

THESE pour le DOCTORAT DE L'UNIVERSITE PAUL SABATIER

Spécialité : Pharmacologie

Présentée publiquement le 28 Février 1996

**Véronique DUPOUY**

---

**NEUROANATOMIE FONCTIONNELLE DU  
NEUROPEPTIDE FF - RELATION AVEC LES  
SYSTEMES OPIOIDES**

---



**JURY**

M. J. Cros  
M. F. Cesselin  
M. J. Costentin  
M. L. Stinus  
M. P. Keane  
M. J.M. Zajac

Président du jury  
Rapporteur  
Rapporteur  
Examineur  
Examineur  
Directeur de thèse



# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION</b> .....	1
<b>SYSTEMES OPIOIDES</b> .....	2
<b>I- LES PEPTIDES ENDOGENES</b> .....	2
I-1- les enképhalines.....	2
I-2- Les $\beta$ -endorphines.....	3
I-3- Les dynorphines.....	5
<b>II- LES RECEPTEURS OPIOIDES</b> .....	6
II-1- La mise en évidence.....	6
II-2- Le clonage des récepteurs opioïdes.....	7
II-3- Caractérisation des récepteurs.....	9
II-4- Distribution des récepteurs opioïdes.....	13
II-5- Système de transduction membranaire lié aux récepteurs opioïdes.....	16
II-5-1- Récepteurs couplés aux protéines G.....	16
II-5-2- Les effecteurs.....	16
II-5-2-1- Couplage à l'adénylate cyclase.....	17
II-5-2-2- Couplage aux canaux ioniques.....	17
<b>III- TOLERANCE ET DEPENDANCE</b> .....	18
III-1- Mécanisme d'adaptation intra-système.....	19
III-1-1- Modification des peptides opioïdes endogènes.....	20
III-1-2- Modification de la densité des récepteurs.....	21
III-1-3- Modification des mécanismes de transduction du signal couplé aux récepteurs opioïdes.....	22
III-2- Mécanisme d'adaptation entre les systèmes.....	24
III-2-1- Les peptides anti-opioïdes.....	24
III-2-2- Substance non peptidiques participant à la tolérance et à la dépendance aux opiacés.....	25
<b>NOCICEPTION : OPIOIDES et ANTI OPIOIDES</b> .....	27
<b>I- TRANSMISSION DU MESSAGE NOCICEPTIF</b> .....	28
I-1- Transmission de la périphérie à la moelle épinière.....	28
I-2- Transmission de la moelle épinière aux centres supérieurs: voies ascendantes.....	29
I-2-1- Les faisceaux spino-thalamiques.....	30
I-2-2- Faisceau spino-cervico thalamique.....	31
I-2-3- Les fibres post synaptiques des colonnes dorsales.....	31
I-2-4- Autres faisceaux.....	31
I-3- Implication des contrôles inhibiteurs diffusdescendants ou CIDN.....	32

<b>II- CONTROLE DE LA TRANSMISSION DU MESSAGE NOCICEPTIF :</b>	
<b>    ROLE DES OPIOIDES.....</b>	<b>33</b>
II-1- Au niveau spinal.....	34
II-2- Au niveau supra-spinal.....	35
II-2-1- Action des opioïdes sur les voies inhibitrices.....	36
II-2-2- Contrôle du CIDN.....	39
<b>III- ANTI-OPIOIDE ET NOCICEPTION.....</b>	<b>39</b>
III-1- système à cholecystokinine.....	41
III-2- système à NPFF.....	43
III-2-1- Découverte et localisation du Neuropeptide FF.....	43
III-2-2- Les récepteurs au NPFF.....	45
III-2-2-1- Mise en évidence.....	45
III-2-2-2- La distribution dans le SNC.....	46
III-2-2-3- Mécanismes de transduction du signal.....	47
III-2-3- Propriétés pharmacologiques du NPFF.....	48
III-2-3-1- NPFF et nociception: lien avec le système opioïde.....	48
III-2-3-2- NPFF et phénomènes de tolérance et de dépendance aux substances opiacées.....	51
III-2-3-2- Autres fonctions du NPFF: lien avec les opioïdes.....	52
<b>OBJECTIFS.....</b>	<b>54</b>
<b>MATERIELS ET METHODES.....</b>	<b>58</b>
<b>    I- PHARMACOLOGIE IN VIVO.....</b>	<b>59</b>
I-1- Produits chimiques utilisés.....	59
I-2- Opérations et mise en place des canules.....	59
I-3- Microinjection.....	60
I-4- Mesure de la sensibilité douloureuse.....	60
I-5- Expression des résultats.....	61
I-6- Analyse de données.....	61
<b>    II- INACTIVATION DU SYSTEME SEROTONINERGIQUE.....</b>	<b>62</b>
II-1- Produits chimiques utilisés.....	62
II-2- Déplétion des voies sérotoninergiques.....	62
II-3- Lésion des voies sérotoninergiques.....	62
<b>    III- LESIONS MECANIQUES.....</b>	<b>64</b>
<b>    IV- AUTORADIOGRAPGIE IN VITRO.....</b>	<b>65</b>
IV-1- Les produits chimiques.....	65
IV-2- Préparation des ligands radioactifs.....	66
IV-3- Animaux utilisés.....	66

IV-3- Animaux utilisés.....	66
IV-4- Autoradiographie.....	66
IV-5- Quantification.....	68
<b>RESULTATS ET DISCUSSIONS.....</b>	<b>69</b>
<b>I- LOCALISATION DES RECEPTEURS NPFF</b>	
<b>/ LIEN AVEC LES REGIONS IMPLIQUEES DANS L'ANALGESIE</b>	
<b>/ LIEN AVEC LA LOCALISATION DES RECEPTEURS OPIOIDES.....</b>	<b>70</b>
I-1- Généralités.....	70
I-1-1- Introduction.....	70
I-1-2- Objectifs.....	72
I-2- Cartographie détaillée des récepteurs au NPFF dans le cerveau de rat.....	73
I-2-1- Introduction.....	73
I-2-2- Résultats.....	73
I-2-3- Discussion.....	84
I-3- Cartographie des récepteurs au NPFF dans le SNC de différentes espèces.....	88
I-3-1- Introduction.....	88
I-3-2- Résultat.....	89
I-3-3- Discussion.....	94
I-4- Localisation relative des récepteurs au NPFF / aux récepteurs opioïdes $\mu$ et $\delta$ dans le système nerveux central de rat.....	99
I-4-1- Introduction.....	99
I-4-2- Résultats.....	100
I-4-3- Discussion.....	107
<b>II- INTERACTION FONCTIONNELLE OPIOIDE-NPFF AU NIVEAU SUPRA-SPINAL.....</b>	<b>115</b>
II-1- Généralités.....	115
II-1-1- Introduction.....	115
II-1-2- Objectifs.....	116
II-2- Interactions locales.....	117
II-2-1- Introduction.....	117
II-2-2- Résultats.....	117
II-2-3- Discussion.....	123
II-3- Interactions à distance entre les systèmes opioïdes et NPFF.....	132
II-3-1- Introduction.....	132
II-3-2- Objectif.....	132
II-3-3- Résultats.....	133
II-3-4- Discussion.....	135
<b>III- SYSTEME SEROTONINERGIQUE/ INTERMEDIAIRE DU SYSTEME NPFF.....</b>	<b>138</b>
III-1- Généralités.....	138
III-1-1- Introduction.....	138
III-1-2- Objectifs.....	139

III-2- Système sérotoninergique et interaction fonctionnelle entre les systèmes opioïdes et NPFF .....	140
III-2-1- Introduction.....	140
III-2-2- Résultats.....	140
III-2-3- Discussion.....	142
III-3 Modification de la densité des récepteurs au NPFF après lésion du système 5-HT.....	149
III-3-1- Introduction.....	149
III-2-2- Résultats.....	149
III-2-3- Discussion.....	150
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>155</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>162</b>

## Résumé

Le système neuropeptide FF (NPFF) est un système neuronal à part entière composé de voies neuronales et de récepteurs spécifiques. Le NPFF module les systèmes opioïdes de façon complexe, activités pro- ou anti-opioïdes, suivant des modalités largement méconnues.

Le but de ce travail est de caractériser les sites d'action cérébraux du NPFF et ses relations avec le système opioïde.

Pour cela ont été effectuées, 1) la cartographie détaillée des récepteurs NPFF dans le cerveau de rat et dans le système nerveux central de diverses espèces; 2) la localisation cellulaire des récepteurs NPFF par comparaison avec les sites opioïde  $\mu$ , après des lésions cérébrales (mécanique et chimique). Ce travail a permis de montrer que les récepteurs NPFF peuvent être localiser sur des terminaisons dont le corps cellulaire peut être distant et que les récepteurs opioïdes ne sont pas co-localisés avec ces sites NPFF. D'autre part, les sites NPFF ne sont pas portés par des neurones sérotoninergiques.

Des expériences de pharmacologie fonctionnelle révèlent que les noyaux raphé dorsal (DR) et parafasciculaire (PF) constituent des régions d'interaction locale entre les systèmes NPFF et opioïde: en effet, l'administration de (1DMe)Y8Fa, un analogue protégé du NPFF, inhibe l'analgésie induite par la morphine et cet effet anti-opioïde nécessite l'activation du système sérotoninergique. Par ailleurs, le (1DMe)Y8Fa injecté dans le DR (ou le PF) inhibe l'analgésie induite par la morphine administrée dans le PF (ou le DR) indiquant l'existence d'interactions à distance, impliquant un relais neuronal entre NPFF et opioïde.

L'ensemble de nos travaux montrent que le système NPFF présente, dans deux régions cérébrales, des activités de type anti-opioïde nécessitant l'intervention du système sérotoninergique. Par ailleurs, le NPFF peut moduler à distance les systèmes opioïdes, chaque système agissant sur des cibles différentes.