

UNIVERSITE PAUL SABATIER
TOULOUSE

N° d'ordre: 2577

THESE
de
DOCTORAT DE L'UNIVERSITE PAUL SABATIER DE TOULOUSE

Ecole Doctorale en sciences de la Vie et de la Santé
Formation Doctorale de Pharmacologie et Toxicologie Moléculaires

par

Stéphane TELLEZ

**MODULATION NORADRENERGIQUE IN VIVO DU SYSTEME
NERVEUX CENTRAL CHOLINERGIQUE: ROLE DU RECEPTEUR
ALPHA-2 ADRENERGIQUE**

soutenu le 13 Décembre 1996

Membres du jury.

Pr. Jean-Louis MONTASTRUC, Faculté de Médecine, Toulouse
Pr. Francesc ARTIGAS, C.S.I.C., Barcelona
Pr. Bernard RENAUD, Université Claude Bernard, Lyon
Dr. Daniel GALEY, Université de Bordeaux, U.R.A. 339, Talence
Pr. Jacques GLOWINSKI, Collège de France, INSERM U114, Paris
Dr. Marc MARIEN, C.R.P.F., Castres

Président du jury
Rapporteur
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur

Préparée au Laboratoire de Neurologie Expérimentale, Division de Neurobiologie 1
Centre de Recherche Pierre FABRE - 81100 CASTRES - FRANCE

SOMMAIRE

INTRODUCTION	p.5
LE SYSTEME NERVEUX CENTRAL CHOLINERGIQUE	p.7
I. Organisation des systèmes cholinergiques:	p.8
1. Localisation des noyaux cholinergiques:	p.8
2. Projections cholinergiques:	p.11
II. La synapse cholinergique:	p.12
1. Synthèse de l'acétylcholine:	p.12
2. Stockage et libération de l'acétylcholine:	p.15
3. Catabolisme:	p.16
4. Les récepteurs à l'acétylcholine:	p.17
4.a. les récepteurs muscariniques	
4.b. les récepteurs nicotiniques	
III. Systèmes cholinergiques et maladie d'Alzheimer:	p.21
1. Présentation de la maladie d'Alzheimer:	p.21
2. Systèmes cholinergiques et maladie d'Alzheimer:	p.21
LE SYSTEME NERVEUX CENTRAL NORADRENERGIQUE	p.27
I. Anatomie:	p.28
1. Le locus coeruleus et ses projections:	p.28
2. Les neurones noradrénergiques du tegmentum latéral:	p.30
II. La synapse noradrénergique:	p.33
1. Synthèse, stockage et libération:	p.33
2. Régulation de la libération:	p.36
3. Métabolisme:	p.36
4. Les récepteurs adrénergiques:	p.38
4.a. Les récepteurs α -adrénergiques	
4.a.a. Le récepteur α_1 adrénergique	
4.b.b. Le récepteur α_2 adrénergique	
4.b. Les récepteurs β adrénergiques	
III. Système noradrénergique et maladie d'Alzheimer:	p.47
1. Marqueurs noradrénergiques:	p.47
2. Le locus coeruleus:	p.50
3. Récepteurs noradrénergiques:	p.52
MODULATION NORADRENERGIQUE DE LA TRANSMISSION CHOLINERGIQUE	p.53
I. Evidences anatomiques:	p.53
1. La voie septo-hippocampique:	p.53
2. Le nucleus basalis:	p.55

II. Electrophysiologie:	p.58
III. Etudes biochimiques:	p.59
1. Modulation de la libération cholinergique:	p.59
1.a. Systèmes cholinergiques et noradrénergiques intacts	
1.a.a. In vitro	
1.a.b. In vivo	
1.a.c. Résumé	
1.b. Systèmes cholinergiques intacts et noradrénergiques lésés	
2. Modulation du turn-over et du contenu tissulaire cholinergiques:	p.61
2.a. Turn-over cholinergique	
2.b. Contenu tissulaire en acétylcholine	
3. Modulation des sites de capture de la choline:	p.63
4. Activité de la Choline Acétyl Transférase (ChAT):	p.64
5. Rôle des récepteurs adrénergiques:	p.65
5.a. Le récepteur α_1 adrénergique	
5.b. Le récepteur α_2 adrénergique	
IV. Plasticité neuronale:	p.67
V. Aspect comportemental:	p.68
1. Influence noradrénergique sur les fonctions cognitives intactes:	p.68
1.a. Evidences expérimentales	
1.b. Système nerveux périphérique et mémoire	
1.c. Rôle compensateur du système noradrénergique dans l'adaptation comportementale	
2. Influence noradrénergique sur le modèle animal âgé	p.76
2.a. Données expérimentales	
2.b. Rôle des récepteurs adrénergiques	
2.b.a. Le récepteur β adrénergique	
2.b.b. Le récepteur α_2 adrénergique	
2.c. Mode d'action possible - résumé	
3. Noradrénaline et système cholinergique pharmacologiquement modifié:	p.83
4. Noradrénaline et système cholinergique lésé:	p.85
IV. Résumé:	p.87
OBJECTIFS	p.89
MODELES EXPERIMENTAUX	p.92
I. Le cortex préfrontal médian:	p.92
1. Rôle physiologique:	p.92
2. Le cortex frontal dans la maladie d'Alzheimer:	p.96
II. La libération d'acétylcholine:	p.97
1. Etudes in vitro:	p.97
1.a. Principe	
2. Etudes in vivo:	p.99
1.a. Principe de la microdialyse	
2.a. Analyse des microdialysats - détection de la choline et de l'acétylcholine	
3. Considérations méthodologiques:	p.102

III. Lésions du système noradrénergique:	p.103
1. Le DSP-4:	p.103
2. La 6-hydroxydopamine (6-OHDA):	p.105
IV. Comportement cognitif: le test d'évitement passif:	p.106
<i>MATERIELS ET METHODES</i>	p.108
I. Animaux:	p.108
II. Libération d'acétylcholine in vitro: superperfusion de coupes corticales:	p.108
III. Libération d'acétylcholine in vivo: microdialyse:	p.110
1. Chirurgie stéréotaxique:	p.110
2. Protocole expérimental de microdialyse:	p.112
3. Analyse chromatographique de l'acétylcholine et de la choline:	p.112
IV. Lésions du système noradrénergique:	p.113
1. Lésions au DSP-4:	p.113
2. Lésions à la 6-OHDA:	p.114
V. Dosages tissulaires:	p.115
1. Dosage de la noradrénaline tissulaire:	p.115
2. Dosage enzymatique de la choline acétyltransférase (ChAT):	p.115
VI. Etude comportementale: test d'évitement passif:	p.116
VII. Calculs et analyses statistiques:	p.117
VIII. Drogues, réactifs et matériels:	p.117
<i>RESULTATS</i>	
I. Caractérisation de la libération cholinergique corticale:	p.119
1. In vivo:	p.119
2. In vitro:	p.122
II. Libération d'acétylcholine endogène in vivo (microdialyse):	p.122
1. Traitements aigus: désipramine, SKF 102698 et DSP-4:	p.122
2. Effet des antagonistes α_2 adrénergiques:	p.124
3. Effet des agonistes α_2 adrénergiques:	p.130
4. Expression des résultats en "Aire sous courbe":	p.130
III. Effet du (+)-efaroxan, localisé au cortex préfrontal médian:	p.133
IV. Effet régional in vivo du (+)-efaroxan	p.136
V. Influence de lésions noradrénergiques sur la libération cholinergique corticale:	
1. Libération in vitro:	p.138
2. Libération in vivo:	p.139

VI. Validation des lésions noradrénergiques: niveaux tissulaires de monoamines et d'activité Choline Acétyl Transférase:	p.142
1. Niveaux de monoamines:	p.142
2. Niveaux de ChAT:	p.142
VII. Effet du DSP-4 sur le modèle comportemental d'évitement passif:	p.144
<i>DISCUSSION</i>	p.148
I. Libération d'acétylcholine in vivo (microdialyse):	p.148
1. Caractérisation de la microdialyse cholinergique corticale:	p.148
2. Effet des traitements aigus:	p.149
3. Effets des antagonistes α_2 adrénergiques:	p.151
4. Effets des agonistes α_2 adrénergiques:	p.154
5. Les récepteurs α_2 adrénergiques et la libération d'acétylcholine:	p.156
6. Résumé - perspectives:	p.158
II. Effet noradrénergique local sur la libération d'acétylcholine:	p.160
III. Effet régional du (+)-efaroxan:	p.162
IV. Influence des lésions noradrénergiques sur la libération d'acétylcholine:	p.163
1. Modèle in vitro:	p.163
2. Modèle in vivo:	p.165
V. Modulation noradrénergique et conséquences comportementales:	p.169
<i>CONCLUSIONS - PERSPECTIVES</i>	p.173
<i>BIBLIOGRAPHIE</i>	p.175

RESUME

Les dommages du système noradrénergique et notamment du locus coeruleus (NA-LC) ont été proposés comme facteurs importants intervenant dans les désordres neurodégénératifs centraux tels que la maladie d'Alzheimer. La modulation noradrénergique de la libération de l'acétylcholine (ACh) dans le système cholinergique cortical de rat a été étudié in vivo et in vitro. Premièrement, des expériences de microdialyse chez le rat éveillé ont montré que les antagonistes alpha-2 adrénergiques, comme le (+)-efaroxan, l'idazoxan, l'atipamezole et le fluparoxan augmentent le flux extracellulaire d'ACh de 250-325%. A l'opposé, les agonistes alpha-2 adrénergiques, tel que le UK-14304 et le guanabenz le réduisent de 60-80%. La clonidine, un agoniste partiel, n'a pas d'effet significatif et augmente le flux d'ACh à doses élevées. Deuxièmement, l'influence des afférences du NA-LC et la contribution des autorecepteurs alpha-2 adrénergiques ont été évalués en examinant la libération corticale d'ACh chez des rats lésés au niveau du système noradrénergique. Sur des coupes de cortex de rats lésés, le flux stimulé au K⁺ de [³H]ACh est réduit comparé aux animaux contrôles. Lors d'expériences de dialyse, chez le rat lésé, l'effet inhibiteur du UK-14304 sur la libération d'ACh est préservé; cependant la capacité du (+)-efaroxan à augmenter cette libération est réduite. Ces résultats indiquent que 1.) les récepteurs alpha-2 adrénergiques ont un rôle modulateur sur la libération d'ACh in vivo, 2.) les perturbations du système NA-LC réduisent son influence facilitatrice sur le système cholinergique cortical, 3.) l'effet facilitateur du (+)-efaroxan apparaît être dépendent, au moins en partie, d'une innervation noradrénergique corticale partiellement intacte.

Mots clés: interactions de neurotransmetteurs, microdialyse, coupes superfusées, cortex frontal, acétylcholine, récepteur alpha-2 adrénergique, DSP-4, locus coeruleus.