

# Les conditions métaboliques nécessaires à la survie fonctionnelle du tissu nerveux in vitro

Autor(en): **Dolivo, M.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie Suisse des Sciences Medicales = Bollettino dell' Accademia Svizzera delle Scienze Mediche**

Band (Jahr): **18 (1962)**

PDF erstellt am: **10.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-309125>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Institut de Pharmacologie de l'Université de Lausanne

## **Les conditions métaboliques nécessaires à la survie fonctionnelle du tissu nerveux in vitro<sup>1</sup>**

*Par M. Dolivo*

L'étude systématique des conditions métaboliques nécessaires à la survie fonctionnelle in vitro du ganglion supérieur cervical isolé du rat a été entreprise pour savoir si ce tissu pourrait servir de modèle permettant de mieux comprendre les relations entre métabolisme et fonction dans le système nerveux central. La nécessité d'une telle étude est démontrée par deux constatations, révélatrices de notre ignorance: L'anatomie pathologique ne révèle pas de lésion organique dans plusieurs maladies mentales, et force est d'admettre que beaucoup sont des maladies métaboliques dont la nature reste inconnue. D'autre part, chaque semaine apporte un nouveau médicament psychotrope que le médecin dispense, avant même que le mode et le lieu d'action de la substance aient été définis.

Beaucoup de travaux traitant du métabolisme du tissu nerveux ont été publiés. Mais ces études, la plupart purement biochimiques, jugent de l'état fonctionnel du tissu cérébral homogénéisé, ou découpé en tranches, par le contrôle de sa consommation d'oxygène et non par celui de ses propriétés physiologiques de conduction et de transmission de l'influx nerveux.

Certaines conditions doivent être remplies pour pouvoir mesurer des corrélations valables entre métabolisme et état fonctionnel du tissu nerveux:

Il faut que le tissu puisse être stimulé de façon quantitative et ne soit pas le siège d'une activité spontanée incontrôlable. La réponse à la stimulation doit pouvoir être mesurée, de même que les variations du métabolisme. De telles conditions ne peuvent être réalisées qu'in vitro. Ainsi que *Larrabee* et *Bronk* [1, 2] l'ont montré, le ganglion sympathique

---

<sup>1</sup> Ce travail bénéficie de l'aide du Fonds national suisse pour la recherche scientifique (crédit No. 1446).

cervical convient bien à ce genre de recherche, car il survit *in vitro*, en milieu de Krebs stérile, durant 24–48 heures. Il peut être stimulé et la réponse électrique facilement enregistrée sur le nerf post-ganglionnaire. La stimulation peut être occasionnelle, une fois par heure, si le tissu doit rester «au repos», ou de 6 par seconde (maximum 15 par seconde) si l'on veut étudier les réactions du tissu en activité. Si ce tissu peut être considéré comme un modèle métabolique du système nerveux central, il vaudra la peine de poursuivre des études sur les lésions morphologiques, histochimiques ou enzymatiques survenant, lorsque le ganglion isolé perd ses qualités fonctionnelles sous l'effet d'agressions métaboliques, chimiques ou physiques. Le mode d'action de certains médicaments psychotropes pourra être précisé, de même que le mécanisme des lésions, dues au manque de glucose, au froid, aux modifications du pH ou aux radiations ionisantes par exemple. Une partie de ces recherches sont déjà en cours, confrontant l'état fonctionnel du tissu à son activité enzymatique [3, 4, 5].

Une des techniques les plus simples cependant pour savoir si les conditions métaboliques dans lesquelles le tissu nerveux est placé *in vitro* lui permettent d'assurer ses fonctions physiologiques, consiste à mesurer la durée de sa survie fonctionnelle et de la comparer à celle assurée par le glucose, substrat qui peut servir de référence. Les résultats obtenus par cette technique extrêmement simple sont résumés ci-dessous :

Seule, la solution de Krebs bicarbonatée peut assurer la survie du tissu nerveux *in vitro* durant 24–48 heures, les autres solutions classiques, Tyrode, Locke, Ringer, ne le permettent pas.

La quantité minimum de glucose requise est de 25 mg par 100 ml de solution, lorsque le tissu est au repos, et elle est de 200 mg par 100 ml, si la réponse à une stimulation répétitive (6 par seconde) doit être assurée pendant 24 heures. En présence de 100 mg de glucose par ml, la stimulation à 6 par seconde ne peut être prolongée que pendant 22 heures.

Lorsque le ganglion sympathique cervical isolé est privé du glucose, il perd ses propriétés fonctionnelles en quelque 2 heures. Cette perte est irréversible, bien que le tissu continue à consommer de l'oxygène [2], et même, si par la suite on remet du glucose dans la solution. Cependant, si le tissu privé de glucose est refroidi à 6°, il ne souffre pas de ce manque de substrat, même s'il se prolonge pendant plus de 15 heures : Une fonction normale est récupérée dès que le ganglion est réchauffé en présence de glucose. La température optimum du refroidissement est entre 5° et 6° ; si le tissu est conservé à une température inférieure, la récupération fonctionnelle est incomplète ou même impossible ; si la température est plus élevée, le ralentissement du métabolisme n'est pas suffisant.

La perte de la fonction survient beaucoup plus rapidement, lorsque le tissu a été stimulé avant d'être privé de glucose, ou lorsque cette privation survient après une longue durée de survie (16-24 heures) *in vitro*. Tout se passe comme si la stimulation de longue durée, ou une survie prolongée *in vitro*, épuisait le substrat endogène utilisé pour maintenir les qualités fonctionnelles durant les 2 heures qui précèdent leur perte irréversible.

Parmi les hexoses, seul le mannose peut remplacer le glucose dans toutes les conditions et aux mêmes concentrations. Le galactose n'est pas utilisé; le fructose l'est, mais à des concentrations beaucoup plus élevées: il ne semble pénétrer que par diffusion, comme dans le tissu cérébral *in vivo*. L'insuline ne modifie pas ces résultats, n'agissant donc pas plus au niveau du ganglion sympathique cervical que sur les neurones du système nerveux central [6].

Les pentoses ne sont pas utilisés, ni par les neurones du ganglion sympathique cervical, ni par le tissu cérébral [7].

L'absence d'oxygène ou l'intoxication par un inhibiteur métabolique (iodo-acétate, fluorure de sodium) conduit à une perte irréversible des qualités fonctionnelles du tissu. Pour assurer la fonction du tissu nerveux, il est donc nécessaire de synthétiser plus de molécules à haute énergie que celles fournies par la seule glycolyse.

En présence de lactate et de pyruvate, les propriétés physiologiques du tissu ne s'altèrent pas plus rapidement qu'en présence de glucose. Les neurones du ganglion sympathique cervical sont donc capables d'utiliser ces trioses pour assurer leur dépense énergétique. Il est intéressant de noter, qu'au niveau cérébral, le lactate et le pyruvate peuvent être utilisés par des tranches de cortex, des homogénats de tissu cérébral ou des nerfs isolés [8], mais qu'*in vivo* ils ne le sont pas. Ceci est dû à ce que ces deux substances ne passent pas la barrière hémato-cérébrale [9].

De nombreux travaux biochimiques ont montré que le succinate est capable d'assurer la respiration du cortex cérébral placé sous forme d'homogénat ou de tranche mince dans un appareil de *Warburg* [10]. Or, en l'absence de glucose, ni le succinate, ni le malate, ni l' $\alpha$ -cétoglutarate à la concentration de 100 mg par 100 ml ne peuvent assurer une survie fonctionnelle des neurones du ganglion sympathique cervical isolé. Ceux-ci perdent leurs propriétés physiologiques en un temps qui n'est guère plus long qu'en l'absence de glucose. Cependant, à la concentration de 500 mg dans 100 ml de solution, l' $\alpha$ -cétoglutarate permet une survie fonctionnelle du tissu de 8 heures, ce que le succinate, le malate ou le fumarate ne font pas.

Le temps de survie fonctionnelle, mesuré en présence d' $\alpha$ -cétoglutarate,

peut être prolongé par l'addition à celui-ci d'un des autres acides du cycle tricarboxylique: par exemple, l'addition de succinate double ce temps.

On sait que les homogénats de cerveau, ou les tranches de cortex, sont capables d'utiliser des acides aminés [11, 12]. In vivo cependant, ceux-ci ne sont métabolisés que s'ils parviennent à passer la barrière hémato-cérébrale [13, 14]. A ce point de vue encore, le ganglion sympathique cervical se comporte comme le tissu cérébral: les acides aminés, ajoutés à la solution après avoir enlevé le glucose, ne permettent pas aux cellules de survivre. Seule la glutamine assure pendant une douzaine d'heures le maintien des qualités fonctionnelles du tissu: cette substance, grâce à sa configuration chimique, pénètre facilement à travers la membrane des neurones. Cependant les recherches concernant les possibilités d'utilisation d'acides aminés par le ganglion cervical ont fait apparaître deux faits nouveaux: Lorsque de l'aspartate ou de l'aniline sont ajoutés à la solution simultanément à de l' $\alpha$ -cétoglutarate, les neurones sont capables de procéder à une transamination faisant apparaître de l'oxalacétate ou du pyruvate qui, eux, assurent la survie du tissu en l'absence de glucose. D'autre part, le remplacement du glucose par du glutamate additionné de succinate, substrats qui ne permettent pas de transamination, permet également au tissu de survivre un certain temps sans glucose. Tout se passe comme si l'utilisation du succinate au niveau de la membrane permettait au glutamate de pénétrer dans la cellule.

Le ganglion sympathique cervical n'est pas capable d'utiliser des acides gras tels que propionate, butyrate ou acétate pour faire face à ses besoins énergétiques. En ceci encore, le ganglion sympathique se comporte comme le tissu cérébral étudié in vivo ou in vitro.

Au point de vue métabolique, les neurones du ganglion sympathique cervical isolés du rat se comportent donc d'une façon très semblable au tissu cérébral. C'est la raison pour laquelle nous avons commencé à l'utiliser comme modèle pour une étude plus approfondie sur les relations entre activité et métabolisme dans le tissu nerveux.

### *Résumé*

La survie fonctionnelle du ganglion sympathique cervical isolé du rat a été étudiée systématiquement en présence de différents substrats. Le but de cette recherche est de savoir si ce tissu peut servir de modèle permettant d'établir des relations entre activité et métabolisme du système nerveux central. Les résultats obtenus montrent qu'il y a une concordance évidente entre les possibilités d'utilisation des glucides, des acides aminés

et des acides gras par le ganglion sympathique cervical in vitro et par le tissu cérébral in vivo.

### *Zusammenfassung*

Das funktionelle Überleben des isolierten sympathischen Halsganglions der Ratte wurde in Gegenwart von verschiedenen Substraten systematisch geprüft. Das Ziel dieser Untersuchung ist es, herauszufinden, ob dieses Gewebe als Modell dienen kann, das erlaubt, Beziehungen zwischen Aktivität und Stoffwechsel des Zentralnervensystems festzustellen. Die erhaltenen Resultate zeigen, daß eine auffallende Übereinstimmung besteht zwischen den Nutzungsmöglichkeiten der Kohlehydrate, der Aminosäuren und der Fettsäuren durch das sympathische Halsganglion in vitro und durch das Hirngewebe in vivo.

### *Riassunto*

La sopravvivenza funzionale del ganglio simpatico cervicale del topo, isolato, è stata studiata sistematicamente in presenza di substrati diversi. Lo scopo di questo studio è di sapere se questo tessuto può essere usato quale modello che permetta di stabilire le relazioni tra attività e metabolismo del sistema nervoso centrale. I risultati ottenuti mostrano che esiste una corrispondenza evidente tra le possibilità di utilizzazione dei glucidi, degli aminoacidi e degli acidi grassi da parte del ganglio simpatico cervicale in vitro e del tessuto cerebrale in vivo.

### *Summary*

The functional survival of isolated cervical sympathetic ganglia of the rat has been studied systematically in the presence of different substrates. The object of this research is to discover whether this tissue can serve as a model to establish the relations between activity and metabolism of the central nervous system. The results obtained show that there is an evident agreement between the possibilities of utilisation of glucides, amino acids and fatty acids by the cervical sympathetic ganglion in vitro and by the cerebral tissue in vivo.

1. *Larrabee M.G. et Bronk D.W.*: Metabolic Requirements of Sympathetic Neurones. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. 17, 245-266 (1952).
2. *Larrabee M.G., Horowicz P., Stekiel W. et Dolivo M.*: Metabolism in Relation to Function in Mammalian Sympathetic Ganglia. In: Metabolism of the nervous System. Pergamon Press 208-220 (1957) Richter edit.
3. *Roch-Ramel F.*: Thèse à paraître en 1962.

4. *Dolivo M. et de Perrot E.*: L'activité de quelques enzymes dans le tissu nerveux privé de glucose. *Helv. physiol. pharmacol. Acta* **19**, C 65 (1961).
5. *Dolivo M., de Kalbermatten J.-P. et Roch-Ramel F.*: L'hypersensibilité de dénervation étudiée in vitro. Sous presse: à paraître dans *J. Physiol. (Paris)* (1962).
6. *Levine R. et Goldstein M.S.*: Mechanism of hormone action. On the mechanism of action of insulin in *Recent Progr. Hormone. Research* **11**, 343-380 (1955).
7. *Quastel J.-H. et Weatley A.H.H.*: Oxydations by the brain. *Biochem J.* **26**, 725-743 (1932).
8. *Carpenter F.G.*: Substrates supporting activity in immature nerve fibers. *Amer. J. Physiol.* **157**, 813-816 (1959).
9. *Kety S.S.*: Blood flow and metabolism of the brain in health and disease. In: *Neurochemistry* 294-310 (1955). Edit.: *Elliott K. A. C., Page J. H. and Quastel J. H.* Ch. C. Thomas publisher.
10. *Elliott K. A. C.*: Brain tissue respiration and glycolysis. In: *Neurochemistry* 53-93 (1955). Edit.: *Elliott K. A. C., Page J. H. and Quastel J. H.* Ch. C. Thomas publisher.
11. *Edelbacher S. et Wiss W.O.*: Zur Kenntnis des Abbaues der Aminosäuren im tierischen Organismus. 3. Über den oxydativen Abbau der Aminosäuren im Gehirn. *Helv. chim. Acta* **27**, 1060-1073 (1944).
12. *Kuttner R., Sims J. A. et Godon M. W.*: The uptake of a metabolically inert amino acid by brain and other organs. *J. Neurochem.* **6**, 311-317 (1961).
13. *Lajtha A., Berl S. et Waelsch H.*: Amino acid and protein metabolism of the brain. 4. The metabolism of glutamic acid. *J. Neurochem.* **3**, 322-332 (1959).
14. *Sporn M. B., Dingman W. et Defalco A.*: A method for studying metabolic pathways in the brain of the intact Animal. *J. Neurochem.* **4**, 141-147 (1959).