

## **D**onnées anatomiques sur l'organisation des systèmes à monoamines : un exemple de communication interneuronale sans synapse ?

Dans le système nerveux, la transmission de l'information s'effectue selon deux principaux modes : (1) une communication ponctuelle *via* des structures morphologiquement définies, appelées synapses, mettant en jeu un premier neurone (pré-synaptique), d'où est libéré le neurotransmetteur, et un second neurone (post-synaptique), apposé au premier et dont la membrane plasmique possède des récepteurs spécifiques du neurotransmetteur (*figure 1A*) ; (2) une communication hormonale, dans laquelle la substance informative (ou hormone) est libérée dans le milieu extracellulaire pour être véhiculée par voie sanguine jusqu'aux cellules cibles localisées à distance (*figure 1B*). Depuis longtemps, on sait en effet que certains neurones de l'hypothalamus sécrètent des hormones qui sont libérées directement dans le sang. Plus récemment, deux équipes, celle de Laurent Descarries à Montréal (Québec) et la nôtre, ont essayé d'établir les caractéristiques anatomiques d'un type intermédiaire de neurotransmission, de type paracrine, dans lequel la substance informative serait libérée dans le milieu extracellulaire pour agir sur des cibles situées à « moyenne » distance des sites de libération (*figure 1C*). Il est de plus en plus fréquent de regrouper ces modes de neurotransmission « diffuse » dans le concept de transmission volumique (*volume transmission*), lié à la notion ancienne et bien connue de neuromodulation [1].

### **Principaux éléments modulateurs du système nerveux central**

À côté des systèmes sensitif et moteur, les systèmes à monoamines (sérotonine, noradrénaline, dopamine et histamine) constituent un des principaux éléments modulateurs du système nerveux central. Ces systèmes occupent une place physiologique prépondérante puisqu'ils interviennent dans la mémoire, la vigilance, le comportement agressif, la thermorégulation, la prise de nourriture, la douleur, la locomotion et la régulation du cycle veille/sommeil. Depuis plusieurs années, le groupe de Laurent Descarries étudie l'anatomie des systèmes monoaminergiques de l'encéphale, notamment au niveau du néocortex cérébral. Une analyse minutieuse de ces systèmes en microscopie électronique a permis de déterminer que la majorité des terminaisons nerveuses sérotoninergiques et noradrénergiques établissent des contacts non jonctionnels, c'est-à-dire ne présentant pas les caractéristiques morphologiques des synapses. En revanche, le système dopaminergique cortical (cortex préfrontal) est caractérisé en majorité par des synapses classiques [2]. Une autre étude a également signalé la faible proportion de synapses (15%) établies par les fibres histaminergiques provenant de l'hypothalamus et innervant le cortex cérébral [3].

Plus récemment, nous avons montré que les systèmes monoaminergiques de la moelle épinière sont, eux aussi,

caractérisés par une organisation non synaptique. D'un point de vue physiologique, les monoamines médullaires revêtent une importance considérable puisqu'elles règlent l'ensemble des fonctions relayées par la moelle, motrice, sensitive et autonome.

### **Systèmes monoaminergiques dans la moelle épinière**

Depuis longtemps, on sait que des fibres à monoamines, en provenance de l'encéphale, innervent différents territoires médullaires mais, jusqu'alors, peu de travaux avaient porté sur l'anatomie fine de ces systèmes. On sait maintenant qu'au niveau de la corne dorsale de la moelle épinière du rat, les projections sérotoninergiques (en provenance du raphé) et noradrénergiques (en provenance du *locus caeruleus*) forment des terminaisons très fines (diamètre < 1 µm) établissant une majorité (70%) de contacts non jonctionnels [4, 5]. En revanche, comme cela a d'ailleurs été observé au niveau du cortex cérébral [2], l'organisation non synaptique des axones à dopamine (en provenance du diencéphale) qui innervent la corne dorsale, n'est que partielle et dépend des niveaux médullaires considérés [6]. Les autres régions de la moelle épinière, à savoir la colonne intermédiolatérale (regroupant les corps cellulaires des neurones sympathiques pré-ganglionnaires impliqués dans la régulation des fonctions autonomes) et la corne

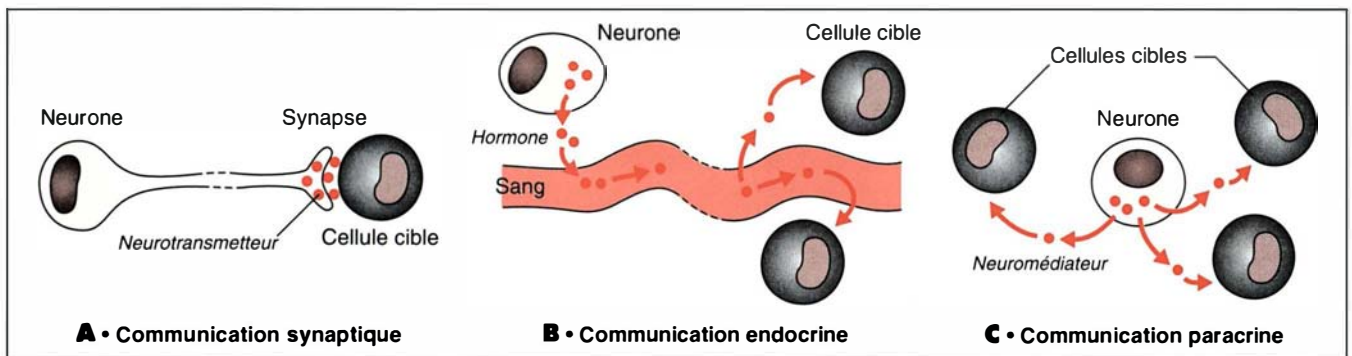


Figure 1. **Représentation schématique des principaux modes de communication entre les neurones.** A. Communication synaptique, B. Communication endocrine. C. Communication paracrine.

ventrale (regroupant les motoneurones impliqués dans la commande motrice), sont innervées par de plus gros axones (diamètre  $\geq 1 \mu\text{m}$ ) sérotoninergiques, noradrénergiques et dopaminergiques qui établissent des contacts synaptiques classiques. Cela n'a pu être démontré qu'en analysant, en microscopie électronique et pour chaque territoire médullaire, une collection importante de coupes ultrafines (épaisseur  $0,1 \mu\text{m}$ ) sériées sur lesquelles était réalisée l'immunodétection des neuromédiateurs, à savoir la sérotonine, la noradrénaline ou la dopamine. Lors de l'examen de ces coupes sériées en microscopie électronique, il est apparu que les terminaisons monoaminergiques non synaptiques établissent des relations préférentielles avec des astrocytes. En effet, des mesures morphométriques, réalisées sur le microenvironnement immédiat de ces terminaisons nerveuses, ont révélé que la longueur de l'apposition astrocyte-terminaison non jonctionnelle était deux fois plus importante que dans le cas des terminaisons synaptiques [5]. Les astrocytes, qui possèdent une multitude de récepteurs variés à leur surface, notamment aux monoamines, pourraient donc jouer un rôle dans ce mode de neurotransmission sans synapse (figure 2).

Par ailleurs, dans deux modèles de lésion de la moelle épinière, il a été montré que ces systèmes monoaminergiques (notamment sérotoniner-

giques) conservaient une organisation non synaptique au sein de la corne dorsale [7, 8]. Après section complète de la moelle épinière et greffe de neurones sérotoninergiques embryonnaires, la réinnervation des cornes dorsale et ventrale est respectivement non synaptique et synaptique [7]. Après désafférentiation médullaire par rhizotomie dorsale unilatérale, les fibres sérotoninergiques et noradrénergiques descendantes bourgeonnent au sein de la corne dorsale et conservent une organisation sans synapse [8]. L'organisation non jonctionnelle des systèmes à monoamines semble donc bien spécifique de la corne dorsale et/ou de la fonction qui lui est associée.

Un exemple montre clairement qu'une telle organisation sans synapse peut être fonctionnelle: chez la lamproie, l'innervation sérotoninergique de la moelle épinière est entièrement dépourvue de synapse et le rôle de la sérotonine dans le contrôle du rythme des mouvements natatoires de ce vertébré aquatique primitif est bien documenté [9]. Mais, chez le rat, l'existence anatomique de ces contacts non synaptiques dans l'encéphale et dans la moelle épinière ne suffit pas pour attester de l'existence fonctionnelle d'une telle organisation. En effet, dans la mesure où il existe une petite fraction de contacts synaptiques classiques [2, 5], les effets physiologiques connus des monoamines pourraient être le résul-

tat de la mise en jeu de ces synapses. Pour étayer cette hypothèse, l'étape incontournable était la localisation ultrastructurale des récepteurs des monoamines. Grâce à un anticorps développé par Hadassah Tamir (New York, USA), il a été possible de localiser, au niveau ultrastructural, des récepteurs de la sérotonine dans la moelle épinière du rat [10]. Il a ainsi été montré qu'au sein de la corne dorsale, les récepteurs de la sérotonine sont généralement localisés à distance des terminaisons sérotoninergiques, alors que dans les autres territoires médullaires (corne ventrale et colonne intermédiolatérale) les récepteurs sont situés au voisinage direct des terminaisons synaptiques. Il existe divers sous-types de récepteurs de la sérotonine, certains de forte affinité (nanomolaire), d'autres de basse affinité (micromolaire). On sait que les récepteurs de forte affinité sont majoritaires au sein de la corne dorsale, alors que les sous-types de basse affinité abondent dans la colonne intermédiolatérale et la corne ventrale. Cela laisserait supposer qu'une grande part de la sérotonine, libérée par les axones sérotoninergiques innervant la corne dorsale, diffuse depuis le site de libération (terminaisons non synaptiques) jusqu'à des cibles cellulaires (neurones ou cellules gliales) situées à distance (figure 2C). Déterminer le rôle de ces fibres nerveuses monoaminergiques non jonctionnelles n'est pas une

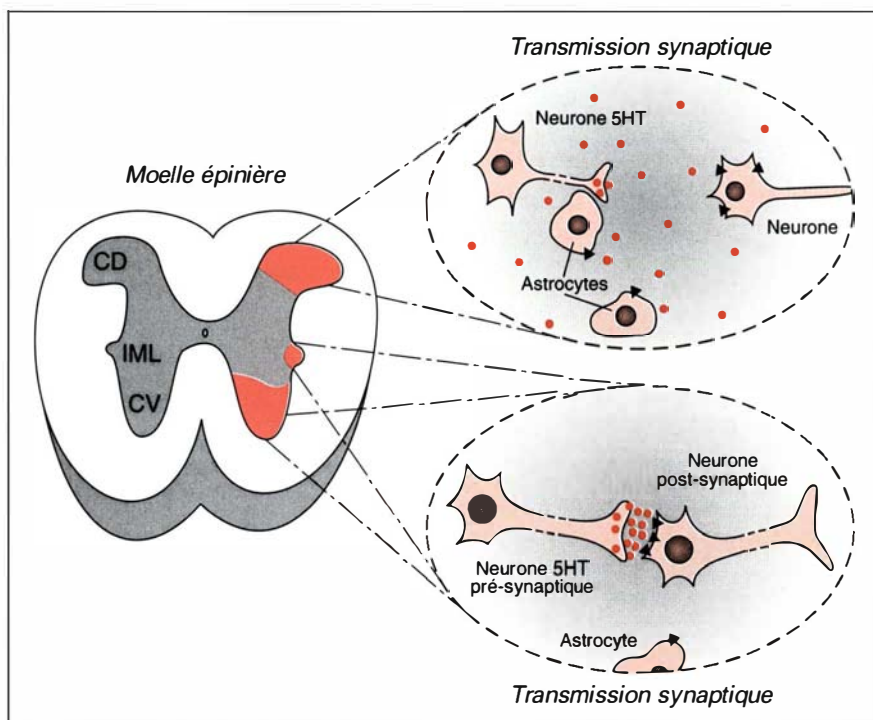


Figure 2. **Représentation schématique de l'organisation des systèmes à monoamines, notamment à sérotonine, dans la moelle épinière du rat adulte.** Les neurones à sérotonine situés dans le tronc cérébral se projettent dans la corne dorsale, dans laquelle ces systèmes sont caractérisés par une majorité de fibres de petit diamètre établissant des contacts non synaptiques, alors que, dans la colonne intermédiaire latérale et la corne ventrale, les axones à monoamines sont plus gros et établissent des synapses classiques. CD: corne dorsale; IML: colonne intermédiaire latérale; CV: corne ventrale.

entreprise aisée. En effet, l'interprétation de dosages de sérotonine par microdialyse pour comparer systèmes sérotoninergiques dorsal (transmission volumique) et ventral (transmission synaptique) s'avère délicate puisqu'il existe aussi, au sein de la corne dorsale, un contingent de fibres synaptiques. L'origine de la sérotonine ainsi dosée serait incertaine. Une autre approche consiste en l'élimination sélective des axones non synaptiques. Cela a été rendu possible par l'utilisation de composés amphétaminiques, dérivés de l'Ecstasy, drogue dure très puissante et dévastatrice. Ces composés sont connus pour leurs effets aigus psychotropes (hallucinations, psychose, anxiété et dépression), dus à la libération massive de la dopamine et de la sérotonine contenues dans les terminaisons axo-

nales. En revanche, les conséquences à long terme de leur consommation ont jusqu'alors été peu étudiées [11]. Outre ces effets aigus, une équipe américaine a montré que ces composés exercent des effets neurotoxiques à long terme au niveau du cortex cérébral, où seules les fines fibres nerveuses à sérotonine sont affectées [12]. Or, il a été montré que ce sont ces mêmes fibres corticales qui ont été précédemment décrites comme non jonctionnelles [2]. Plus récemment, une étude a été menée en injectant une de ces molécules, la p-chloroamphétamine (PCA) (deux injections de 10 mg/kg à 24 heures d'intervalle) dans le péritoine de rats adultes [13]. Après une période de survie de trois semaines, l'immunodétection des monoamines (sérotonine mais aussi noradrénaline et dopa-

mine) a été réalisée dans la moelle épinière à l'aide d'anticorps spécifiques. L'évaluation des effets de la PCA par analyse d'image quantitative a révélé que la PCA entraînait une baisse significative et sélective du marquage sérotoninergique dans la corne dorsale de la moelle épinière, épargnant à la fois les systèmes sérotoninergiques innervant la colonne intermédiaire latérale et la corne ventrale et les systèmes noradrénergique et dopaminergique (figure 3). L'examen minutieux en microscopie électronique des systèmes monoaminergiques a confirmé ces résultats et a, de plus, révélé que seuls les axones fins sérotoninergiques non synaptiques innervant la corne dorsale étaient touchés [13]. Cette étude préliminaire n'a pas permis de déterminer : (1) si les petits axones sérotoninergiques sont détruits ; (2) si seule la synthèse de sérotonine est bloquée ; (3) si le transport axonal de la sérotonine est perturbé ou (4) s'il y a une hyperlibération de sérotonine (rendant ainsi la sérotonine indétectable par immunocytochimie). Il est légitime de penser que les axones ne sont pas détruits mais que l'absence d'immunoréactivité sérotoninergique est due à la faible quantité de sérotonine présente dans les axones et les terminaisons. En effet, après traitement (à la PCA, à l'Ecstasy...), les corps cellulaires des neurones à sérotonine, localisés dans l'encéphale au niveau du raphé, demeurent immunoréactifs à la sérotonine, de même que la portion proximale de leurs axones. Il semble donc que les effets de ces dérivés amphétaminiques se focalisent sur la partie distale des axones sérotoninergiques sans que l'on puisse, pour l'instant, préciser le(s) mécanisme(s) affecté(s) (transport, libération, recapture) [11]. Ce modèle de rats traités à la PCA est très intéressant puisqu'il permet d'obtenir des animaux spécifiquement dépourvus de la composante non synaptique de leur système sérotoninergique. Ainsi, il va être possible de les étudier d'un point de vue physiologique pour essayer de déterminer le rôle de ces axones non jonctionnels, majoritaires au sein de la corne dorsale, dans la modulation des messages sensitifs.

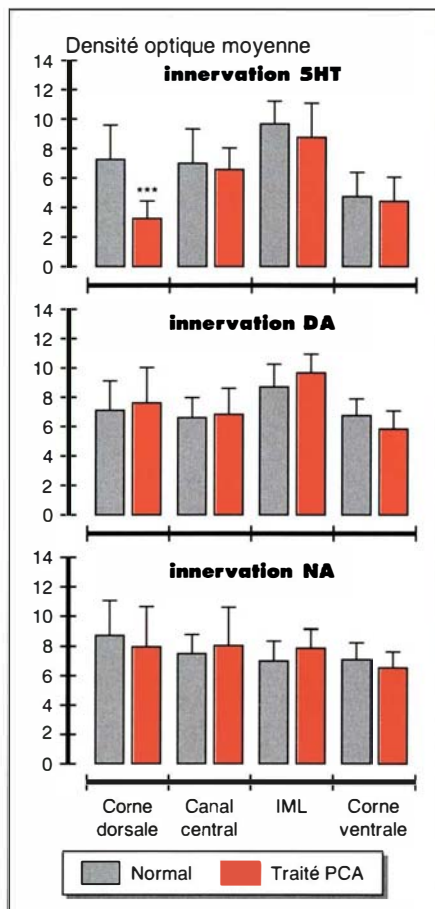


Figure 3. Quantification par analyse d'image de l'immunomarquage des monoamines dans la moelle épinière de rats témoins et de rats traités par la p-chloroamphétamine (PCA). Notez l'effet sélectif de la PCA sur l'innervation sérotoninergique non synaptique de la corne dorsale, rappelant celui de la PCA sur les fins axones sérotoninergiques innervant le cortex cérébral. 5HT : sérotonine; NA : noradrénaline; DA : dopamine; IML : colonne intermédiolatérale. \*\*\* : différence significative ( $p < 0,001$ ).

Outre les projections monoaminergiques, d'autres systèmes médullaires semblent organisés sans contacts synaptiques classiques. C'est le cas du système à substance P, peptide endogène intervenant dans la transmission des messages sensitifs. Il vient, en effet, d'être démontré que la substance P, contenue dans certaines afférences primaires sensitives, diffuse au sein de la corne dorsale de la

moelle épinière. Des doubles marquages de la substance P et de ses récepteurs ont révélé la présence de récepteurs à distance des sites de libération de la substance P [14]. Enfin, une récente étude, publiée en octobre 1994 par Denis Umbriaco, du groupe de Laurent Descarries, a très élégamment démontré que l'innervation cholinergique du cortex cérébral pariétal, provenant essentiellement de neurones à acétylcholine localisés dans les noyaux gris centraux, est caractérisée par une très large majorité (> 85 %) de contacts non synaptiques [15]. Ces résultats sont très intéressants puisqu'ils suggèrent que l'effet modulateur de ce système sur l'activité corticale s'exerce essentiellement par transmission volumique.

### Conclusion

Pris dans leur ensemble, ces résultats récents permettent donc de penser que, outre les systèmes monoaminergiques, d'autres systèmes neuronaux présentent, dans certaines régions du système nerveux, une organisation de type non synaptique. Les exemples existants (monoamines, acétylcholine) pourraient suggérer que ce type de transmission caractérise, plus ou moins sélectivement, les systèmes neuronaux à projection diffuse, dont on comprend que l'influence puisse s'exercer par l'intermédiaire d'un substrat anatomique différent des projections « point à point », caractérisant les grandes voies motrices, sensorielles et sensitives. L'existence d'une telle transmission à distance, avec une multitude de cibles cellulaires et une variété importante d'actions, permettrait d'élargir la définition de neurotransmetteur, très étroitement liée à l'existence anatomique de la synapse ■

### RÉFÉRENCES

1. Fuxe K, Agnati LF. Two principal modes of electrochemical communication in the brain: volume versus wiring transmission. In: Fuxe K, Agnati LF, eds. *Volume transmission in the brain: novel mechanisms for neural transmission*. New York: Raven Press, 1991: 1-9.
2. Descarries L, Séguéla P, Watkins KC. Nonjunctional relationships of monoamine axon terminals in the cerebral cortex of adult rat. In: Fuxe K, Agnati LF, eds. *Volume transmission in the brain: novel mechanisms for neural transmission*. New York: Raven Press, 1991: 53-62.
3. Takagi H, Miroshima Y, Matsuyama T, Hayashi H, Watanabe T, Wada H. Histaminergic axons in the neostriatum and cerebral cortex of the rat: a correlated light and electron microscopic immunocytochemical study using histidine decarboxylase as a marker. *Brain Res* 1986; 364: 155-68.
4. Rajaofetra N, Ridet JL, Poulat P, Marlier L, Sandillon F, Geffard M, Privat A. Immunocytochemical mapping of noradrenergic projections to the rat spinal cord with an antiserum against noradrenaline. *J Neurocytol* 1992; 21: 481-94.
5. Ridet JL, Rajaofetra N, Teilhac JR, Geffard M, Privat A. Evidence for nonsynaptic serotonergic and noradrenergic innervation of the rat dorsal horn and possible involvement of neuron-glial interactions. *Neuroscience* 1993; 52: 143-57.
6. Ridet JL, Sandillon F, Rajaofetra N, Geffard M, Privat A. Spinal dopaminergic system of the rat spinal cord: light and electron microscopic study using an antiserum against dopamine, with particular emphasis on synaptic incidence. *Brain Res* 1992; 598: 233-41.
7. Rajaofetra N, Konig N, Poulat P, Marlier L, Sandillon F, Drian MJ, Geffard M, Privat A. Fate of B1-B2 and B3 rhombencephalic cells transplanted into the transected spinal cord of adult rats: light and electron microscopic studies. *Exp Neurol* 1992; 117: 59-70.
8. Ridet JL. Organisation ultrastructurale et plasticité des systèmes monoaminergiques dans la moelle épinière du rat. Thèse de l'Université Montpellier-II, juillet 1994.
9. Christenson J, Wallen P, Brodin L, Grillner S. 5-HT systems in a lower vertebrate model: ultrastructure, distribution, and synaptic and cellular mechanisms. In: Fuxe K, Agnati LF, eds. *Volume transmission in the brain: novel mechanisms for neural transmission*. New York: Raven Press, 1991: 159-70.
10. Ridet JL, Tamir H, Privat A. Direct immunocytochemical localization of 5-hydroxytryptamine receptors in the adult rat spinal cord: a light and electron microscopic study using an anti-idiotypic antiserum. *J Neurosci Res* 1994; 38: 109-21.
11. Fuller RW. Effects of p-chloroamphetamine on brain serotonin neurons. *Neurochem Int* 1992; 17: 449-56.

---

12. Mamounas LA, Mullen CA, O'Hearn E, Molliver ME. Dual serotonergic projections to forebrain in the rat: morphologically distinct 5-HT axon terminals exhibit differential vulnerability to neurotoxic amphetamine derivatives. *J Comp Neurol* 1991; 314: 558-96.

13. Ridet JL, Geffard M, Privat A. Light and electron microscopic studies of the effects of p-chloroamphetamine on the monoaminergic innervation of the rat spinal cord. *J Comp Neurol* 1994; 343: 281-96.

14. Liu HT, Brown JL, Jasmin L, Maggio JE, Vigna SR, Mantyh PW, Basbaum AI. Synaptic relationship between substance P and the substance P receptor: light and electron microscopic characterization of the mismatch between neuropeptides and their receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 1009-13.

15. Umbriaco D, Watkins KC, Descarries L, Cozzari C, Hartman BK. Ultrastructural and morphological features of the acetylcholine innervation in adult rat parietal cortex: an electron microscopic study in serial sections. *J Comp Neurol* 1994; 348: 351-73.

---

#### Remerciements

Les auteurs tiennent à exprimer leur gratitude à l'IRME, l'AFM, l'Inserm, la DRET et la Fondation Daniel Heumann de New York pour leur soutien financier. Les auteurs remercient également le Docteur Gérard Alonso pour la lecture critique de ce manuscrit.

---

---

**Jean-Luc Ridet**  
**Alain Privat**

*Inserm U. 336, Université Montpellier-II,  
case 106, place Eugène-Bataillon, 34095  
Montpellier Cedex 05, France.*

---

---

#### TIRÉS À PART

A. Privat.

*m/s n° 6, vol. 11, juin 95*