

Par Laboratorio, de Histoquímica. Institute Cajal, Madrid
(Espagne)

Étude Histochimique de L'Activité Aspartate Amino-Transférase dans la Moëlle, le Bulbe et les Noyaux Cérébelleux Centraux de Quelques Vertébrés

Par

Luis Miguel Garcia-Segura, Ricardo Martinez-Rodriguez et
Adolfo Toledano

Avec 10 Figures

(Recule 22e Janvier 1976)

Résumé

On fait des recherches sur l'activité aspartate amino-transférase (AAT) dans la moëlle, le bulbe et les noyaux cérébelleux centraux de la souris blanche, du poulet, *Lacerta lepida* et *Bufo calamitas*.

On démontre que l'activité AAT se présente en beaucoup de localisations, qui sont principalement:

1. Dans les fibres nerveuses
2. Dans la membrane cytoplasmatique et dans la membrane nucléaire des neurones.
3. Dans tout le périaryon des neurones, et
4. Dans les mitochondries des neurones et des cellules des plexus choroidiens.

Les résultats trouvés appuient l'idée de qu'il existe plus d'un pool d'acide glutamique par rapport à l'AAT. On suggère que le rôle que l'AAT joue est différent dans chacune des localisations décrites, pouvant avoir rapport à des phénomènes de transport à niveau de la membrane, à des fonctions énergétiques dans les mitochondries et à des fonctions de transmission de l'impulse nerveuse à niveau des synapses.

On fait remarquer, finalement, l'intérêt que peuvent avoir les études enzymatiques à l'heure d'établir des homologues entre des structures semblables du système nerveux de plusieurs animaux.

Resumen

Se investiga la actividad aspartato amino transferasa (AAT) en la médula, rombencéfalo y núcleos cerebelosos centrales de la rata, pollo, *Lacerta lepida* y *Bufo calamitas*.

Se demuestra que la actividad AAT se presenta en muchas localizaciones, que principalmente son:

1. En las fibras nerviosas
2. En la membrana citoplasmática y en la membrana nuclear de las neuronas
3. En todo el citoplasma, y
4. En las mitocondrias de las neuronas y de las células de los plexos coroideos.

Los resultados encontrados apoyan la idea de que existe más de un pool de ácido glutámico en relación con la AAT. Se sugiere que la función que desempeña la AAT es distinta en cada una de las localizaciones descritas, pudiendo estar relacionada con fenómenos de transporte a nivel de la membrana, con funciones energéticas en las mitocondrias y con funciones de transmisión del impulso nervioso a nivel de las sinapsis.

Se destaca, por ultimo, el interes que queden tener los estudios enzimáticos a la hora de establecer homologías entre estructuras semejantes del sistema nervioso de varios animales.

Summary

The aspartate aminotransferase activity (AAT) is reserched into the spinal cord, the medulla oblongata and the cerebellar nuclei of the rat, chicken, *Lacerta lepida* and *Bufo calamitas*.

It's proved that the AAT activity shows in many locations, that are mainly:

1. In the nerve fibers
2. In the cytoplasmic membrane, and in the nuclear membrane of the neurons
3. In all neuronal cytoplasm, and
4. In the mitochondria of neurons and choroid plexus cells.

The results base the idea that there's more than one pool of glutamic acid in relation to that AAT. It's suggested that the role that AAT plays is different in everyone of the described locations, and may be it's connected with transport phenomenons in the membrane, with energetic function on the mitochondria and with functions of the nerve impulse transmission in the synapsis.

We remark, finally, the interest that the enzymatical works can have the time comming to establish homologies among similar structures of several animal's nervous system.

Introduction

L'acide glutamique est très abondant dans le système nerveux des vertébrés. On lui a assigné à cet acide amine plusieurs fonctions dans le système nerveux. On a supposé qu'il pouvait être impliqué dans l'intelligence (ZIMMERMAN et al. 1946, THOMPSON 1967). On a aussi suggéré que l'acide glutamique puit jouer un rôle dans le procès de la mémoire (MORGAN 1965, HARREVELD et FIFKOVA 1974). À présent c'est assez évident que l'acide glutamique joue un rôle comme neurotransmetteur (JOHNSON 1972) aussi bien dans le système nerveux central des vertébrés que dans celui des invertébrés.

L'acide aspartique peut être une source de glutamique dans le cervau (BERTL et al. 1970a) et le glutamique à son tour peut être source d'aspartique à traves le cycle de KREBS (SHANK et APRISON 1970). L'acide aspartique et le glutamique peuvent se rattacher métaboliquement au moyen d'une réaction de transamination catalysée par l'enzyme aspartate amino-transférase (AAT):

α -cetoglutarique + L-aspartate $\xrightleftharpoons{\text{AAT}}$ L-glutamique + ac. oxalacetique

L'AAT joue un rôle important dans le métabolisme cérébral moyennant cette réaction.

L'AAT a été étudiée dans le système nerveux des mammifères et dans le cervelet du poulet (MARTINEZ-RODRIGUEZ 1973, 1974; MARTINEZ-RODRIGUEZ et al. 1973 1974). Ces travaux ont démontré l'importance de l'activité AAT et sa présence en plusieurs endroits du système nerveux. C'est surtout au cervelet qu l'on a observé une localisation caractéristique de l'activité AAT dans les fibres qui entourent les cellules de PURKINJE.

Dans ce travail on réalise un étude histochimique à la fin de savoir où se présente l'activité AAT dans la moëlle épinière, dans la moëlle allongée et dans les noyaux cérébelleux centraux de certaines espèces de vertébrés, comme base préalable nécessaire pour essayer de mieux comprendre la fonction de cette enzyme et à la fin de vérifier les possibles différences ou similitudes entre le système nerveux de ces animaux par rapport à l'activité AAT.

Materiel et Methodes

Dans ce travail on a utilisé plusieurs exemplaires de souris blanche, *Gallus domesticus*, *Lacerta lepida* et *Bufo calamitas*. Les animaux ont été perfondus avec la solution suivante:

Tampon cacodilate 0,08 M; pH = 7,2	195 cm ³
Formol à 37%	5 cm ³
CaCl ₂	100 mg

Le temps de perfusion a toujours été de 10 min, en utilisant la quantité de liquide de perfusion qui fût nécessaire dans chaque cas pour maintenir un pas constant de fixateur pendant ce temps. Après la perfusion on a procédé à l'extraction de l'encéphale et de la moëlle. Les pièces divisés en morceaux de pas plus de 5 mm ont été postfixées dans le suivante mélange:

Tampon cacodilate 0,08 M; pH = 7,2	90 cm ³
Formol à 37%	10 cm ³

Le temps de postfixation a été d'une à 4 h. Après la postfixation on a effectué des coupes avec le microtome à congélation. Les sections d'environ 10 μ m ont été lavées pendant 45 min en tampon cacodilate 0,2 M à 4°C. Ensuite elles ont été incubées pendant 30 min à 37°C dans le suivant milieu:

Tampon cacodilate 0,08 M; pH = 7,2	10 cm ³	Imidazole	68 mg
Acide- α -cetoglutarique	12 mg	Pb(NO ₃) ₂	40 mg
Acide D, L-Aspartique	48 mg	(pH ajustée à 7,2 avec Imidazole)	

Après l'incubation, les sections ont été lavées en tampon cacodilate 0,2 M pendant 30 min et après avec NaCl au 0,9% pendant 10 min. Ensuite les sections ont été soumises à l'action d'une solution au 2% de (NH₄)₂S en NaCl au 0,9%. Après avoir resté pendant quelques seconds dans cette solution les coupes ont été passées à NaCl au 0,9%, après dans l'eau, dans de l'alcool du 50% et enfin elles ont été montées et ont été déshydratées avec de l'alcool de 96% et 99%. Après elles ont été avec du xylène et ont été couverts avec du baume et un couvre-objets.

Abréviations Utilisées

AAT = Aspartate amino-transférase	NSR = Neurones de la substance reticulée
GDH = Glutamo deshydrogénase	FLM = Fasciculus longitudinalis medialis
GABA = Acide γ -aminobutyrique	NCC = Noyaux cérébelleux centraux
GAD = Glutamo decarboxylase	

Results

A) Souris blanche

1. *Moëlle épinière*: Dans la moëlle épinière on n'a pas observé la presence de fibres avec de l'activité AAT dans la substance blanche. Dans la substance grise, par contre, les fibres qui ont montré de l'activité AAT ont été très nombreuses. Les axons des neurones des noyaux motrices ont montré de l'activité enzymatique. Ces neurones ont présenté aussi de l'activité dans le péricaryon fondamentalement au niveau de la membrane cytoplasmique et de la membrane nucléaire. Les dendrites des neurones de ces noyaux ont montré aussi positivité (Figs. 1, 2). Les neurones de la corne dorsale ont présenté aussi activité enzymatique, étant celle-ci plus grande, en général, dans les neurones de plus grande taille. Quelques neurones, généralement grands, montraient positivité intense dans tout le cytoplasme, d'autres, en general de petite ou moyenne taille, ont montré positivité uniquement dans la membrane nucléaire et cytoplasmatique et dans le cylindre-axe. D'autres neurones de la corne dorsale n'ont pas présenté activité,

en observant seulement des fibres positives qui finissaient autour d'eux. On a observé de nombreuses fibres positives qui finissaient sur les neurones de la corne dorsale et médiale.



Fig. 1. Moëlle épinière de la souris blanche. On observe la présence de 2 neurones moteurs avec de l'activité enzymatique. (1134×)

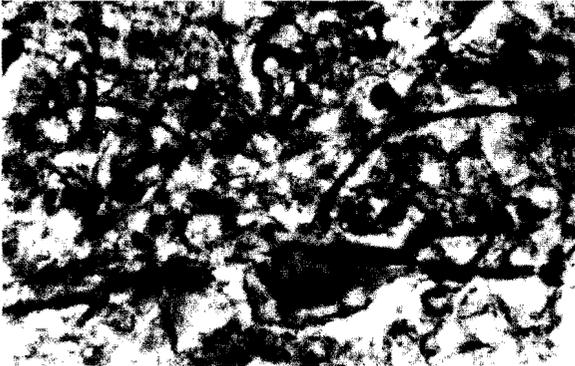


Fig. 2. Neurone moteur de la moëlle épinière de la souris blanche. On observe de l'activité AAT dans la membrane cytoplasmique et nucléaire, aussi bien que dans les prolongations. (1386×)

2. *Bulbe*: Les neurones de la substance réticulée du bulbe (neurones de la substance réticulée: NSR) ont montré activité dans la membrane cytoplasmique et très spécialement dans la membrane nucléaire. Autour de ces neurones on a observé un plexus péricellulaire de fibrilles, qui correspond à celui qui a été décrit par CAJAL (1909) (Figs. 10, 11), et qui présentait une activité enzymatique intense. Les dendrites des NSR de la souris blanche ont montré aussi de l'activité AAT, avec les mêmes caractéristiques. Le cylindre-axe de ces neurones a présenté activité dans tout son parcours du cône d'origine jusqu'à qu'il s'intégrait dans le fasciculus longitudinalis medialis (FLM). Bien des fibres du FLM se sont montrées positives. Les NSR sont très semblables aux neurones motrices de la moëlle épinière quant à la localisation de l'activité enzymatique. Ils ont été aussi semblables les neurones du noyau moteur du facial qui ont montré activité AAT

spécialement intense dans la membrane nucléaire et une activité moins intense dans la membrane cytoplasmique. Tous les neurones ci ont pas montre d'activité. La réaction apparaissait sous forme de pointe dans la membrane.

Dans les neurones du noyau de DEITERS on a observé une activité pratiquement restreinte aux membranes cytoplasmique et nucléaire, cependant on a observé parfois dans le cytoplasme une activité sous forme de granules. Le cylindre-axe et les dendrites des neurones du noyau de DEITERS de la souris blanche ont montré une positivité localisée dans la membrane. Autour des neurones du noyau de DEITERS on a observé de nombreuses fibres positives, beaucoup d'elles vestibulaires. Les fibres vestibulaires primaires ont montré une activité AAT modérée à niveau du ganglion vestibulaire. D'autres neurones qui présentaient une disposition semblable de l'activité enzymatique à celle des neurones du noyau de DEITERS sont les neurones du noyau du noyau de BECHTEREW. On a observé une activité enzymatique dans la membrane nucléaire et cytoplasmique. Aussi bien le péricaryon que les dendrites et le cylindre-axe ont montré activité. Dans le cytoplasme on a observé la présence d'activité sous la forme de granules (probable activité enzymatique mitochondriale) ce qui n'a été observé ni dans les neurones moteurs de la moëlle ni dans les NSR. L'activité sous forme de granules est caractéristique de beaucoup de neurones, en plus de ceux du noyau de BECHTEREW. Ainsi ceux du noyau de l'hypoglosse présentaient activité sous forme de granules dans le cytoplasme mais aussi autour de la membrane nucléaire. On a observé aussi des caractéristiques semblables dans les noyaux de la protubérance: activité AAT intense dans la membrane nucléaire et activité AAT dans le cytoplasme sous forme de granulations. Les neurones du noyau cochléaire ventral ont montré activité dans le péricaryon et dans les prolongations tant dendritiques que cylindre-axiles. L'activité est apparue sous forme de granules dans le cytoplasme et on a observé aussi activité dans la membrane cytoplasmique et spécialement dans la nucléaire qui est très positive. On a observé que les neurones de ce noyau se trouvaient entourés par de nombreuses fibrilles avec activité enzymatique. Ces fibrilles semblaient établir synapsis sur les neurones.

L'activité AAT sous forme de granules dans le cytoplasme n'est pas seulement caractéristique des neurones. En effet: on a pu observer que les cellules des plexus chroïdiens du IV^e ventricule ont montré-aussi activité enzymatique sous forme de granules dans le cytoplasme.

Nous avons donc fait, jusque là, la différence de 2 types de neurones. Tous les 2 présentent activité enzymatique dans les membranes. L'un deux présente cependant activité dans le cytoplasme sous forme de granules et pas l'autre. Au premier type appartiennent entre, autres les neurones du noyau de BECHTEREW et du noyau de l'hypoglosse, les neurones des noyaux du pont, les neurones du noyau de DEITERS et les neurones du noyau cochléaire ventral. Du 2^{ème} type ce sont les neurones de la substance réticulée, les neurones motrices de la moëlle et les neurones du noyau moteur du facial. On peut encore distinguer un 3^{ème} type de neurones: ceux qui ne présentent pas d'activité enzymatique (ou bien

dans ceux qui l'activité est si basse qui ne peut pas être démontrée par les techniques histo-chimiques). On citera entre ces derniers ceux du noyau cochléaire lateral, ceux du complexe olivaire supérieur et inférieur. Dans certains cas, comme il arrive dans quelques neurones de l'olive supérieure, on observe une certaine activité autour de la membrane nucléaire. C'est curieux de remarquer que dans ces noyaux on les neurones sont négatifs il y a une intense activité "de fond" (Fig. 4). Ainsi les noyaux du complexe olivaire ont résulté très évidents parce qu'ils présentaient une nette activité enzymatique de fond, non localisée ni dans les fibres ni dans les cellules ni en aucune autre structure appréciable (Fig. 4).

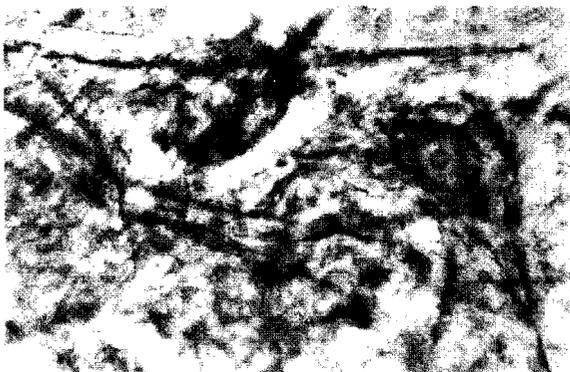


Fig. 3. Noyaux cérébelleux centraux de la souris blanche. On observe de l'activité AAT dans les prolongations. Dans un des neurones on observe d'intense activité AAT autour de la membrane nucléaire. L'autre neurone est atteint par des fibres, avec de l'activité AAT, qui forment un plexus péricellulaire. (1575 \times)

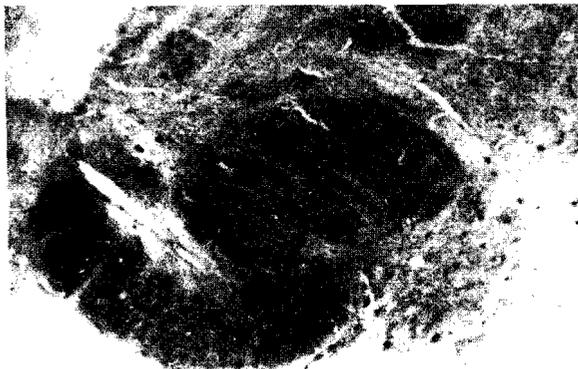


Fig. 4. Noyau de l'olive supérieure. Souris blanche. Le complexe de l'olive supérieure se distingue par son intense activité de fond qui, apparemment, ne se trouve associée à aucune structure. (220 \times)

Un 4^{ème} type de neurones, en ce qui se rapporte à l'activité AAT, pourrait être représenté par les neurones du ganglion vestibulaire et quelques neurones de la corne postérieure de la moëlle. Ces neurones ont montré une activité intense dans le cytoplasme (Fig. 5), quoique quelques neurones aient présenté plus

activité que d'autres. L'activité n'a pas été observée sous forme de granules ni associée à la membrane, mais distribuée uniformément par tout le cytoplasme.

Quant aux fibres nous avons déjà mentionné quelques unes qui présentaient une activité AAT évidente: FLM, fibres vestibulaires, plexus péricellulaires. À celles ci il faut ajouter celles qui vont former le pédoncule cérébelleux moyen, qui à son passage par les noyaux de la protubérance montrent une intense activité enzymatique, et celles du pédoncule cérébelleux inférieur. D'autres fibres, cependant, se sont montrées négatives, comme ce sont les fibres arciformes qui croissent la bulbe.

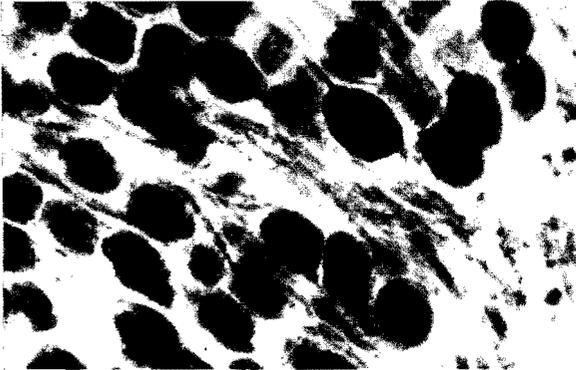


Fig. 5. Des neurones du ganglion vestibulaire de la souris blanche. Ces neurones présentent d'intense activité AAT par tout le cytoplasme. Les fibres vestibulaires sont modérément positives. (840×)

3. *Noyaux cérébelleux centraux (NCC)*: Dans ces noyaux on a observé la présence de multitude de fibres avec une activité enzymatique. Beaucoup de ces fibres entouraient les neurones des NCC, formant un plexus péricellulaire semblable à celui que-l'on a observé dans les neurones du noyau de DEITERS et dans les NSR.

On observa activité dans les neurones des NCC sous forme de granules dans le cytoplasme. Cette activité s'ait montré aussi très intense autour de la membrane nucléaire, dans le cylindre-axe, et dans les dendrites. La membrane cytoplasmique a montré de même activité (Fig. 3). La membrane dans beaucoup de neurones n'a pas présenté une activité enzymatique dans toute son étendue, mais dans des zones très localisées.

Les neurones des NCC appartiennent donc au type I décrit précédemment.

B) Poulet

1. *Moëlle épinière*: Dans le poulet on a observé de l'activité dans le neuropile de la substance grise et dans quelques fibres de la substance blanche. Les grands motoneurones ont montré une activité aussi bien dans le cytoplasme que dans les prolongations. Les caractéristiques de l'activité enzymatique ont été semblables à celles de la souris blanche.

2. *Moëlle allongée*: Comme dans la souris blanche, on a observé dans le poulet 4 types de neurones en ce qui concerne l'activité AAT.

Les noyaux cochléaires angulaire, magnocellulaire et lamellaire ont présenté une activité intense dans tout le cytoplasme. Dans le noyau vestibulaire dorsomédial on a observé une positivité intense dans le cytoplasme de ses neurones. Les neurones de ce noyau sont disposés entre les fibres vestibulaires qui font leur entrée dans la moëlle allongée. Ces fibres ont présenté une faible activité. Un autre noyau vestibulaire, le noyau de DEITERS, a montré des caractéristiques différentes que le tangentiel et le vestibulaire dorsomédial. Dans le noyau de DEITERS on a observé de l'activité dans les fibrilles qui forment le plexus péricellulaire dont nous avons déjà parlé dans la souris blanche (Fig. 6). Comme dans la souris blanche, on a observé aussi ces fibrilles dans les NSR. Ces neurones du poulet ont présenté les mêmes caractéristiques que ceux de la souris blanche en ce qui concerne l'activité AAT. De même l'olive supérieure du poulet a présenté des caractéristiques similaires à l'olive supérieure de la souris blanche, avec une intense activité de fond.

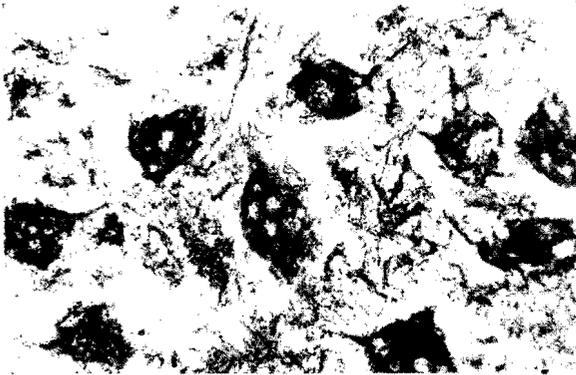


Fig. 6. Des neurones du noyau de DEITERS du poulet. On observe la présence d'un plexus péricellulaire avec de l'activité AAT qui les enveloppe. (880×)

C) *Lacerta lepida*

Moëlle épinière et allongée: Aussi bien dans la moëlle épinière que dans la moëlle allongée on a observé de nombreuses neurones qui présentaient un plexus péricellulaire, avec une intense activité AAT, très manifeste. Ce plexus était spécialement net dans les NSR. Dans beaucoup de cas on a pu observer la présence de fibres avec une intense activité AAT qui atteignaient les neurones de la substance réticulée pour former ce plexus (Figs. 7, 8, 9). Ce plexus péricellulaire a été observé dans les neurones de beaucoup de noyaux, comme le moteur du facial. Les neurones de ce noyau ont présenté de l'activité dans le neuropile. Des fibres de ce neuropile s'intégraient dans les plexus péricellulaires.

Les noyaux angulaire et magnocellulaire de *Lacerta* ont présenté d'identiques caractéristiques par rapport à l'activité AAT que les noyaux angulaire et magnocellulaire de poulet.

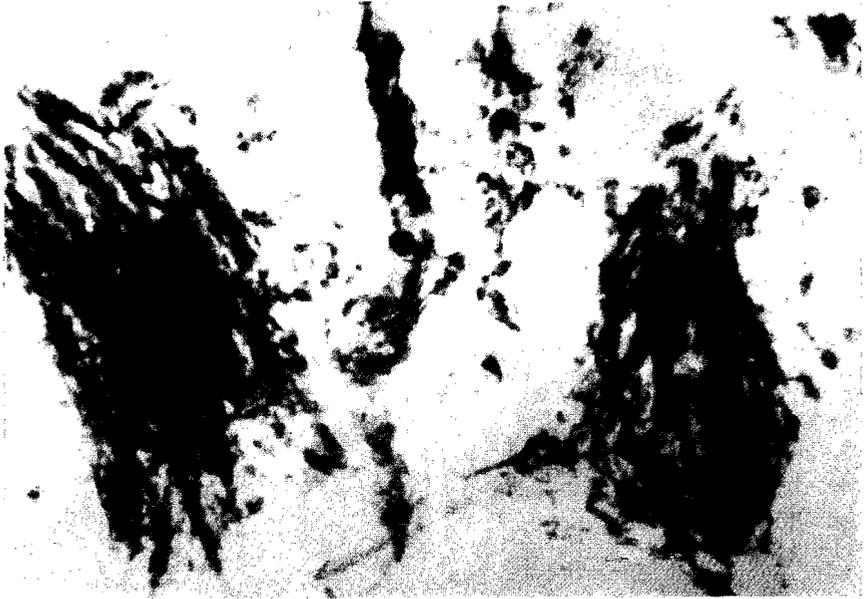


Fig. 7

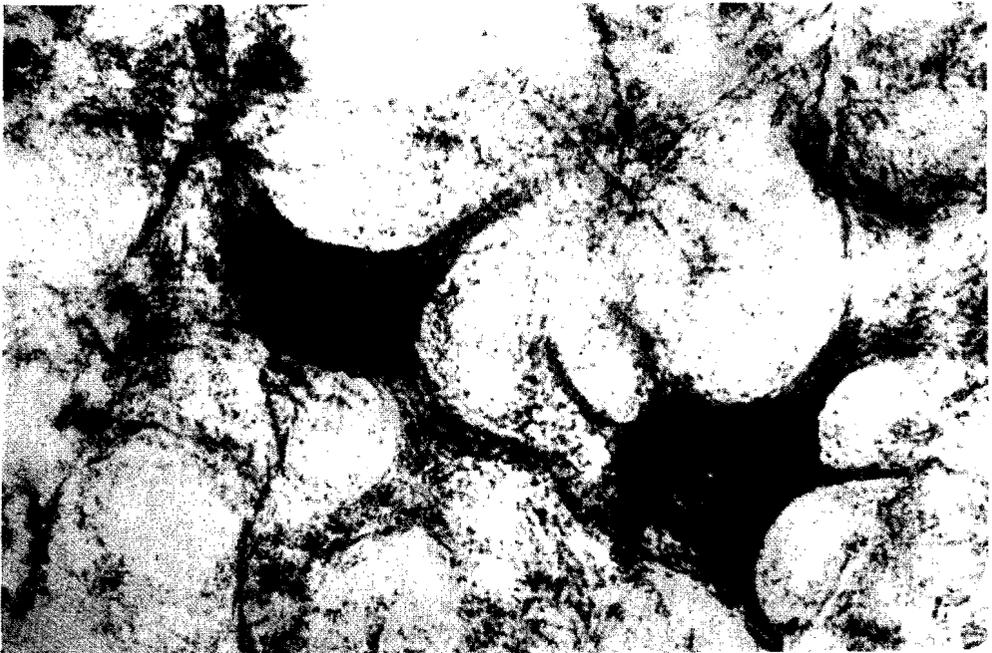


Fig. 8

Fig. 7 et 8. Des neurones de la substance réticulée de la moëlle allongée de la *Lacerta lepida*. On observe la présence de fibres qui enveloppent ces neurones en formant un plexus péricellulaire. (Fig. 7: 3150 \times ; Fig. 8: 3465 \times)

L'olive supérieure a présenté de caractéristiques semblables que l'olive supérieure des mammifères. Les neurones de ce noyau présentaient une positivité très légère dans le cytoplasme.

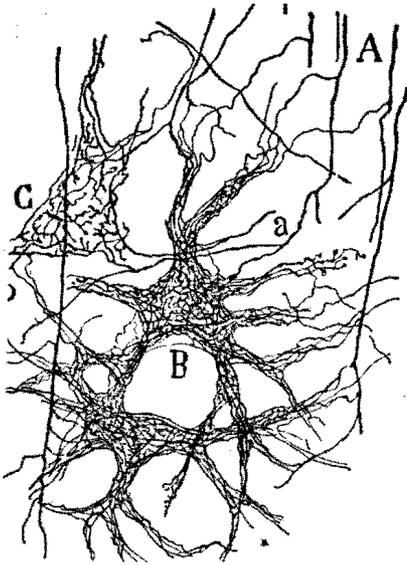


Fig. 9. Arborisations péricellulaires du noyau de DEITERS; chat de vingt jours. Méthode de GOLGI. D'après CAJAL (1909)

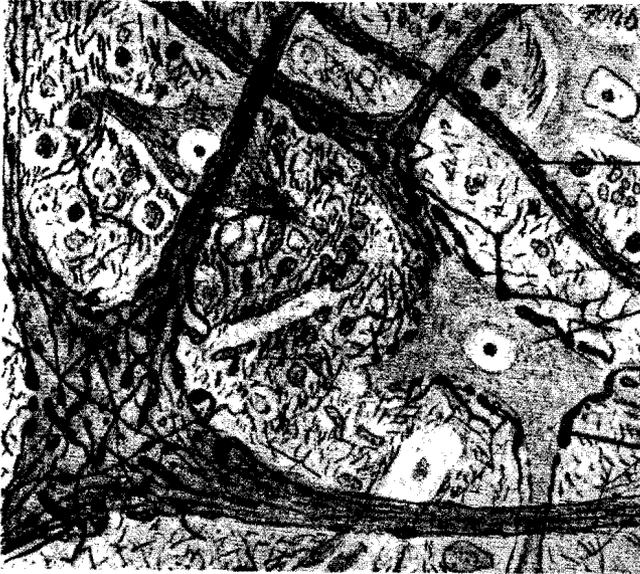


Fig. 10. Plexus nerveux péricellulaires de la substance réticulée grise; bulbe de lapin adulte. Méthode du nitrate d'argent réduit. D'après CAJAL (1909)

Quant aux fibres, on a observé multitude d'elles avec une activité enzymatique. Les fibres vestibulaires présentaient de l'activité en rentrant dans la moëlle allongée. Quelques fibres du FLM présentaient aussi une activité modérée, d'autres par contre étaient négatives.

D) *Bufo calamitas*

Les caractéristiques de l'activité enzymatique AAT sont semblables dans *Bufo* et dans *Lacerta*. Dans *Bufo* on observe de nombreuses neurones entourés d'un plexus péricellulaire comme en *Lacerta*. Ainsi, sur les neurones du noyau moteur du facial on observe la terminaison de nombreuses fibres avec de l'activité enzymatique qui formaient un plexus péricellulaire de fibrilles. D'autres neurones présentaient une activité intense dans tout leur cytoplasme, comme c'est le cas des neurones du noyau acoustique dorsal. Ces neurones présentaient une intense activité AAT dans le cytoplasme et dans les prolongations. Entre les neurones du noyau acoustique dorsal on a observé un neuropile avec activité enzymatique. L'olive supérieure a présenté une activité de fond semblable à celle qu'on a observé dans l'olive supérieure de *Lacerta*.

Quant aux fibres, quelques-unes ont présenté de l'activité AAT et pas d'autres. Ainsi quelques fibres du corps trapézoïde ont montré une activité enzymatique très intense. On a observé la même chose dans le système de fibres arciformes dorsaux. Les fibres du nerf VIII^e ont montré aussi de l'activité enzymatique.

Discussion

La transamination du glutamique pour donner lieu à l'acide α -cétoglutarique peut servir, peut-être, comme une voie pour produire de l'énergie à travers le cycle de KREBS. Dans le sens inverse peut être une voie biosynthétique de glutamique à partir de glucose à travers la voie glycolitique et du cycle de KREBS. Il se pose maintenant la question du possible sens de l'activité AAT dans les localisations décrites dans ce travail, que nous pouvons résumer comme ça :

1. Dans le cytoplasme sous forme de granules
2. Dans tout le cytoplasme
3. Dans les membranes
4. Dans les fibres.

Evidemment il y a plusieurs lieux différents d'action de l'activité AAT. L'activité AAT mitochondriale joue-t-elle le même rôle que l'activité AAT des membranes ? La activité AAT du péricaryon sert-elle aux mêmes buts que l'activité AAT des plexus péricellulaires des fibrilles ? C'est évidemment très possible que l'activité AAT des fibres puisse être associée à la transmission nerveuse, peut-être en réglant la libération de glutamique, ou même la consommation de glutamique à travers la GAD pour produire GABA dans les lieux où cette substance joue le rôle de transmetteur. L'AAT en consommant le glutamique, le substrat de la GAD, diminuerait la formation de GABA.

Quel est le rôle de l'AAT dans la membrane nucléaire, ou son activité est si intense ? Nous avons trouvé des évidences que l'AAT peut être associée à des fonctions spécifiques de la membrane (résultats non publiés). L'hypothèse qu'elle puisse être d'une certaine manière rattachée au transport moléculaire à travers la membrane ou plus probablement au flux ionique est suggestive. C'est intéressant à ce propos de rappeler qu'il existe une libération de glutamique de côté interne de la membrane qui est responsable d'une plus grande perméabilité de la membrane à l'ion sodium (VAN HARREVELD 1959, VAN HARREVELD et FIFKOVA 1970, 1973).

En tout cas ce travail n'apporte pas de preuves substantielles sur la fonction physiologique de l'AAT dans notre matériel, mais il nous montre certains points intéressants: d'abord l'universalité de l'AAT. Cette enzyme se trouve en multitude de noyaux et de fibres et en toutes les espèces étudiées. Un autre aspect important est l'existence de 4 types de neurones différenciables par la location de l'activité AAT et la présence de plusieurs lieux différents dans un même neurone où l'activité AAT se présente. Tout cela suggère que l'activité AAT, du moins dans certaines des zones où elle est localisée (mitochondries, membrane nucléaire), n'intervient pas d'une façon directe dans la transmission synaptique. Une preuve en faveur de cette idée est la présence d'activité AAT en forme granulaire (mitochondriale) dans les cellules des plexus choroïdiens du IV^e ventricule. En d'autres localisations par contre (plexus péricellulaire, fibres, membrane cytoplasmatique), son rôle peut être plus direct. Ceci est d'accord avec le fait que l'acide glutamique présente d'autres rôles, plus de celui de la neurotransmission, dans le système nerveux (BERL et al. 1962, WEIL-MALHERBE 1962, REICHELDT et KVAMME 1967, D'ADAMO et D'ADAMO 1968, CASTON et SINGER 1969, MARKS et al. 1970, BLOMSTRAND et HAMBERGER 1970) et c'est aussi d'accord, en principe, avec les présentes évidences que dans le système nerveux il existe plus d'un pool de glutamique (BERL et al. 1961, 1962, 1966, 1970 a, b; MACHIZAMA et al. 1970, VAN den BERG et al. 1969, VAN den BERG 1970). Cependant on reconnaît l'existence d'un pool petit associé à la GDH et la glutamine synthetase et un grand pool associé aux transaminases (O'NEAL et al. 1966, VAN den BERG et al. 1969, JOHNSON 1972). Ce deuxième pool, d'après nos évidences, devra être à son tour subdivisé, si l'on considère sa localisation topographique. Avec ce pool entre en rapport l'aspartique.

Nos résultats appuient l'idée que dans le système nerveux il y a plus d'un pool de glutamique, mais qu'il y a même plus d'un d'eux rattaché à l'AAT, un de ces pools rattaché à l'AAT peut être en rapport avec les fonctions de transmission et aussi avec d'autres fonctions importantes à niveau de la membrane.

Un point final à souligner est la constance dans la localisation de l'activité AAT en certaines structures qui se trouvent pendant tous les niveaux phylogénétiques étudiés. Ainsi, par exemple, l'activité AAT présente les mêmes caractéristiques dans l'olive supérieur de *Bufo Lacerta*, *Gallus* et dans le complexe olivaire supérieur de la souris blanche; le noyau acustique dorsal de *Bufo* présente de pareilles caractéristiques d'activité AAT que le noyau magnocellulaire et angulaire de *Lacerta*, et ceux-ci, à leur tour, présentent mêmes caractéristiques que les noyaux magnocellulaire angulaire et lamellaire du poulet. Cet aspect de nos résultats est intéressant puisque c'est encore une preuve au moment d'établir des homologies.

References

- BERL, S., D. D. CLARKE and W. J. NICKLAS: Compartmentation of citric acid cycle metabolism in brain: effect of aminooxiacetic acid, ouabain and Ca^{++} on the labelling of glutamate, glutamine, aspartate, and GABA by (1-¹⁴C) acetate, (4-¹⁴C) glutamate, and (4-¹⁴C) aspartate. *J. Neurochem.* **17** (1970a) 999—1007.
- BERL, S., and T. L. FRIGYESI: Regional development of glutamic acid compartmentation in immature brain. *J. Neurochem.* **13** (1966) 293—304.
- BERL, S., A. LAJTHA and H. WAELSCH: Amino acid and protein metabolism. VI. Cerebral compartments of glutamic acid metabolism. *J. Neurochem.* **7** (1961) 186—197.
- BERL, S., W. J. NICKLAS and D. D. CLARKE: Compartmentation of citric acid cycle metabolism in brain: labelling of glutamate, glutamine, aspartate and GABA by several radioactive metabolites. *J. Neurochem.* **17** (1970b) 1009—1015.
- BERL, S., G. TAKAGAKI, D. D. CLARKE and H. WAELSCH: Metabolic compartments in vitro. Ammonia and glutamic acid metabolism in brain and liver. *J. Biol. Chem.* **237** (1962) 2562—2569.
- BLOMSTRAND, C., and A. HAMBERGER: Amino acid incorporation in vitro into protein of neuronal and glial cell-enriched fractions. *J. Neurochem.* **17** (1970) 1187—1195.
- CAJAL, S. R.: *Histologie du système nerveux de l'homme et des vertébrés*. Vol. I. Paris: 1909 Maloine (Édition 1972: C. S. I. C. Madrid).

- CASSTON, J. D., and M. SINGER: Amino acid uptake and incorporation into macromolecules of peripheral nerves. *J. Neurochem.* **16** (1969) 1309—1318.
- D'ADAMO, A. I. Jr., and A. P. D'ADAMO: Acetyl transport mechanisms in the nervous system: The oxoglutarate shunt and fatty acid synthesis in the developing rat brain. *J. Neurochem.* **15** (1968) 315—323.
- JOHNSON, J. L.: Glutamic acid as a synaptic transmitter in the nervous system. A review. *Brain Res.* **37** (1972) 1—19.
- MACHIZAMA, Y., R. BALAZS, and T. MEREL: Incorporation of (¹⁴C) glutamate into glutathione in rat brain. *J. Neurochem.* **17** (1970) 449—453.
- MARKS, N., R. K. DATTA and A. LAJTHA: Distribution of amino acids and of exo- and endo-peptidases along vertebrate and invertebrate neurones. *J. Neurochem.* **17** (1970) 53—63.
- MARTINEZ-RODRIGUEZ, R.: Estudio del consumo de acetil-colina, de acido glutamico, de glutamina y de ácido gamma-aminobutírico en cerebello. *Trab. Inst. Cajal.* **65** (1973) 137—155.
- MARTINEZ-RODRIGUEZ, R.: A histochemical study of some aspects of the metabolism of glutamic acid in the cerebellum of mammals. *Acta Histochem.* **49** (1974) 74—82.
- MARTINEZ-RODRIGUEZ, R., B. FERNÁNDEZ and C. CEVALLOS: Histochemical characteristics of the consumption of glutamic acid through aspartate aminotransferase in nervous tissue. *Ann. Histochem.* **18** (1973) 267—275.
- MARTINEZ-RODRIGUEZ, R., B. FERNÁNDEZ, C. CEVALLOS and M. GONZALEZ: Histochemical location of glutamic dehydrogenase and aspartate aminotransferase in chicken cerebellum. *Brain Res.* **69** (1974) 31—40.
- MORGAN, C. L.: *Physiological psychology*. New York: McGraw Hill, 1965.
- O'NEAL, R. M., and R. E. KOEPPE: Precursors *in vivo* of glutamate, aspartate, and their derivatives of rat brain. *J. Neurochem.* **13** (1966) 835—847.
- REICHELT, K. L., and R. KVAMME: Acetylated and peptide bound glutamate and aspartate in brain. *J. Neurochem.* **14** (1967) 987—995.
- SHANK, R. P., and M. H. APRISON: The metabolism *in vivo* of glycine and serine in eight areas of the rat central nervous system. *J. Neurochem.* **17** (1970) 1461—1475.
- THOMPSON, R. F.: *Foundations of Physiological Psychology*. New York: Harper and Row, 1967.
- VAN DEN BERG, C. J.: Compartmentation of glutamate metabolism in the developing brain: experiment with labelled glucose, acetate, phenylalanine, tyrosine, and proline. *J. Neurochem.* **17** (1970) 973—983.
- VAN DEN BERG, C. J., L. J. KRAYALIC, P. MELA, and H. WAELSCH: Compartmentation of glutamine metabolism in brain. Evidence for the existence of two different tricarboxylic acid cycles in brain. *Biochem. J.* **113** (1969) 281—290.
- VAN HARREVELD, A.: Compounds in brain extracts causing spreading depression of cerebral cortical activity and contraction of crustacean muscle. *J. Neurochem.* **3** (1959) 300—315.
- VAN HARREVELD, A., and E. FIFKOVA: Glutamate release from the retina during spreading depression. *J. Neurobiol.* **2** (1970) 13—29.
- VAN HARREVELD, A., and E. FIFKOVA: Mechanisms involved in spreading depression. *J. Neurobiol.* **4** (1973) 375—387.
- VAN HARREVELD, A., and E. FIFKOVA: Involvement of glutamate in memory formation. *Brain Res.* **81** (1974) 455—467.
- WEIL-MALHERBE, H.: Ammonia metabolism in brain. Dans: ELLIOT, K. A. C., I. H. PAGE and J. C. QUASTEL (Eds.); *Neurochemistry*. Vol. 4 Springfield: Thomas, 1962, 321—330.
- ZIMMERMANN F. T., B. B. BURGEMEISTER and T. J. PUTNAM: Effect of glutamic acid on mental functioning in children and in adolescents. *Arch. Neurol. Psychiat.* **56** (1946) 489—506.

Dr. L. M. GARCIA-SEGURA,
 Instituto Cajal,
 Velazquez, 144
 Madrid—6, (España)