



Institut de Recherches en Technologies et
Sciences pour le Vivant

Soutenance de thèse

Mercredi 28 septembre 2011

**À 14 h 00 - CNRS de Grenoble, Bat A, 25 rue des
Martyrs Grenoble**

Par **Julien Gibon** – iRTSV/LCBM

Étude du rôle des canaux TRPC6 et de l'antidépresseur hyperforine dans l'homéostasie du zinc dans les neurones corticaux chez la souris

Les canaux TRPC6 sont des canaux cationiques non sélectifs perméables au calcium et au sodium. *In vitro*, ils laissent passer du manganèse, du baryum ou du fer. Ces canaux peuvent être activés par des analogues du diacylglycérol (SAG ou OAG) et par l'hyperforine (un antidépresseur d'origine végétal). Des expériences de dosages par ICP-OES, d'imagerie synchrotron et d'imagerie de fluorescence du FluoZin-3 ont montré que les cellules HEK surexprimant TRPC6 sont enrichies en zinc. Ces cellules sont plus sensibles à un stress oxydant et produisent plus d'espèces réactives de l'oxygène que les cellules HEK non transfectées. Dans les cellules HEK exprimant TRPC6, l'entrée de zinc en réponse au SAG est plus importante que celle observée dans les cellules HEK ou HEK-TRPC3. Les canaux TRPC6 sont exprimés dans les neurones corticaux. En réalisant des expériences d'imagerie de fluorescence et d'électrophysiologie, nous avons observé que l'activation de ces canaux par le SAG ou par l'hyperforine permettait l'entrée de zinc dans les neurones. La taille du pool de zinc fixé sur des protéines à groupement thiols est augmentée après un influx de zinc via TRPC6. Ceux-ci forment donc une voie d'entrée pour ce métal dans les neurones corticaux embryonnaires. Dans certains types cellulaires, les canaux TRPC6 participent à l'entrée calcique déclenchée en réponse à la déplétion du stock calcique du réticulum (canaux SOC). Cependant, dans les neurones corticaux, les voies SOC et activées par l'hyperforine possèdent des propriétés pharmacologiques distinctes suggérant que les canaux TRPC6 ne participent pas à la voie SOC. L'homéostasie des métaux dans les neurones est perturbée par l'hyperforine. Cet antidépresseur diminue la taille des pools de calcium et de zinc des mitochondries à la fois lors de traitements aigus et chroniques. Une relocalisation du zinc est observée dans les neurones traités de façon chronique à l'hyperforine ainsi qu'une augmentation de l'expression des métallothionéines à la fois *in vitro* et *in vivo*. Chez la souris, la quantité de soufre du cerveau est augmentée lors un traitement à l'hyperforine. Celle-ci serait donc un antidépresseur qui module les capacités de stockage du zinc en augmentant le nombre de groupements thiols cellulaires. L'hyperforine est présente dans les extraits de millepertuis. Ceux-ci ont diverses cibles pharmacologiques, agissant notamment sur la voie de signalisation du BDNF. Nos expériences montrent que, lors d'un traitement chronique de souris adultes, l'hyperforine augmente l'expression de TrkB et P-TrkB dans le cortex. *In vitro*, dans les neurones corticaux, TrkB, CREB et P-CREB sont surexprimés après un traitement de trois jours à l'hyperforine. L'inhibition de la PKA ou le blocage des canaux TRPC6 par le SKF-96365 empêche l'effet de l'hyperforine. Par ailleurs, la chélation du calcium par le BAPTA-AM supprime partiellement l'effet de l'hyperforine. Un traitement chronique avec cet extrait végétal semble agir sur une voie dépendante de la PKA et du calcium pour réguler la phosphorylation de CREB et l'expression de TrkB. Nos expériences montrent que l'effet de l'hyperforine sur les acteurs de la voie du BDNF n'est pas présent au niveau de l'hippocampe où l'expression de TrkB n'est pas affectée. De plus, ces traitements n'influencent pas la neurogenèse adulte chez la souris. L'hyperforine seule n'explique donc pas les effets complexes des extraits de millepertuis

sur les activités neuronales.

Afin de limiter votre attente si vous venez de l'extérieur du CEA, contactez Odile Rossignol (tel. : 04 38 78 45 63 Email odile.rossignol@cea.fr) en précisant vos date, lieu de naissance, nationalité et nom de jeune fille pour les femmes. Une autorisation d'entrée sera établie avant votre arrivée. Les auditeurs étrangers (hors CEE) sont invités à demander cette autorisation d'entrée au moins une semaine avant la date du séminaire. N'oubliez pas de vous munir d'une pièce d'identité.

Direction des Sciences du Vivant
Institut de Recherches en Technologies et Sciences pour le Vivant - iRTSV
CEA - 17 rue des Martyrs - 38054 Grenoble cedex 9
<http://www-dsv.cea.fr/irtsv>