we will characterize the **second messenger pathways** that are involved in the actions of NA and determine **how these messengers affect the activity of TRPC channels**. The results obtained on culture systems will be verified and **extended at the network level** using acute spinal cord slices in which neuronal and glial networks are intact. The consequences of endogenous release of NA on synaptic transmission will be assessed in spinal cord slices using **optogenetics**. To this end, light-sensitive channel rhodopsin 2 channels will be specifically expressed noradrenergic neurons including in those projecting to the DH of the spinal cord. The role of glial α_2 -ARs on **nociceptive behaviors** will be studied using mice in which α_2 -ARs are selectively expressed or deleted in glial cells. We will also look for the presence of other functional neurotransmitter or neuropeptide receptors that could share a common mechanism of action with α_2 -ARs in glial cells. In principle activation of these receptors should recapitulate the analgesic effects of α_2 -ARs and if agonists of these receptors that can cross the blood brain barrier available they might be of particular interest for novel **analgesic strategies in chronic pain**.

Wished skills : (*max 590 caractères, espaces et sauts de lignes compris*)

Good basic knowledge in neurosciences (membrane permeability, ion channels, synaptic transmission, neuronal networks, sensory physiology) and if possible in cell biology and neuropharmacology.

Interest for the study of synaptic transmission and its modulation

High degree of motivation, interest for multidisciplinary experimental approaches.

Human qualities required for teamwork

Expertises which will be acquired during the training : (*max 590 caractères, espaces et sauts de lignes compris*)

Patch-clamp techniques on cultures and spinal cord slices

Calcium imaging

SOUSSION D'UN SUJET DE THÈSE – ECOLE DOCTORALE VIE ET SANTÉ

Immunocytochemistry

Primary culture of spinal cord neurones

Preparation of spinal cord slices

Neuropharmacological techniques

Analysis of electrophysiological and imaging data

Analysis of a scientific problem from a molecular to an integrated level.

Behavioural tests

Key word : *(max 40 caractères, espaces compris)*

Glia-neuron interaction

Commentaires éventuels pour l'Ecole Doctorale *(max 590 caractères, espaces et sauts de lignes compris)*