

L'innervation cholinergique de la paroi vasculaire

La paroi des vaisseaux du système périphérique extracérébral reçoit une innervation cholinergique parasymphatique. Celle-ci induit une vasodilatation dépendante de l'endothélium dont le mécanisme implique la synthèse et la libération endothéliale d'un agent diffusible agissant comme relaxant musculaire, le monoxyde d'azote ou NO. Par ailleurs, les artères extracérébrales sont dotées de fibres nerveuses, directement impliquées dans la synthèse du NO, qui seraient activées par l'acétylcholine mettant en jeu un récepteur nicotinique. Au niveau intra-cérébral, les microvaisseaux du cortex cérébral sont en relation étroite avec des terminaisons nerveuses cholinergiques originaires du cortex lui-même et/ou du télencéphale basal. La glie périvasculaire s'interpose dans ces contacts neurovasculaires, suggérant que les astrocytes participent au contrôle du débit sanguin cérébral local et éventuellement de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique. Ainsi, un mécanisme impliquant une communication neurone-glie-vaisseau pourrait intervenir sur la régulation de la microcirculation corticale.

Alain Chédotal
Édith Hamel

ADRESSES

E. Hamel : *professeur agrégé*. Laboratoire de recherches cérébrovasculaires, Institut neurologique de Montréal, 3801, rue Université, Montréal, Québec, H3 2B4, Canada.
A. Chédotal : *étudiant doctoral*. Inserm U. 106, hôpital de la Salpêtrière, bâtiment de pédiatrie, 47, boulevard de l'Hôpital, 75651 Paris Cedex 13, France.

Le rôle de l'acétylcholine au niveau de la paroi vasculaire, qu'il s'agisse de vaisseaux périphériques ou cérébraux, demeure quelque peu énigmatique. En effet, l'acétylcholine peut exercer une dilatation aussi bien qu'une constriction selon l'espèce et le lit vasculaire considérés. De plus, la dilatation s'effectue par l'intermédiaire des cellules endothéliales qui synthétisent et libèrent l'agent responsable de la dilatation. Le but

de cet article sera de présenter les éléments qui permettent d'assigner un rôle fonctionnel à l'acétylcholine libérée de façon neurogène dans le voisinage immédiat de la paroi vasculaire. Nous traiterons des modes d'action des nerfs cholinergiques sur les vaisseaux périphériques tels que l'aorte, les artères coronaire ou centrale de l'oreille, les vaisseaux extracérébraux (polygone de Willis et les artères qui en dérivent au niveau pie-mérien), et les vaisseaux intra-

RÉFÉRENCES

- Gibbins IL, Morris JL, Furness JB, Costa M. Innervation of systemic blood vessels. In : Burnstock G, Griffith SG, eds. *Nonadrenergic innervation of blood vessels, regional innervation*, vol. 2. Boca Raton, FL : CRC Press, Inc., 1988 : 1-36.
- MacKenzie ET, Scatton B. Cerebral circulatory and metabolic effects of perivascular neurotransmitters. *CRC Crit Rev Clin Neurobiol* 1987 ; 2 : 357-419.
- Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980 ; 288 : 373-6.
- Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987 ; 327 : 524-6.
- Bredt DS, Hwang PM, Snyder SH. Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. *Nature* 1990 ; 347 : 768-70.
- Simmons ML, Murphy S. Induction of nitric oxide synthase in glial cells. *J Neurochem* 1992 ; 59 : 897-905.
- Moncada S. The first Robert Furchgott Lecture : From endothelium-dependent relaxation to the L-arginine : NO pathway. *Blood Vessels* 1990 ; 27 : 208-17.
- Brotan TP, Miyashiro JK, Moncada S, Feigl EO. Role of endothelium-derived relaxing factor in parasympathetic coronary vasodilation. *Am J Physiol* 1992 ; 262 : H1579-84.
- Vanhoutte PM. The end of the quest ? *Nature* 1987 ; 327 : 459-60.
- Angus JA, Campbell GR, Cocks TM, Manderson JA. Vasodilatation by acetylcholine is endothelium-dependent : a study by sonomicrometry in canine femoral artery *in vivo*. *J Physiol* 1983 ; 344 : 209-22.
- Toda N, Minami Y, Onoue H. Extraluminally applied acetylcholine and oxyhemoglobin on the release and action of EDRF. *Eur J Pharmacol* 1988 ; 151 : 123-6.
- Tracey WR, Peach MJ. Differential muscarinic receptor mRNA expression by freshly isolated and cultured bovine aortic endothelial cells. *Circ Res* 1992 ; 70 : 234-40.
- Lincoln J, Burnstock G. Neural-endothelial interactions in control of local blood flow. *The Endothelium : an introduction to current research*. New York : Wiley-Liss, Inc, 1990 : 21-32.
- Hume WR, De La Lande IS, Waterson JG. Effect of acetylcholine on the response of the isolated rabbit ear artery to stimulation of the perivascular sympathetic nerves. *Eur J Pharmacol* 1972 ; 17 : 227-33.

cérébraux constitués des artérolles, microartérolles et capillaires du parenchyme cérébral. Il faut souligner que l'innervation vasculaire constitue un domaine beaucoup plus vaste que celui que nous abordons ici, comportant en particulier les systèmes adrénergique et peptidergique, auxquels s'ajoutent les fibres cholinergiques. Cependant, bon nombre de revues ayant amplement traité ce sujet [1, 2], nous nous limiterons ici à l'innervation cholinergique périvasculaire.

Vaisseaux périphériques

Les nerfs cholinergiques des vaisseaux périphériques appartiennent au système parasympathique et sont vasodilatateurs. Ainsi, la stimulation électrique du nerf vague produit une vasodilatation de l'artère coronaire. D'un point de vue anatomique, les nerfs périvasculaires sont confinés à l'interface entre l'adventice et la couche musculaire lisse de la *tunica media* (figure 1). Les cellules musculaires constituent la première cible vasculaire

de l'acétylcholine libérée de façon neurogène.

Implication de l'endothélium

Les travaux princeps de Furchgott et Zawadzki [3] réalisés sur l'aorte ont démontré que la vasodilatation induite par l'acétylcholine (administrée de façon abluminale sur des segments artériels isolés) requiert l'intégrité des cellules endothéliales. Ces dernières, constituant la paroi la plus interne du vaisseau, se situent sur la face opposée à celle où les nerfs libèrent l'acétylcholine. L'importance de l'endothélium dans la réponse vasodilatatrice de l'acétylcholine est maintenant bien établie, tant au niveau périphérique que central. La vasodilatation dépend de la production et de la libération, par l'endothélium, d'un facteur relaxant (*endothelium-derived relaxing factor*, EDRF) [3], récemment identifié comme étant le monoxyde d'azote (NO) [4]. C'est ce terme que nous utiliserons tout au long de cet article, mais il est impor-

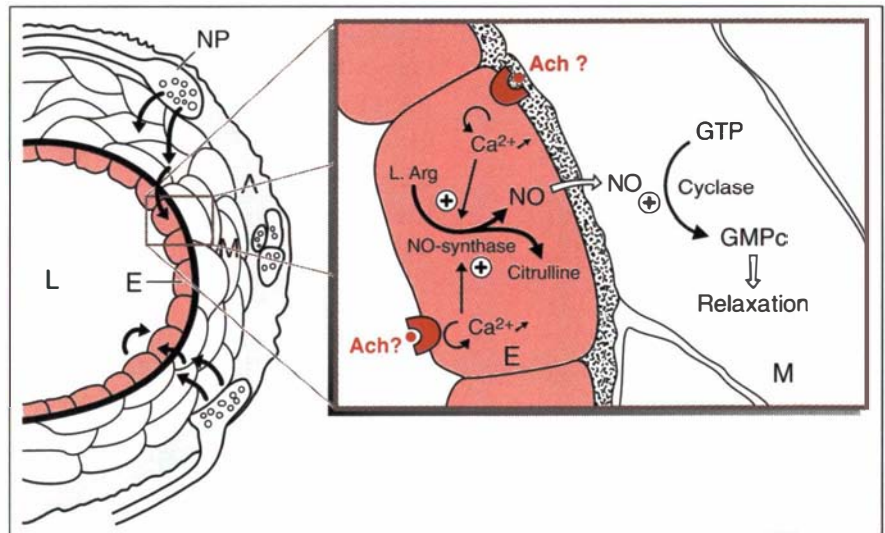


Figure 1. **Représentation schématique des nerfs périvasculaires (NP) et du mécanisme d'action de l'effet vasodilatateur de l'acétylcholine neurogène (triples flèches).** Les cellules endothéliales (E) tapissent la lumière (L) du vaisseau et sont séparées des cellules musculaires lisses de la tunica media (M) par la lame élastique (ligne épaisse noire). Les nerfs périvasculaires (parasympathiques, sympathiques et sensoriels) sont situés dans l'adventice (A) à la bordure de la média. En agrandi dans l'encart, la libération neurogène de l'acétylcholine stimule un récepteur muscarinique endothélial et augmente les taux cytosoliques de Ca^{2+} , ce qui active l'enzyme (NO-synthase) impliquée dans la synthèse du monoxyde d'azote (NO). Celui-ci diffuse dans la cellule musculaire et provoque la relaxation. Noter qu'une synthèse locale, au niveau de l'endothélium (simple flèche), est suggérée.

tant de noter que la synthèse et la libération du NO ne sont aucune- ment une caractéristique exclusive de l'endothélium. En effet, les neurones et les cellules gliales produisent aussi cet agent vasoactif [5, 6]. Le NO, synthétisé à partir de l'arginine, dif- fuse dans la cellule musculaire lisse. Il interagit alors avec le groupe hème de la guanylyl cyclase pour produire le guanosine monophosphate cyclique (GMP cyclique) et provoquer la relaxation du muscle lisse vasculaire *via* la phosphorylation/déphosphoryla- tion de la chaîne légère de la myo- sine [7]. Dans ce cas, la synthèse du NO est déclenchée par un récepteur muscarinique endothélial qui mobilise les stocks intracytoplasmiques de Ca^{2+} . Par un mécanisme impliquant la calmoduline dépendante du Ca^{2+} , le calcium stimule alors la synthèse de NO et de citrulline à partir de L-arginine à la suite de l'activation de la NO-synthase (*figure 1*).

Tout récemment, des études physio- logiques ont montré que la vasodila- tion coronarienne et l'augmentation du flux sanguin coronarien induites par une stimulation du nerf vague dépendent aussi du NO [8]. Cette dilatation neurogène, consécutive à la libération périvasculaire de l'acétyl- choline au niveau de l'interface adventice/*media*, est abolie par l'atro- pine (un antagoniste sélectif des récepteurs muscariniques). Ces résul- tats indiquent que l'acétylcholine agit de façon indirecte par l'intermédiaire du NO, non seulement sur des seg- ments artériels isolés, mais également *in vivo*, dans un environnement où les nerfs cholinergiques périvasculaires et la paroi vasculaire sont fonctionnels.

Médiation neurovasculaire

Une telle activation d'un récepteur endothélial par l'acétylcholine soulève une question fondamentale, à savoir comment l'acétylcholine, exogène ou neurogène, administrée ou libérée sur la paroi externe du vaisseau, peut induire la synthèse et la libération du NO par l'endothélium sur la face opposée. Ces vaisseaux ont en effet une *tunica media* qui peut comporter plusieurs couches de cellules muscu- laires et il semble peu probable, *a priori*, que celle-ci permette aisément la diffusion de l'acétylcholine vers

l'endothélium. En revanche, le pas- sage de l'acétylcholine du côté des couches musculaires vers l'endothé- lium est compatible avec l'anatomie de ces artères qui présentent des ouvertures dans la lame élastique, permettant des contacts directs entre ces deux types de cellules [9]. Plus- sieurs études ont montré que l'acétyl- choline administrée au niveau de l'adventice pénètre la paroi muscu- laire et se retrouve au niveau endo- thélial à une concentration suffisam- ment élevée pour induire une relaxa- tion [10, 11]. Ces travaux suggèrent que l'acétylcholine peut atteindre l'endothélium et interagir avec un récepteur spécifique afin de provo- quer la synthèse et la libération du NO. Cette interprétation appuie celle émise par Broten *et al.* [8] qui pro- posent que l'acétylcholine neurogène est en mesure d'activer des récepteurs muscariniques endothéliaux. L'endo- thélium, ainsi que les cellules muscu- laires lisses des artères périphériques, possèdent en effet plusieurs sous-types de récepteurs muscariniques [12]. En plus d'un rôle endothélial, il est pro- bable que l'acétylcholine puisse exer- cer une action directe sur la paroi musculaire. A cet égard, il est inté- ressant de noter que le récepteur muscarinique endothélial possède une affinité plus grande pour l'acétylcho- line que celui des cellules musculai- res lisses [3].

Bien que ce mécanisme d'action sou- lève quelques controverses, il est à ce jour le plus plausible puisque, d'une part, très peu d'acétylcholine se retrouve dans la circulation sanguine et que, d'autre part, une innervation cholinergique directe de l'endothélium des artères périphériques est peu vrai- semblable. Il faut cependant rappor- ter que certains auteurs ont suggéré que l'acétylcholine pourrait être synthétisée par l'endothélium même, et agir localement sur les récepteurs muscariniques endothéliaux [13]. D'autres interactions cholinergiques périvasculaires, comme l'inhibition pré-synaptique de la libération de noradrénaline par les nerfs sympathi- ques [14], représentent un mécanisme complémentaire par lequel les nerfs cholinergiques pourraient provoquer une relaxation vasculaire. Également, la colocalisation du peptide vasoactif intestinal (VIP) et du NO (deux dila-

tateurs agissant directement sur les cellules musculaires) dans les nerfs cholinergiques de certaines artères périphériques [15] suggère que ces substances puissent être à l'origine de la vasodilatation neurogène.

Vaisseaux cérébraux

Le réseau d'apport sanguin au cer- veau est constitué par les artères céré- brales majeures à la base du cerveau (polygone de Willis) et leurs ramifi- cations à la surface corticale, dits vaisseaux pie-mériens. Ces vaisseaux extracérébraux voyagent dans l'espace sous-arachnoïdien et leurs caractéris- tiques anatomiques se comparent à celles des vaisseaux périphériques pré- sentés ci-dessus. Ils reçoivent une innervation mixte des systèmes sympathique, parasympathique et sensoriel (pour une revue récente, voir [2]). Ils sont donc sous le con- trôle de nerfs périvasculaires d'origine périphérique. Ces vaisseaux sont essentiellement résistifs et intervien- draient dans le contrôle global du débit sanguin cérébral, c'est-à-dire l'apport sanguin à l'ensemble du cer- veau. On distingue, d'autre part, un deuxième niveau de régulation de l'apport sanguin au cerveau, cette fois-ci beaucoup plus fin et faisant partie intégrante du système nerveux central. Celui-ci est formé par les microartérioles et capillaires intrapa- renchymateux. Ce lit microvasculaire, constitué des vaisseaux intra- cérébraux, est unique tant d'un point de vue morphologique que fonction- nel, et serait responsable de l'apport régional, voire focal, du sang. Il est également le siège de la barrière hémato-encéphalique. Un nombre croissant d'arguments expérimentaux indiquent que la microcirculation cérébrale est contrôlée directement par des neurones et systèmes neuro- naux intracérébraux (*figure 2, voir aussi ci-dessous*), qui agiraient sur le débit sanguin cérébral local.

D'un point de vue morphologique, la transition entre vaisseaux extra- et intra-cérébraux est particulière. En effet, les artères pénétrantes ainsi que les artérioles sont entourées, à leur entrée dans le parenchyme cérébral, d'un espace, l'espace de Virchow- Robin, qui les isole du tissu nerveux avoisinant (*figure 2*). Cet espace dimi-

RÉFÉRENCES

15. Kummer W, Fischer A, Mundel P, Mayer B, Hoba B, Philippin B, Preissler U. Nitric oxide synthase in VIP-containing vasodilator nerve fibres in the guinea-pig. *NeuroReport* 1992 ; 3 : 653-5.
16. Chorobski J, Penfield W. Cerebral vasodilator nerves and their pathway from the medulla oblongata. *Arch Neurol Psychiatr* 1932 ; 28 : 1257-89.
17. Suzuki N, Hardebo JE, Owman C. Origins and pathways of choline acetyltransferase-positive parasympathetic nerve fibers to cerebral vessels in rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 1990 ; 10 : 399-408.
18. Seylaz J, Hara H, Pinard E, Mraovitch S, MacKenzie ET, Edvinsson L. Effect of stimulation of the sphenopalatine ganglion on cortical blood flow in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 1988 ; 8 : 875-8.
19. Suzuki N, Hardebo JE, Kahrström J, Owman C. Selective electrical stimulation of postganglionic cerebrovascular parasympathetic nerve fibers originating from the sphenopalatine ganglion enhances cortical blood flow in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 1990 ; 10 : 383-91.
20. Estrada C, Krause DN. Muscarinic cholinergic receptor sites in cerebral blood vessels. *J Pharmacol Exp Ther* 1982 ; 221 : 85-90.
21. Saito A, Wu JY, Lee TJF. Evidence for the presence of cholinergic nerves in cerebral arteries : an immunohistochemical demonstration of choline acetyltransferase. *J Cereb Blood Flow Metab* 1985 ; 5 : 327-34.
22. Hamel E, Estrada C. Cholinergic innervation of pial and intracerebral blood vessels : evidence, possible origins and sites of action. In : Seylaz J, Sercombe R, eds. *Neurotransmission and cerebrovascular function II*. Amsterdam : Elsevier Science Publishers B V (Biomedical Division), 1989 : 151-73.
23. Dauphin F, Hamel E. Muscarinic receptor subtypes and signal transduction mechanisms in cerebral blood vessels. *Circ Metab Cerveau* 1992 ; 9 : 153-71.
24. Toda N, Okamura T. Role of nitric oxide in neurally induced cerebroarterial relaxation. *J Pharmacol Exp Ther* 1991 ; 258 : 1027-32.
25. Reis DJ. Central neural control of cerebral circulation and metabolism. In : MacKenzie ET, Seylaz J, Bès A, eds. *Neurotransmitters and the cerebral circulation, L.E.R.S. Monograph Series*, vol. 2. New York : Raven Press, 1984 : 91-119.
26. Nakai M, Iadecola C, Ruggiero DA, Tucker LW, Reis DJ. Electrical stimulation of cerebellar fastigial nucleus increases cerebral cortical blood flow without change in local metabolism : evidence for an intrinsic system in brain for primary vasodilation. *Brain Res* 1983 ; 260 : 35-49.

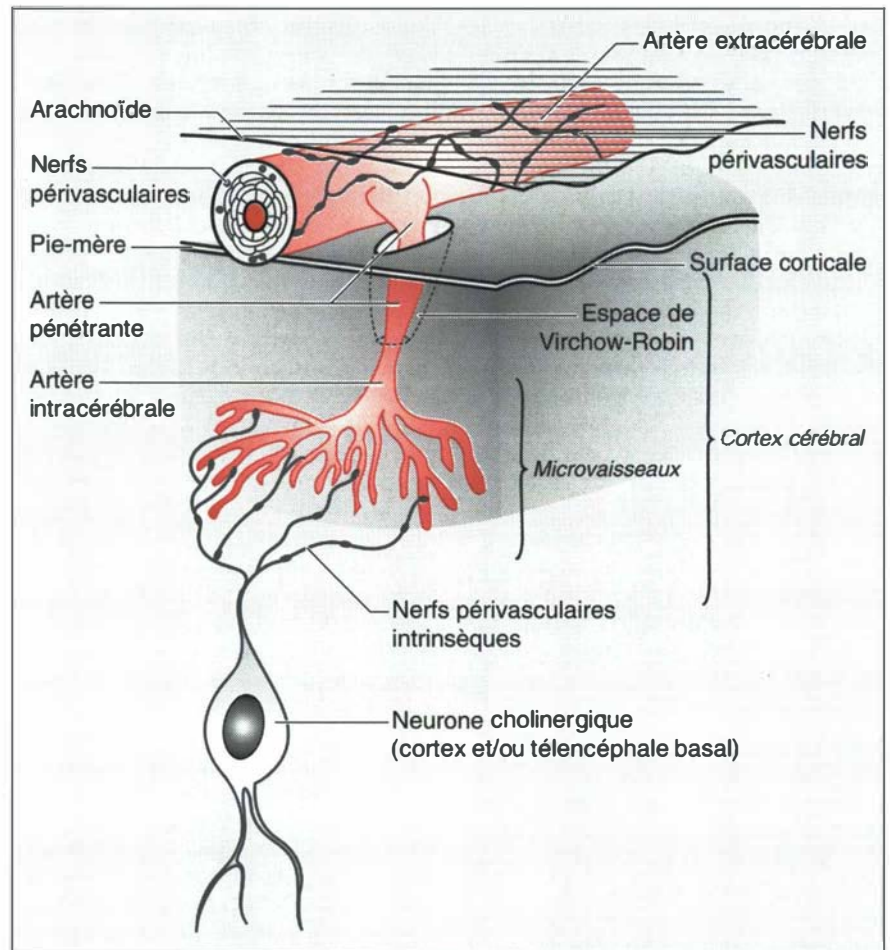


Figure 2. **Représentation schématique du système vasculaire cérébral et de ses innervations cholinergiques extra- et intra-cérébrales.** L'artère extra-cérébrale est innervée par un plexus nerveux parasympathique alors que les fibres cholinergiques des microvaisseaux du cortex cérébral proviennent de neurones situés à l'intérieur du parenchyme cérébral cortical ou sous-cortical (« contrôle neurogène intrinsèque »).

nue progressivement et la couche musculaire qui entoure l'endothélium s'amincit jusqu'à disparaître au niveau des capillaires. La couche musculaire peut dans certains cas être remplacée par des péricytes. Une autre particularité remarquable des cellules endothéliales des vaisseaux intra-cérébraux est de ne pas présenter de fenestrations et de demeurer étroitement liées par des jonctions serrées (figures 3 et 5). Cela confère à l'endothélium vasculaire cérébral une imperméabilité qui est à la base des propriétés de la barrière hémato-encéphalique. Le plus souvent, les capillaires sont recouverts d'un manchon glial constitué de prolongements

d'astrocytes (ou pieds astrocytaires). Des éléments neuronaux peuvent parfois se trouver au contact direct de la mince lame basale qui recouvre l'endothélium.

Vaisseaux extracérébraux

Les premières données en faveur d'un contrôle exercé par le système nerveux sur les vaisseaux situés à la surface du cerveau (vaisseaux extracérébraux) remontent aux années 1930 avec les travaux effectués par Chorobski et Penfield [16] à l'Institut neurologique de Montréal. Par observation directe, ces auteurs ont démontré l'existence d'un contingent crânien du système cholinergique

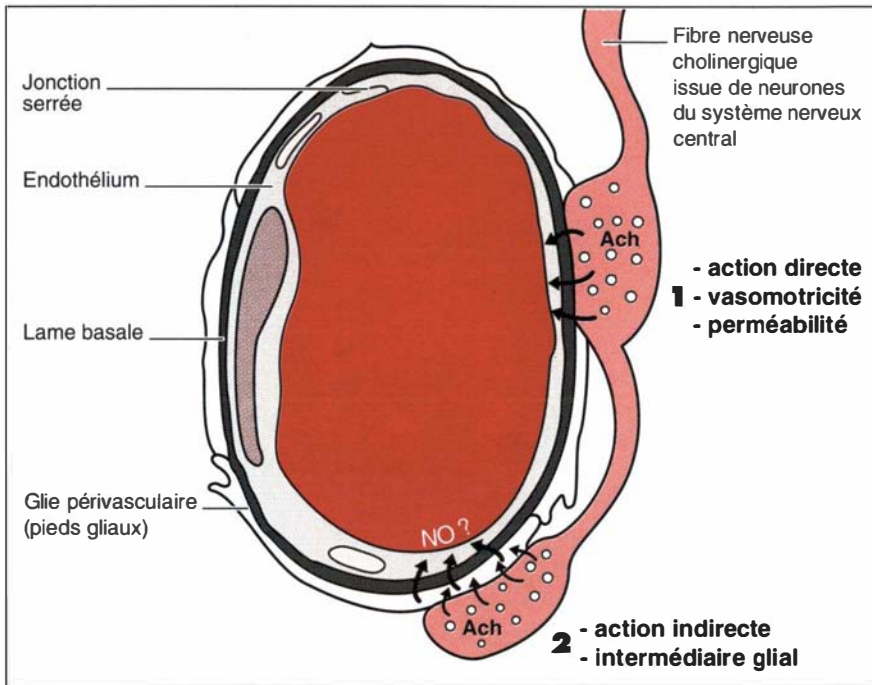


Figure 3. **Mode d'action de l'acétylcholine au niveau des microvaisseaux intracérébraux.** Deux mécanismes, non incompatibles, sont possibles. (1) La terminaison cholinergique au contact de la lame basale du microvaisseau libère de l'acétylcholine qui agit directement sur la cellule endothéliale ou musculaire. (2) L'acétylcholine libérée agit sur les astrocytes périvasculaires qui libèrent un facteur influençant la cellule endothéliale ou musculaire. L'action de l'acétylcholine sur l'endothélium ou le muscle lisse serait alors indirecte. Nos données morphologiques sont en faveur de ce dernier mécanisme, qui pourrait constituer la base des interactions neurovasculaires au sein du cortex cérébral.

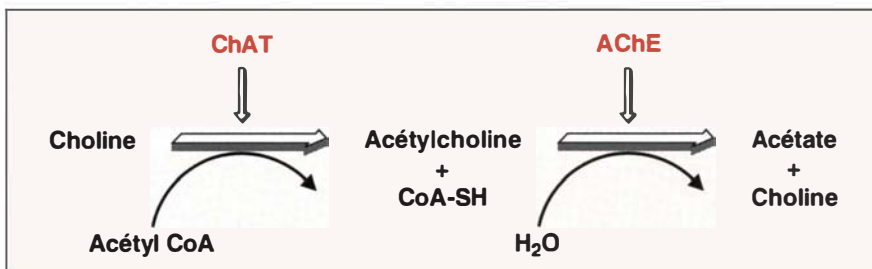


Figure 4. **Chaîne de biosynthèse et de dégradation de l'acétylcholine indiquant les étapes où interviennent la choline acétyltransférase (ChAT) et l'acétylcholinestérase (AChE), enzymes marqueurs des systèmes cholinergiques.**

parasympathique dont la stimulation électrique entraînait une vasodilatation des artères cérébrales. Cette réponse était inhibée par l'application d'atropine (antagoniste muscarinique). Cette innervation a été plus amplement étudiée et il semble qu'elle serait originaire de plusieurs ganglions dont le sphéno-palatine, l'otique et, probablement, le miniganglion de la carotide interne [17]. L'acétylcholine de ces fibres nerveuses est en partie colocalisée avec le VIP [17], de sorte que la stimulation électrique de ces ganglions ou de leurs nerfs efférents provoque une dilatation qui s'accompagne d'une

augmentation du débit sanguin cérébral [18, 19]. Des expériences de radiolisation et des études sur des segments artériels isolés ont démontré la présence de récepteurs cholinergiques muscariniques tant endothéliaux que musculaires [20].

La confirmation anatomique de la présence de fibres nerveuses cholinergiques sur la paroi des vaisseaux extracérébraux a été tardive. Tout d'abord des techniques d'histochimie ont révélé la présence de fibres contenant de l'acétylcholinestérase, l'enzyme de dégradation de l'acétylcholine (figure 4). Néanmoins, il s'est avéré que cette protéine pouvait être

présente dans des neurones non cholinergiques. Au cours des dix dernières années, le développement des techniques immunohistochimiques a permis la purification d'un certain nombre d'anticorps dirigés contre la choline acétyltransférase, l'enzyme de synthèse de l'acétylcholine (figure 4). Certains chercheurs ont ainsi détecté cette enzyme dans des fibres nerveuses périvasculaires [17, 21], alors que d'autres n'y sont pas parvenus. En revanche, tous les critères biochimiques (capture de choline, synthèse et libération d'acétylcholine) d'une innervation cholinergique fonctionnelle des vaisseaux extracérébraux ont

RÉFÉRENCES

27. Lacombe P, Sercombe R, Verrecchia C, Philipson V, MacKenzie ET, Seylaz J. Cortical blood flow increases induced by stimulation of the substantia innominata in the unanesthetized rat. *Brain Res* 1989 ; 491 : 1-14.
28. Eckenstein F, Baughman RW. Two types of cholinergic innervation in cortex, one co-localized with vasoactive intestinal polypeptide. *Nature* 1984 ; 309 : 153-5.
29. Arneric SP, Honig MA, Milner TA, Greco S, Iadecola C, Reis DJ. Neuronal and endothelial sites of acetylcholine synthesis and release associated with microvessels in rat cerebral cortex : ultrastructural and neurochemical studies. *Brain Res* 1988 ; 454 : 11-30.
30. Chédotal A, Umbriaco D, Hartman BK, Hamel E. Ultrastructural evidence for distinct cholinergic and VIP-ergic modulation of intracortical blood vessels. *Soc Neurosci Abstr* 1992 ; 18 : 977.
31. Ashkenazi A, Ramachandra J, Capon DJ. Acetylcholine analogue stimulates DNA synthesis in brain-derived cells via specific muscarinic receptor subtypes. *Nature* 1989 ; 340 : 146-50.
32. Giaume C, Fromaget C, El Aoumari A, Cordier J, Glowinski J, Gros D. Gap junctions in cultured astrocytes : single-channel currents and characterization of channel-forming protein. *Neuron* 1991 ; 6 : 133-43.
33. Raszkievicz JL, Linville DG, Kerwin Jr JF, Wagenaar F, Arneric SP. Nitric oxide synthase is critical in mediating basal forebrain regulation of cortical cerebral circulation. *J Neurosci Res* 1992 ; 33 : 129-35.
34. Estrada C, Hamel E, Krause DN. Biochemical evidence for cholinergic innervation of intracerebral blood vessels. *Brain Res* 1983 ; 266 : 261-70.
35. Owman C, Edvinsson L, Hardebo JE, Groschel-Stewart U, Unsicker K, Wallis B. Immunohistochemical demonstration of actin and myosin in brain capillaries. *Adv Neurol* 1978 ; 20 : 35-7.
36. Lauterborn JC, Isackson PJ, Montalvo R, Gau CM. *In situ* hybridization localization of choline acetyltransferase mRNA in adult rat brain and spinal cord. *Mol Brain Res* 1993 ; 17 : 59-69.
37. Hertz L. Autonomic control of neuronal-astrocytic interactions, regulating metabolic activities, and ion fluxes in the CNS. *Brain Res Bull* 1992 ; 29 : 303-13.

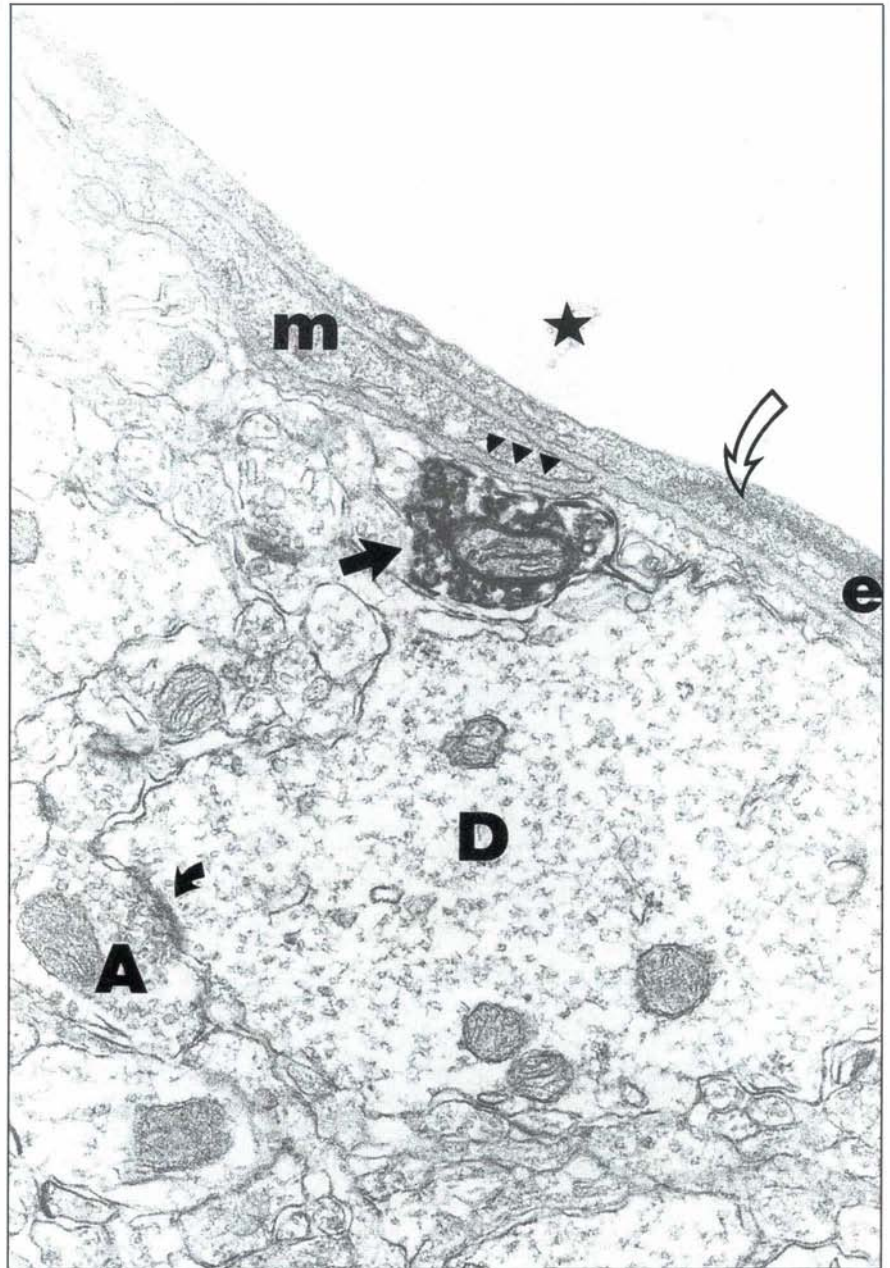


Figure 5. Photographie en microscopie électronique montrant une terminaison cholinergique (large flèche noire) immunoréactive pour la choline acétyltransférase, venant en apposition (pointes de flèches) avec la lame basale d'une cellule musculaire lisse (m) d'une artériole corticale. Seul un mince feuillet glial s'interpose entre la terminaison et la paroi vasculaire. A, terminaison axonale établissant une synapse (petite flèche courbe) avec une large dendrite (D), e, cellule endothéliale formant une jonction serrée (flèche courbe ouverte). ★, lumière du vaisseau.

été établis (pour revue voir [22]). D'un point de vue morphologique, l'observation immunohistochimique de la choline acétyltransférase reste la meilleure façon d'identifier les neurones et les fibres nerveuses cholinergiques. Une démonstration décisive concernant les fibres cérébrovasculaires reste à établir.

Comme dans le cas du système vasculaire périphérique, les terminaisons cholinergiques sur les artères extracérébrales sont localisées dans l'adventice, au voisinage immédiat des cellules musculaires lisses de la *tunica media* (figures 1 et 2). Pour ces fibres, une différenciation morphologique du type de la synapse neuromusculaire des muscles striés n'a jamais été observée. L'action de l'acétylcholine sur le muscle et l'endothélium des vaisseaux extracérébraux est donc de nature paracrine. Elle s'exerce sur des récepteurs muscariniques à forte affinité, pouvant être relativement éloignés du site de libération de l'acétylcholine. Bien que, sur des artères cérébrales isolées, l'acétylcholine induise une relaxation (à faible concentration) et une constriction (à forte concentration), et que des récepteurs muscariniques dilatateurs et constricteurs aient été identifiés (pour revue voir [23]), l'acétylcholine d'origine neurogène serait dilatatrice d'après des études physiologiques. Cette apparente contradiction pourrait être expliquée par la présence de fibres autonomes noradrénergiques non cholinergiques sur les artères extracérébrales. Ces fibres, lorsqu'elles sont stimulées électriquement ou par la nicotine, provoquent une vasodilatation non bloquée par l'atropine mais dépendante du NO [24]. De telles terminaisons nerveuses correspondent très probablement aux fibres immunoréactives à la NO synthase (impliquée dans la synthèse du NO), récemment identifiées de façon sélective sur les artères extracérébrales [5]. Il est donc possible que l'acétylcholine neurogène agisse sur un récepteur de type nicotinique impliqué dans la libération nerveuse de NO à partir de fibres périvasculaires. Une autre composante peut également intervenir dans la vasodilatation cholinergique. En effet, la stimulation des nerfs cholinergiques cérébrovasculaires s'accom-

pagne d'une libération du VIP, un puissant vasodilatateur, partiellement co-localisé avec l'acétylcholine [17], qui agit directement sur les cellules musculaires.

Vaisseaux intracérébraux

Alors que les fibres nerveuses d'origine périphérique suivent les artères et artérioles pénétrantes, il est peu probable que ces mêmes fibres atteignent la microcirculation au-delà du niveau d'oblitération de l'espace de Virchow-Robin (figure 2). Cela a conduit à la proposition finaliste que les neurones intracérébraux eux-mêmes innervent les vaisseaux intraparenchymateux. Cette hypothèse d'un contrôle central neurogène de la microcirculation a été suggérée initialement dans le cas de la noradrénaline au niveau de l'hypothalamus et, plus tard, pour d'autres systèmes intracérébraux (pour revue voir [25]). Elle a été nommée « contrôle neurogène intrinsèque » [25]. Pour l'acétylcholine, de multiples résultats physiologiques se sont accumulés au cours des dernières années. Ils indiquent clairement un rôle des neurones cholinergiques centraux dans le phénomène de vasodilatation corticale observée après stimulation d'aires cérébrales variées, telles que le noyau fastigial du cervelet [26] et les neurones cholinergiques du télencéphale basal [27]. Cette régulation cholinergique centrale des microvaisseaux corticaux n'est pas nécessairement couplée au métabolisme énergétique et nécessite la libération d'acétylcholine. Le siège des neurones cholinergiques dont les fibres contrôlent la microcirculation cérébrale est néanmoins controversé comme nous le verrons plus loin. Des données morphologiques appuient également l'hypothèse d'un contrôle neurogène intrinsèque de la microcirculation cérébrale de nature cholinergique. Divers travaux effectués en microscopie électronique ont mis en évidence des terminaisons ou varicosités immunoréactives pour la choline acétyltransférase, à proximité des capillaires cérébraux dans le cortex du rat [28, 29]. Cependant, aucune étude n'avait défini les relations anatomiques précises entre les fibres cholinergiques et les vaisseaux sanguins intracérébraux. Récemment, nous avons réalisé une étude ultras-

structurale immunohistochimique de quantification de l'innervation cholinergique des vaisseaux intracorticaux du rat [30]. Afin d'étudier la distribution périvasculaire des terminaisons cholinergiques dans le cortex, (identifiées à l'aide d'un anticorps dirigé contre la choline acétyltransférase), nous avons mesuré la distance qui les séparait de la lame basale externe des vaisseaux jusqu'à un maximum de 3 μm . Il s'avère que la distribution périvasculaire des varicosités contenant de la choline acétyltransférase n'est pas aléatoire, mais que la majorité d'entre elles se retrouve dans un périmètre de 1 μm , et plus particulièrement à une très faible distance ($\leq 0,25 \mu\text{m}$) de la paroi des vaisseaux. Un enrichissement notable des fibres périvasculaires cholinergiques apparaît donc à proximité immédiate des microvaisseaux intracorticaux.

Cibles cellulaires des terminaisons cholinergiques périvasculaires : implications fonctionnelles

Parmi les terminaisons présentes dans le voisinage immédiat des microvaisseaux, plus de 90 % étaient séparées de la lame basale vasculaire par un mince feuillet glial (figure 5), alors qu'un très faible pourcentage (< 3 %) semblait y être directement apposé. Ces données morphologiques font envisager une action de l'acétylcholine sur la couche musculaire artériolaire ou sur l'endothélium des capillaires cérébraux qui s'exercerait indirectement, par l'intermédiaire de cellules gliales périvasculaires. Ces dernières possèdent d'ailleurs des récepteurs de type muscarinique [31]. De plus, elles sont reliées par des jonctions lacunaires [32] qui leur confèrent une organisation quasi syncytiale et les rendent susceptibles de jouer un rôle charnière dans l'homéostasie du microenvironnement périvasculaire, y compris dans le contrôle du débit sanguin cérébral local et de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique. Il a été démontré récemment que les astrocytes cérébraux produisent du NO [6], agent dilatateur qui aurait une grande importance dans l'augmentation du débit sanguin cortical provoquée par la stimulation des neurones cholinergiques du télencéphale basal [33].

Les capillaires cérébraux semblent donc constituer une cible importante des terminaisons cholinergiques vasculaires, mais cela pourrait ne traduire que la plus grande richesse du parenchyme cérébral en capillaires. On peut envisager alors que l'action de l'acétylcholine s'exerce principalement sur l'endothélium cérébral. Celui-ci possède des récepteurs cholinergiques muscariniques [34], et probablement nicotiques, comme l'ont montré des expériences *in vitro* de radiolisation avec diverses molécules pharmacologiques analogues de l'acétylcholine. Le rôle d'une innervation cholinergique endothéliale reste cependant à définir. Une fonction vasomotrice est possible, par l'intermédiaire des péricytes, ou directement par des filaments contractiles d'actine et de myosine [35] au niveau endothélial. On ne peut exclure que l'action de l'acétylcholine sur l'endothélium s'exerce seulement sur les propriétés de perméabilité et les mécanismes de transport spécifiques qui y sont associés. Quant à l'innervation des microartérioles par des terminaisons cholinergiques, même si ces dernières sont ici moins fréquentes, elle s'accorde bien avec un rôle vasomoteur de l'acétylcholine au niveau cortical.

Une autre donnée morphologique importante concernant les terminaisons cholinergiques périvasculaires est l'absence de jonction spécialisée (synapse, *punctum adherens*, jonction lacunaire) au niveau des appositions avec les astrocytes, les cellules musculaires lisses ou endothéliales. Cela suggère, comme pour les innervations extracérébrales, que le mode d'action de l'acétylcholine sur la microcirculation intracorticale se fait par un mécanisme de communication non jonctionnel et, éventuellement, par l'intermédiaire de la glie périvasculaire (figure 3). D'autres études en microscopie électronique, portant aussi bien sur les systèmes aminergiques que peptidergiques, ont également indiqué que les relations neurovasculaires étaient de type non jonctionnel. Un tel mode d'action paracrine est compatible avec la libération à distance de l'acétylcholine, et avec son action sur des récepteurs muscariniques à haute affinité, localisés au moins en partie sur les cel-

lules gliales, musculaires et/ou endothéliales.

Origine de l'innervation cholinergique vasculaire du parenchyme cortical

Chez les mammifères, plus de 75 % de l'innervation cholinergique corticale est issue de neurones localisés au niveau du télencéphale basal. Cependant, chez le rat, il a été montré que le cortex lui-même contenait des neurones immunoréactifs à la choline acétyltransférase [28], ou qui expriment le gène de la choline acétyltransférase (neurones corticaux intrinsèques) [36]. Ainsi, dans cette espèce, l'innervation cholinergique vasculaire corticale a deux origines potentielles, l'une extrinsèque, et l'autre intrinsèque au cortex. Alors que certaines données physiologiques et des expériences de traçage axonal antérograde suggèrent une origine dans le télencéphale basal, d'autres études biochimiques et physiologiques favorisent plutôt l'hypothèse d'une origine intracorticale. D'autres molécules contenues sélectivement dans les neurones cholinergiques pourraient également induire des effets vasomoteurs. Ainsi, le VIP, qui a un fort pouvoir vasodilatateur *in vivo*, est partiellement localisé dans les neurones cholinergiques corticaux ainsi que dans certaines fibres cholinergiques innervant les artères extracérébrales.

En conclusion, une caractéristique singulière de la circulation cérébrale réside au niveau de la circulation intracorticale où les terminaisons cholinergiques périvasculaires sont enrichies à proximité immédiate des vaisseaux et s'apposent préférentiellement, et de façon non jonctionnelle, à la glie périvasculaire. De par leur rôle dans divers mécanismes de régulation de l'homéostasie du système nerveux central [37], les astrocytes apparaissent comme une cible privilégiée d'un contrôle neurogène du débit sanguin local du tissu cérébral. C'est cet ensemble qu'il faut considérer pour comprendre les processus tels que le vieillissement ou les maladies dégénératives du cerveau ■

TIRÉS A PART

E. Hamel.

Summary

Cholinergic innervation of the vascular wall

The wall of blood vessels involved in both peripheral and extracerebral circulations is innervated by parasympathetic cholinergic fibers. These fibers induce an endothelium-dependent relaxation which involves synthesis and release by endothelial cells of nitric oxide (NO), a diffusible agent acting as a muscular relaxant. Nerves capable of NO synthesis are present on extracerebral arteries and seem to release NO *via* a nicotinic-mediated pre-synaptic stimulation. In the cerebral cortex, intraparenchymal microvessels are in intimate relationship with cholinergic nerve terminals that are either intrinsic or that originate from the basal forebrain. This neurovascular apposition includes an intervening glial leaflet suggesting that astrocytes are involved in the regulatory mechanisms by which the brain controls its blood supply and the blood brain barrier. Thus, a neuronal-glial-vascular signalling mechanism is probably involved in the regulation of cortical microcirculation.

Remerciements

Le Laboratoire de recherches cérébrovasculaires bénéficie du soutien financier du Conseil de recherches médicales (CRM) du Canada et de la fondation des maladies du cœur du Québec (E. Hamel). Alain Chédotal est étudiant doctoral à l'Unité INSERM 106 à Paris et a effectué un stage professionnel à Montréal. Les auteurs remercient les Dr B.K. Hartman et C. Cozzari pour leur don de l'anticorps anti-choline acétyltransférase, et tout particulièrement le Dr Pierre Lacombe (CNRS UA 641 Université Paris VII) pour son aide appréciable dans la révision de ce manuscrit. Nous remercions également Linda Michel pour son excellent travail de secrétariat.