

THESE

présentée devant l'Université Paul SABATIER

en vue de l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE PAUL SABATIER

Spécialité : Pharmacologie

et

DE LA FORMATION DOCTORALE EN SCIENCES

DE LA VIE ET DE LA SANTE DE TOULOUSE

Spécialité : Physiopathologie Humaine

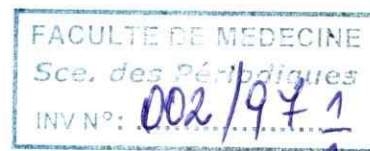
par

Jean-Pierre MARTINOLLE



ALTERATIONS DES ADRENOCEPTEURS INTESTINAUX AU COURS DE L'ILEITE EXPERIMENTALE CHEZ LE COBAYE

**CARACTERISATION, REGULATION PHYSIOPATHOLOGIQUE ET
PHARMACOLOGIE FONCTIONNELLE**



Soutenue le 2 avril 1997 devant le jury :

Pr. H. CHAP
Pr. J.P. BALI
Dr. F. ANGEL-URBAN
Pr. S. CHAUSSADE
Dr. L. BUENO
Dr. R. GARCIA-VILLAR

Président
Rapporteur
Rapporteur
Membre du jury
Membre du jury
Membre du jury

<i>RESUME</i>	1
<i>SUMMARY</i>	2
<i>INTRODUCTION</i>	3

PREMIERE PARTIE : DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE I. RAPPELS ANATOMO-FONCTIONNELS

A. ANATOMIE DE L'INTESTIN GRÊLE	
I. Morphologie et topographie du tractus digestif du cobaye	7
II. Structure pariétale du tractus digestif	9
III. Vascularisation du tractus digestif	11
IV. Innervation du tractus digestif	11
V. Système immunitaire du tractus digestif	16
B. MOTRICITÉ INTESTINALE	
I. Description myoélectrique de la motricité intestinale	25
II. Contrôle de la motricité intestinale	25

CHAPITRE II. LES PATHOLOGIES INFLAMMATOIRES DU TUBE DIGESTIF

A. MALADIE DE CROHN ET RECTOCOLITE HÉMORRAGIQUE	
I. Symptomatologie	39
II. Anatomopathologie	39
III. Épidémiologie	41
IV. Étiologie	42
V. Traitement	44
B. MODÈLES D'INFLAMMATION EXPÉRIMENTALE	
I. Modèles d'inflammation spontanée	48
II. Modèles d'inflammation induite	49

CHAPITRE III. LES CONSÉQUENCES DE L'INFLAMMATION INTESTINALE

A. ALTÉRATION DE LA MOTRICITÉ INTESTINALE	
I. Etudes de motricité in vivo	57
II. Etudes de contractilité in vitro	70
B. ALTÉRATION DU MUSCLE LISSE INTESTINAL	
I. Chez l'homme	77
II. Chez l'animal	80
C. ALTÉRATION DU SYSTÈME NERVEUX	
I. Chez l'homme	82
II. Chez l'animal	85
III. Bases d'une composante neurogène dans l'inflammation	87
D. ALTÉRATION DU SYSTÈME IMMUNITAIRE	
I. Les cellules immuno-compétentes	91
II. Les médiateurs cellulaires de l'inflammation	93
III. Bases de l'hypothèse auto-immune	100
IV. Bases de l'hypothèse neuro-immune	102

DEUXIEME PARTIE : MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. ANIMAUX ET INDUCTION DE L'ILÉITE EXPÉRIMENTALE	
I. Choix du modèle animal	106
II. Choix du modèle inflammatoire expérimental	106
III. Choix du mode d'administration	107
IV. Etude finale	107
V. Réactifs et agents pharmacologiques	108
B. TRAITEMENTS IN VIVO	
I. Protocole expérimental	109
II. Réactifs et agents pharmacologiques	110

C. ÉTUDE DE LA LIAISON LIGAND-RECEPTEUR	
I. Préparation des fractions membranaires	111
II. Dosage de l'activité 5'Nucléotidase	113
III. Conditions expérimentales pour les études de liaison	114
IV. Etudes de saturation	114
V. Etudes de compétition	116
VI. Analyse et expression des résultats	116
VII. Réactifs et agents pharmacologiques	117
D. ÉTUDES DE CONTRACTILITÉ IN VITRO	
I. Préparation des lambeaux	119
II. Système de superfusion	119
III. Relations Longueur - Tension	119
IV. Conditions expérimentales	121
V. Analyse du profil basal de contractilité	122
VI. Courbes Concentration-Réponse aux agonistes	122
VII. Désensibilisation à la sérotonine	123
VIII. Effet de l'interleukine 1 β	123
IX. Effet d'une dénervation expérimentale	124
X. Acquisition des données	124
XI. Analyse et expression des résultats	125
XII. Réactifs et agents pharmacologiques	126
E. ACTIVITÉ MYÉLOPÉROXYDASE	
I. Principe et dosage	128
II. Expression des résultats	128
III. Réactifs	129
F. ÉTUDE HISTOLOGIQUE	
I. Prélèvements	130
II. Préparation et analyse des coupes	130
III. Réactifs	130

TROISIEME PARTIE : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

A. CARACTÉRISATION DE L'INFLAMMATION EXPÉRIMENTALE	
I. Modification du poids et de la prise alimentaire	133
II. Modification de l'activité myéloperoxidase	135
III. Etude histologique	136
DISCUSSION	140
B. RÉGULATION PHYSIOPATHOLOGIQUE DES ADRÉNOCEPTEURS INTESTINAUX	
I. Caractérisation des fractions membranaires.	143
II. Etude de saturation de la liaison.	143
III. Etude de compétition de la liaison aux récepteurs β -adrénergiques.	148
DISCUSSION	151
C. EFFETS DE TRAITEMENTS IN VIVO	
I. Effets de traitements in vivo sur la densité des adrénoccepteurs intestinaux.	157
II. Effets de traitements in vivo sur l'activité MPO tissulaire.	159
III. Effets de traitements in vivo sur les atteintes tissulaires.	159
IV. Autres traitements.	160
DISCUSSION	164
D. ÉTUDE DE CONTRACTILITÉ IN VITRO	
I. Profil de contractilité basale.	176
II. Relations Longueur - Tension .	176
III. Réactivité pharmacologique.	179
DISCUSSION	194
E. EFFET DE L'INTERLEUKINE-1β ET D'UNE DÉNERVATION EXPÉRIMENTALE	
I. Effet de l'interleukine 1 β .	200
II. Effet d'une dénervation expérimentale.	200
DISCUSSION	202
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	206
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	212

Résumé

Les Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin (MICI) sont associées à des troubles moteurs intestinaux. L'importance du système adrénergique dans la régulation de la motricité digestive, ainsi que les altérations structurales et fonctionnelles affectant ce système au cours des MICI, suggèrent qu'une modification des populations, de l'affinité ou de la fonction contractile des adrénoccepteurs intestinaux pourrait contribuer à ces troubles moteurs physiopathologiques.

Afin de tester cette hypothèse, nous avons développé et caractérisé de façon cinétique, un modèle expérimental de jéjuno-iléite, susceptible de reproduire chez le cobaye l'environnement inflammatoire observé dans les MICI humaines.

(1). L'inflammation intestinale, induite par l'instillation intraluminaire d'acide trinitrobenzène sulfonique (TNBS), s'accompagne d'une diminution du poids corporel des animaux et de leur prise alimentaire, de modifications importantes de l'intégrité de la paroi et de l'infiltration de la muqueuse par les immunocytes mono et polynucléés.

(2). Par l'utilisation de radioligands adrénergiques sélectifs, nous montrons que le développement de l'inflammation expérimentale de l'intestin, s'accompagne de modifications des populations jéjunales d'adrénoccepteurs consistant en une progressive "up-régulation" des adrénoccepteurs $\alpha 1$ et $\alpha 2$ concomitante d'une "down-régulation" des adrénoccepteurs β au cours du temps.

(3). L'utilisation de traitements *in vivo* à l'aide d'agents pharmacologiques à potentialité anti-inflammatoire a permis de décrire partiellement, les mécanismes et les médiateurs contribuant à la genèse de ces altérations, suggérant le rôle du monoxyde d'azote, des leucotriènes et des médiateurs mastocytaires dans la régulation pathologique inverse des adrénoccepteurs intestinaux.

(4). Par le biais d'études pharmacologiques de contractilité musculaire dans un système de superfusion *in vitro*, nous avons tenté de corréliser les altérations des populations des adrénoccepteurs membranaires à des modifications fonctionnelles. Réalisées au niveau du muscle lisse iléal, ces études montrent une disparition de la réponse contractile musculaire à la stimulation $\alpha 1$ et $\alpha 2$ adrénergique au cours de l'inflammation. Une altération de la réponse contractile à d'autres neurotransmetteurs ou médiateurs classiques intestinaux est également observée. Le profil contractile basal des deux couches est modifié mais les mécanismes contractiles non médiés par des récepteurs sont conservés.

(5). Par des pré-traitements *in vitro* à l'aide de médiateurs pro-inflammatoires, nous montrons l'efficacité de l'interleukine-1 β à moduler la réponse musculaire α -adrénergique. Enfin, par l'utilisation d'un modèle *in vivo* de dénervation, nous montrons que les modifications fonctionnelles des adrénoccepteurs intestinaux observées au cours de l'inflammation pourraient en partie refléter des altérations affectant leur innervation.

Les modifications du nombre et de la fonction des adrénoccepteurs intestinaux pourraient en partie participer aux altérations de la motricité digestive associées à l'inflammation. Des régulations homologues en réponse à une dénervation fonctionnelle et des régulations hétérologues par des médiateurs de l'inflammation libérés en grandes quantités lors du processus inflammatoire pourraient être à l'origine de ces modifications.
