



**AMINOACIDES
NEUROTRANSMETTEURS,
CANAUX CALCIUM
SENSIBLES AU VOLTAGE ET
VIEILLISSEMENT CEREBRAL
NORMAL: APPROCHE
NEUROCHIMIQUE CHEZ LE
RAT**



M. ERRAMI

- **UNITE DE NEUROBIOLOGIE, UFR NEUROSCIENCES
FACULTE DES SCIENCES, UNIVERSITE ABDELMALEK
ESSAADI –TETOUAN-**
- **LABORATOIRE DE BIOCHIMIE ET BIOLOGIE
MOLECULAIRE, FACULTE DE MEDECINE,
UNIVERSITE DE GRENADE -GRENADE-.**

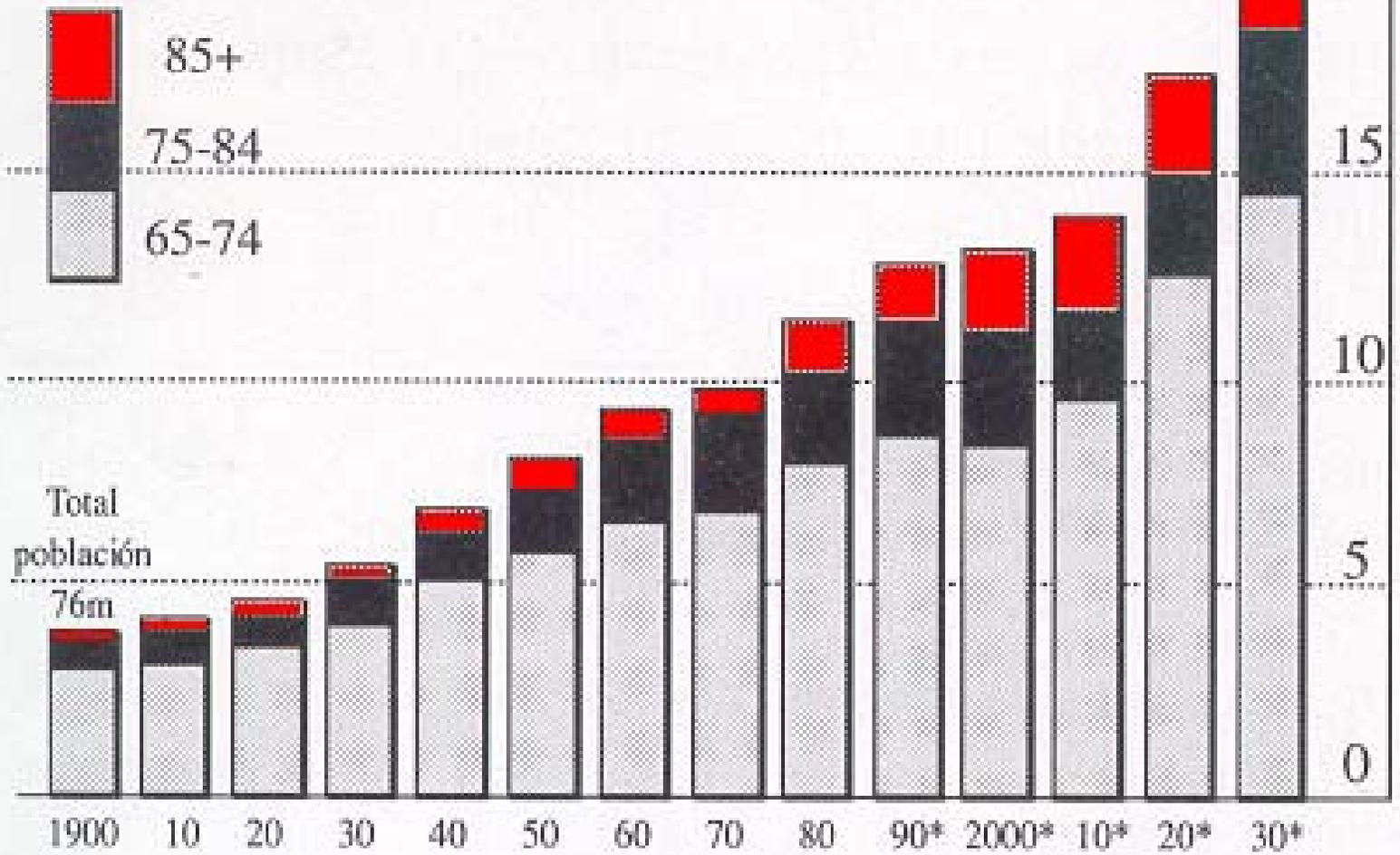


VIEILLISSEMENT CEREBRAL NORMAL

%población EE.UU. mayor de 65 años

Total población

305m



Fuente: US Bureau of Census

*Medida estimada

VIEILLISSEMENT COGNITIF

CAPACITES CONSERVEES

- ✓ **Intelligence globale ou cristallisée**
- ✓ **Capacité de comparaison et de confrontation avec des expériences antérieures**
- ✓ **Créativité artistique**

VIEILLISSEMENT COGNITIF

CAPACITES REDUITES

- ✓ **Intelligence fluide ou raisonnement inductif**
- ✓ **Mémoire d'acquisition ou d'apprentissage**
- ✓ **Vitesse d'exécution et de réponse**



VIEILLISSEMENT CEREBRAL ORGANIQUE

- ✓ **MACROSCOPIQUES**
- ✓ **HISTOLOGIQUES**
- ✓ **NEUROCHIMIQUES**
- ✓ **VASCULAIRES**

MODIFICATIONS NEUROCHIMIQUES

- ✓ **Baisse du système DA**
- ✓ **Systemes NA et 5-HT peu affectés**
- ✓ **Baisse du système Ach**
- ✓ **Systemes AA altérés**

Ischémie cérébrale
Accidents vasculaires
cérébraux, Epilepsie, SLA
Chorée de Huntington
VIEILLISSEMENT

Altérations de la
Neurotransmission aux
AAE

Activation des mécanismes de
libération. Baisse ou
inversion du fonctionnement
des transporteurs neuronaux
et gliaux

Accumulation anormale d'AAE
au niveau de la fente
synaptique

Activation excessive des
récepteurs aux AAE

Flux de Na⁺, Cl⁻, eau
et Ca⁺⁺

Activation enzymatique

lyse osmotique

Activacion de Caspases, Lipases,
Proteases, Kinases,
Endonucleases et production
accrue de radicaux libres

MORT NEURONALE



HYPOFONCTIONNEMENT DES SYSTEMES GABA/GLYCINE/TAURINE

POTENCIALISATION DES ACTIONS EXCITOTOXIQUES DES AAE

Ischémie cérébrale
Hypoxie/Hypoglycémie
Accidents vasculaires
cérébraux, Epilepsie, SLA
Chorée de Huntington
VIEILLISSEMENT

Neurotransmission par
aminoacides excitateurs

mécanismes de
libération
calcium dépendants

Accumulation extracellulaire
excitotoxique des AAE

Flux de Na⁺, Cl⁻, eau
et Ca⁺⁺

lyse osmotique

Activacion de Caspases, Lipases,
Proteases, Kinases,
Endonucleases et production
accrue de radicaux libres

MORT NEURONALE

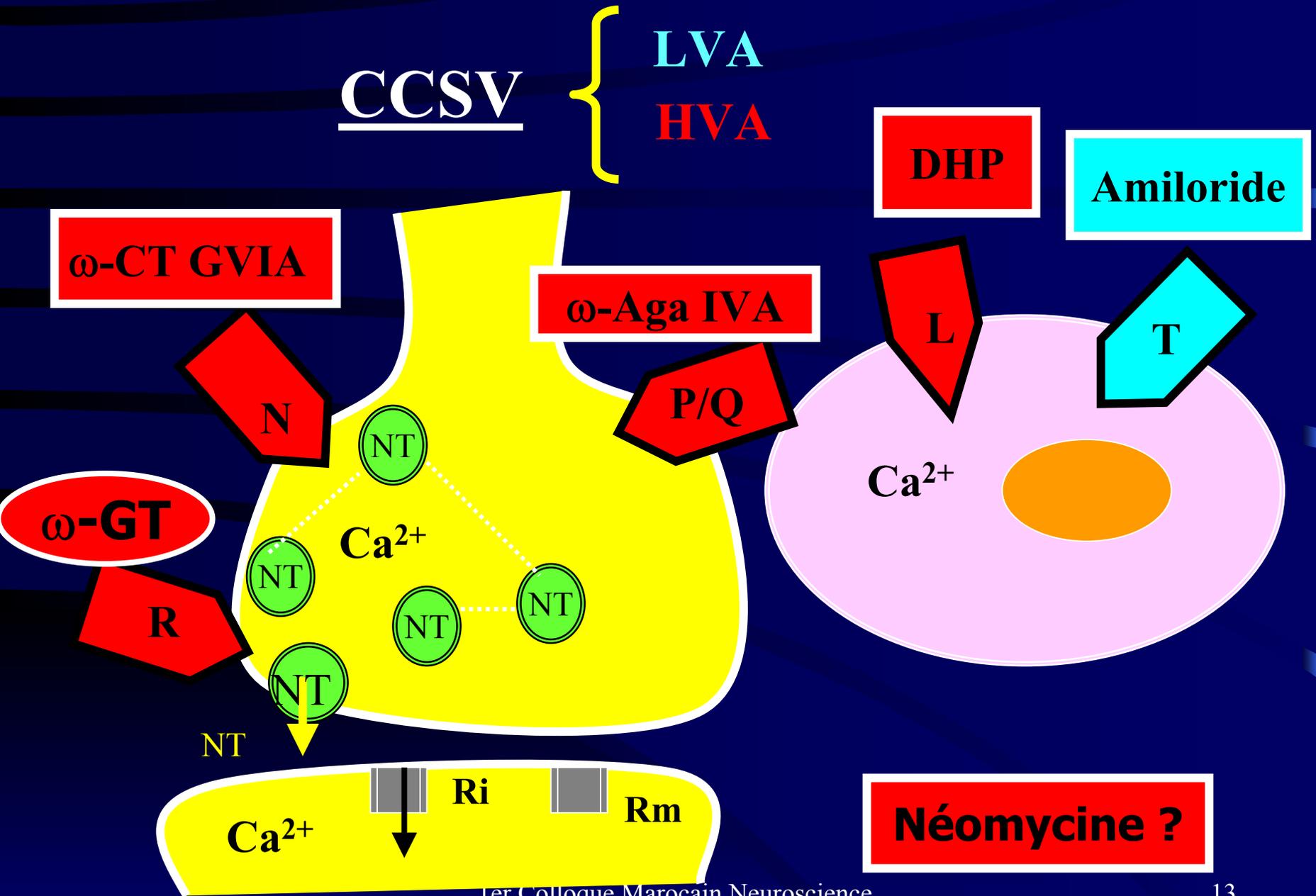


**AMINOACIDES
NEUROTRANSMETTEURS**

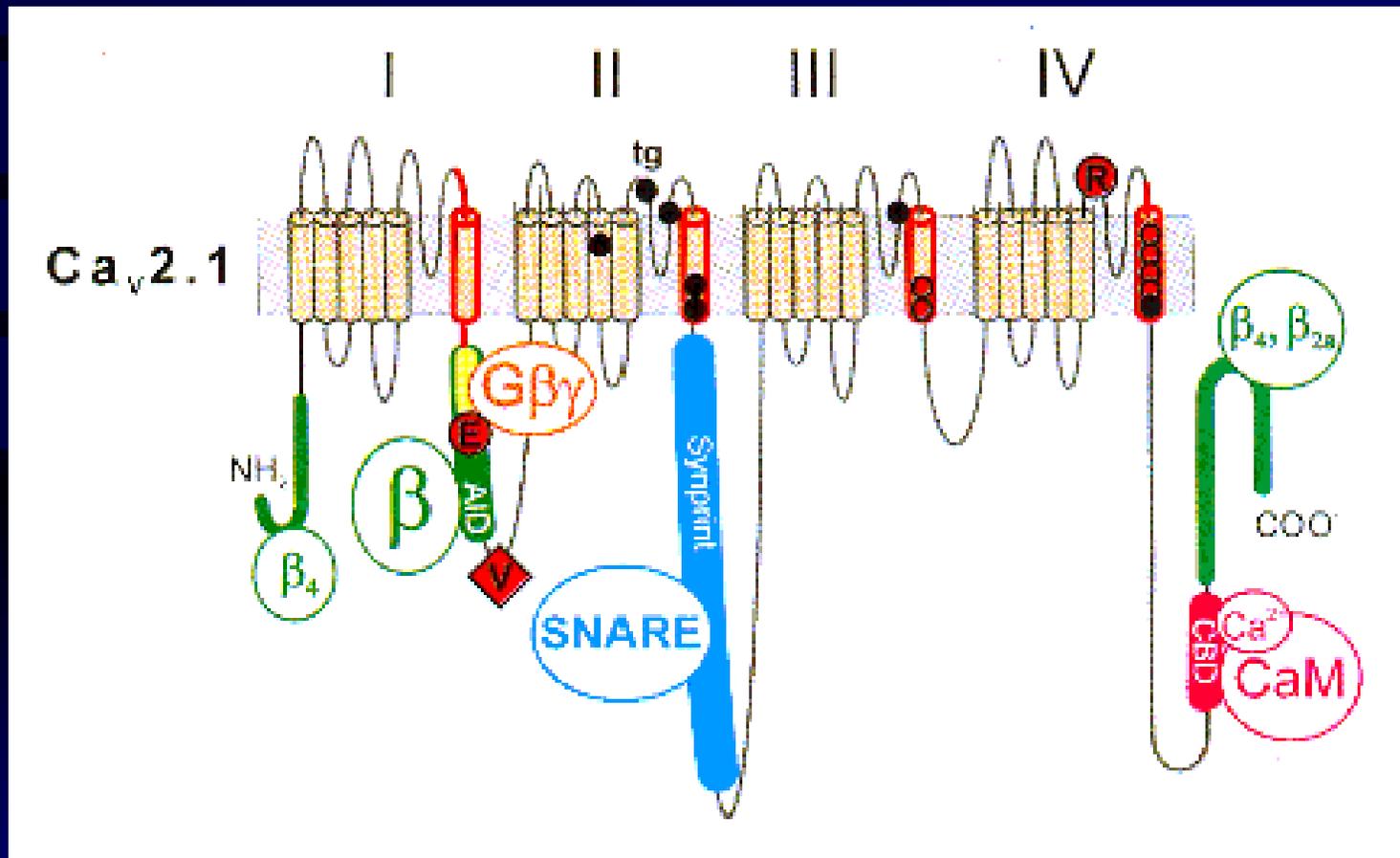
**CANAUX CALCIUM
SENSIBLES AU VOLTAGE**

**VIEILLISSEMENT CEREBRAL
NORMAL**

APPROCHE NEUROCHIMIQUE



INTERACTIONS DES CCSV AVEC DIFFERENTES PROTEINES



OBJETIFS

Primièrement:

Rechercher d'éventuelles altérations au cours du vieillissement cérébral dans les concentration extracellulaires d'acides aminés neurotransmetteurs et autres dans:

¶ Situation basale;

¶ Dépolarisation neuronale.

Deuxièmement:

¶ Préciser les types de CCSV impliqués dans la libération des AA neurotransmetteurs

¶ les modifications potentielles pouvant intervenir dans l'implication des ces canaux au cours du vieillissement cérébral.

MATERIELS ET METHODES

Analyse, *in vivo*, par microdialyse intracérébrale couplée à l'HPLC/DF, chez des rats jeunes (3 mois) et des rats âgés (24 à 26 mois), des concentrations extracellulaires des AA dans les conditions expérimentales suivantes :

¶ Basale en présence ou non d'inhibiteurs des CCSV ;

¶ De dépolarisation neuronale, par le potassium, en présence ou non d'inhibiteurs des CCSV

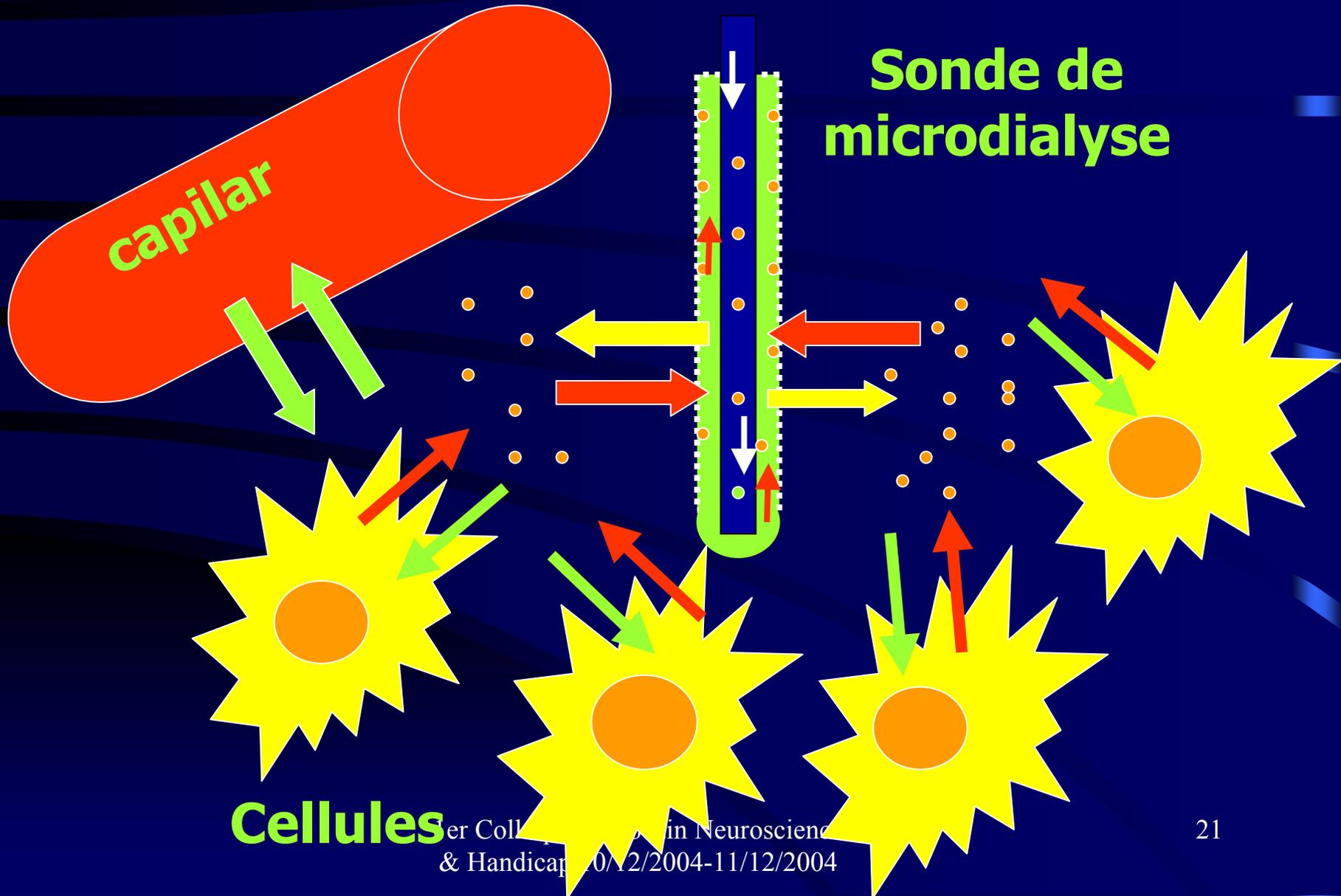
LES INHIBITEURS DES CCSV

¶ **ω -agatoxine IVA** à la concentration de **1 μ M**, inhibiteur sélectif des canaux de type **P et Q**

¶ **Néfidepine** à la concentration de **10 μ M**, inhibiteur sélectif des CCSV de type **L**

¶ **Néomycine** à la concentration de **225 et 550 μ M**, antibiotique aminoglycosidique inhibiteur non sélectif des CCSV

PRINCIPE DE LA MICRODIALYSE



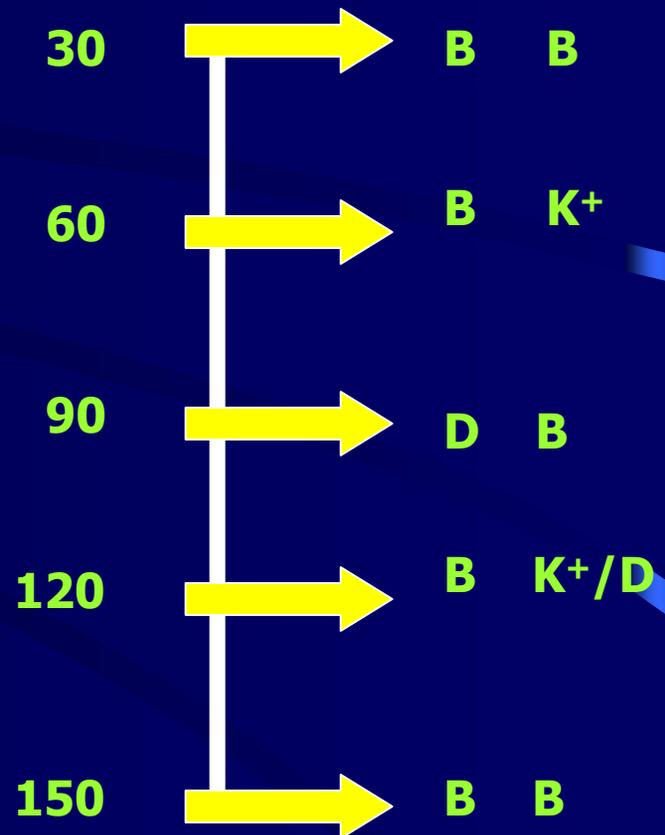
Cellules

PROCOLE EXPERIMENTAL

Pompe
perfusion



HPLC



Mélange standard d'acides aminés (0.1 mM)

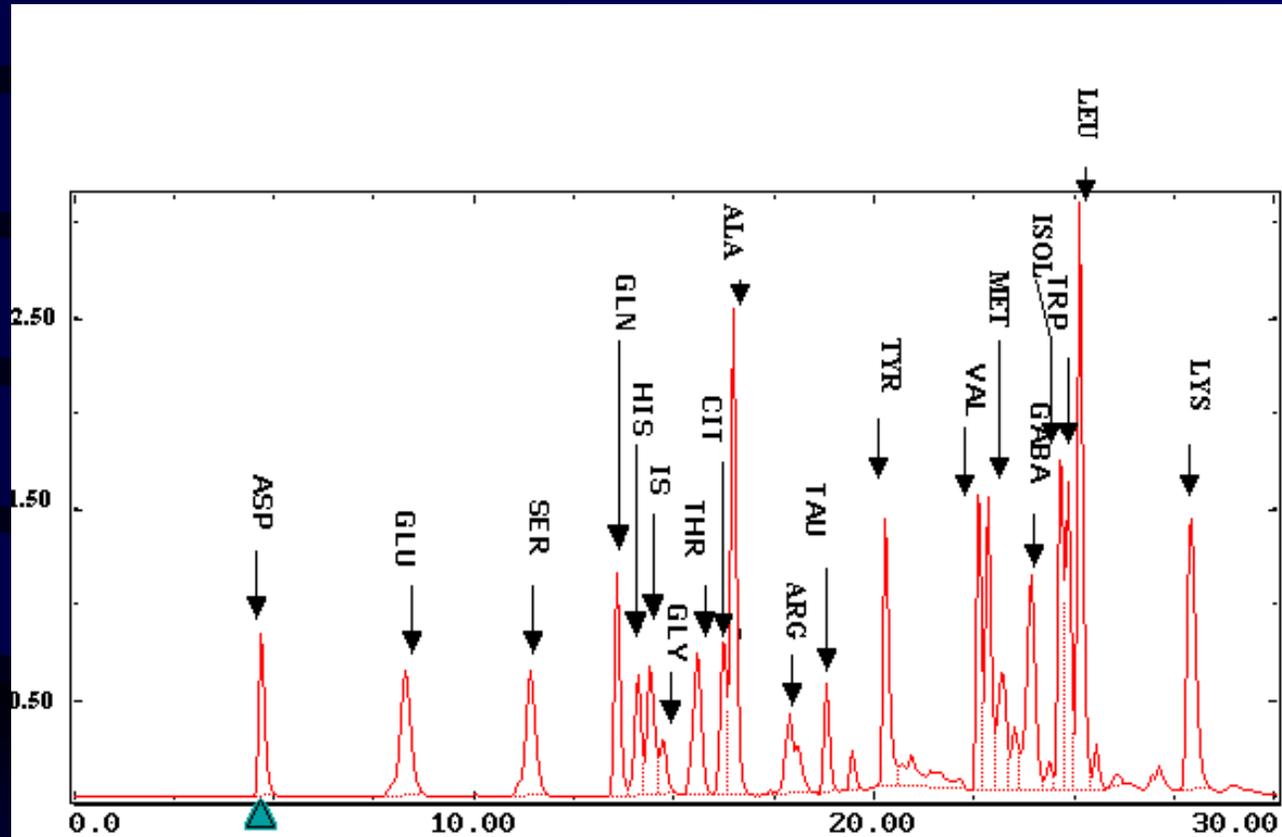


Figure M.6. Chromatogramme (HPLC/DF) d'un mélange standard d'acides aminés (0.1 mM)

Dialysat en présence de K^+ superposé à un dialysat basal

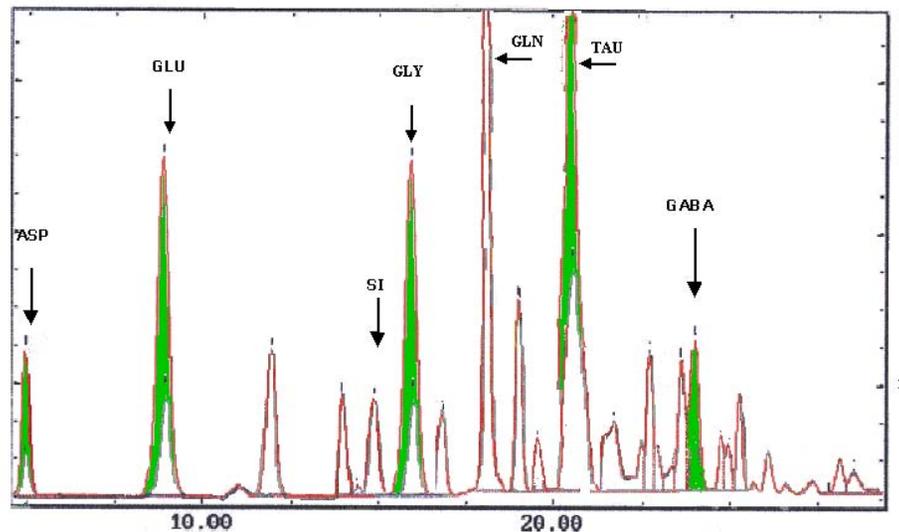


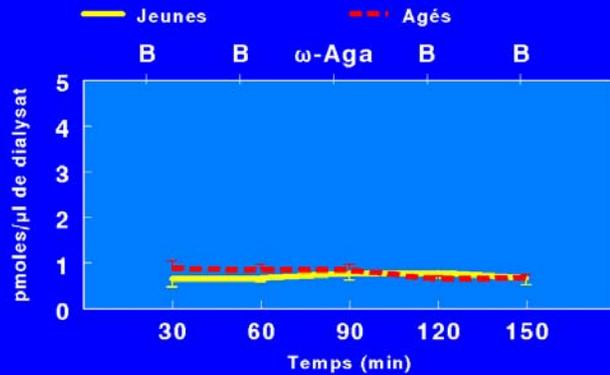
Figure M.S. Chromatogramme d'un dialysat du cortex frontal en absence et en présence de potassium (aires colorées en vert).

RESULTATS

ω -AGATOXINE IVA

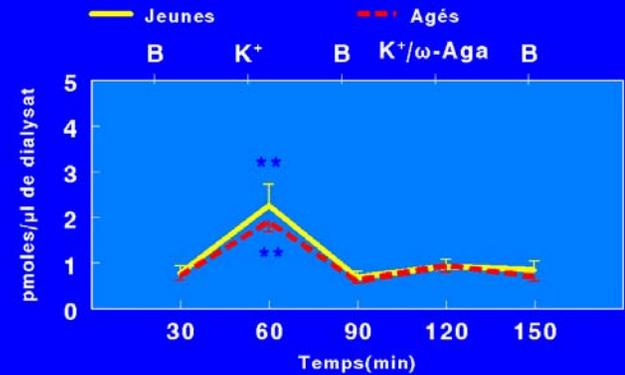
ACIDE ASPARTIQUE

ω -AGATOXINE 1 μ M



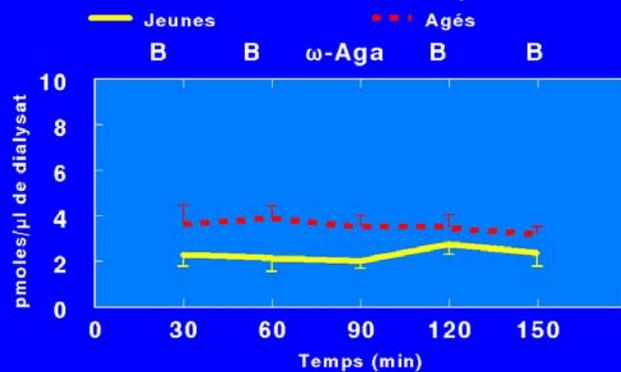
ACIDE ASPARTIQUE

K⁺ 100 mM/ ω -AGATOXINE 1 μ M



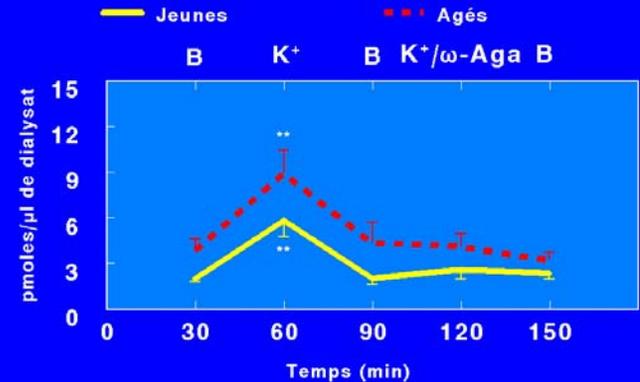
ACIDE GLUTAMIQUE

ω -AGATOXINE IVA 1 μ M

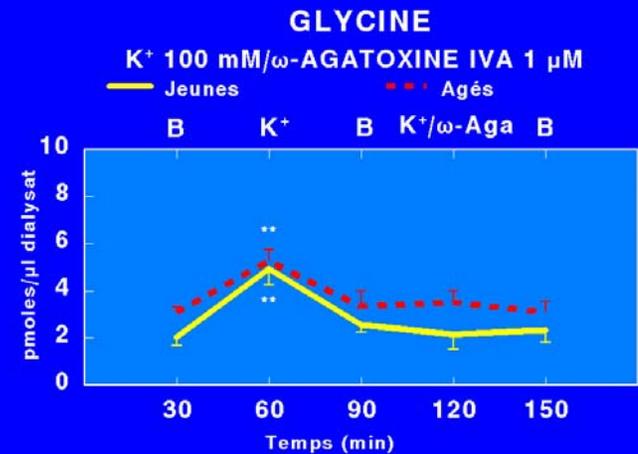
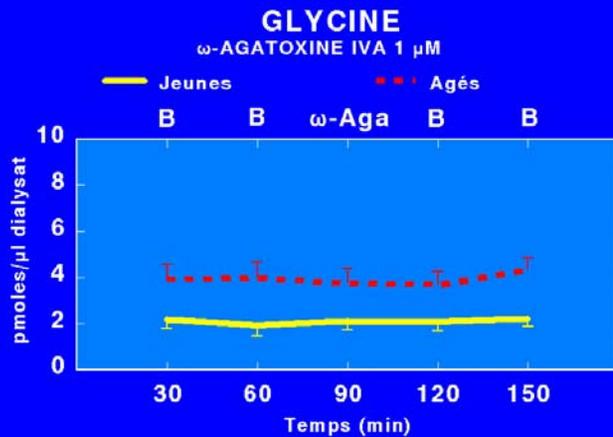
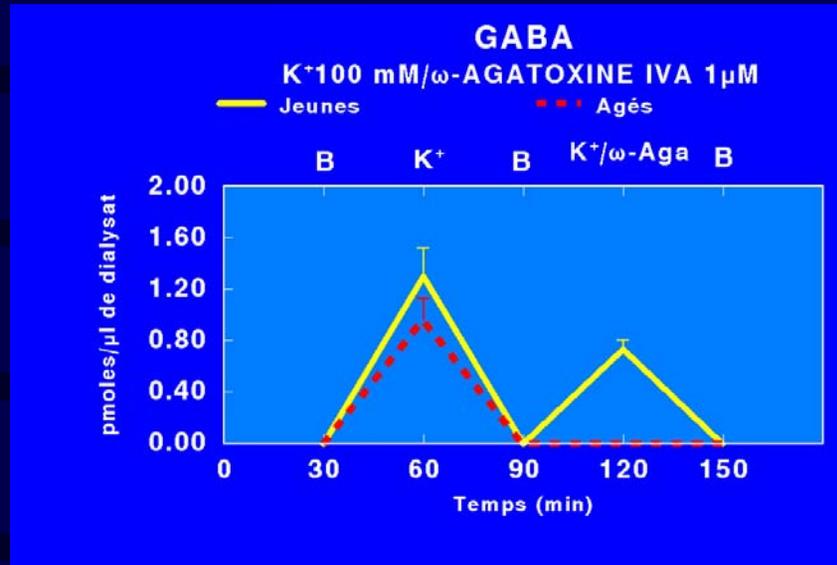


ACIDE GLUTAMIQUE

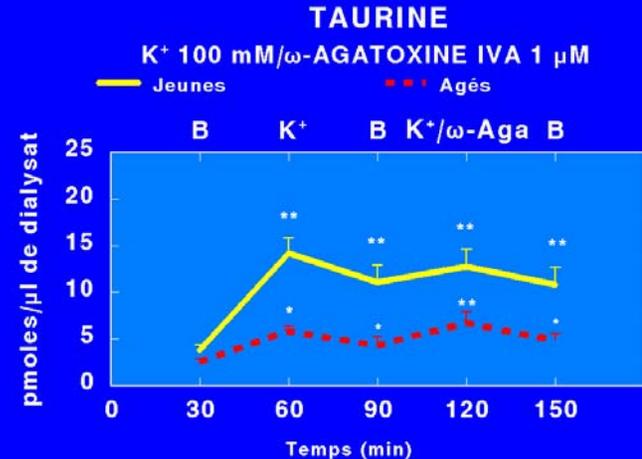
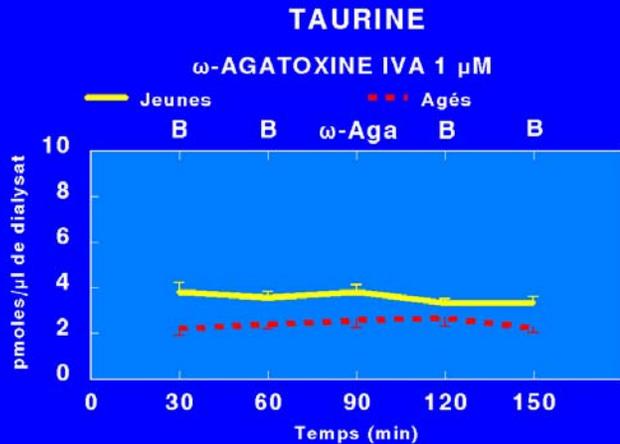
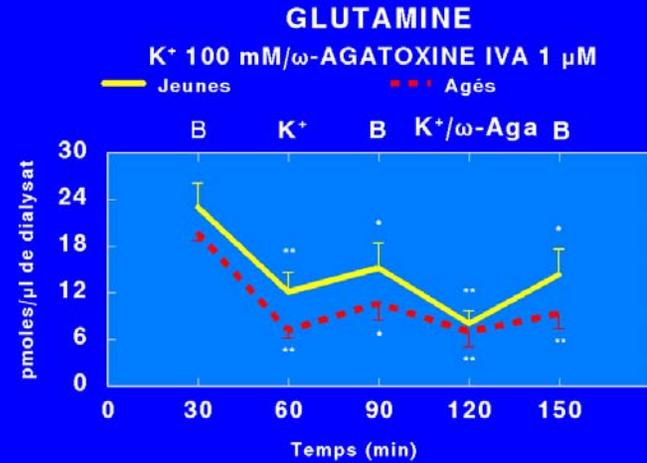
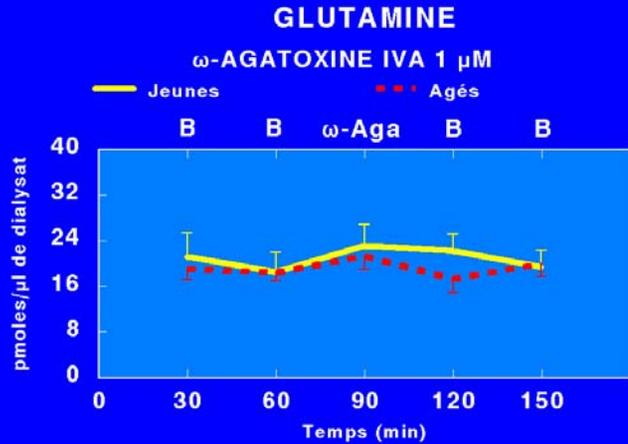
K⁺ 100 mM/ ω -AGATOXINE IVA 1 μ M



ω -AGATOXINE IVA

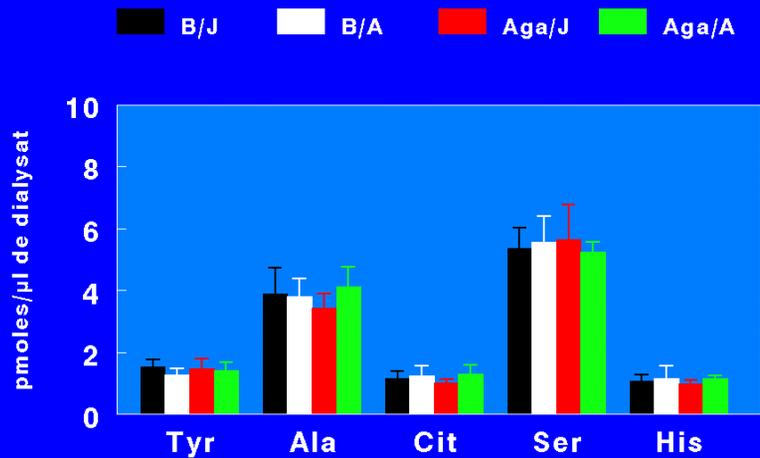


ω -AGATOXINE IVA

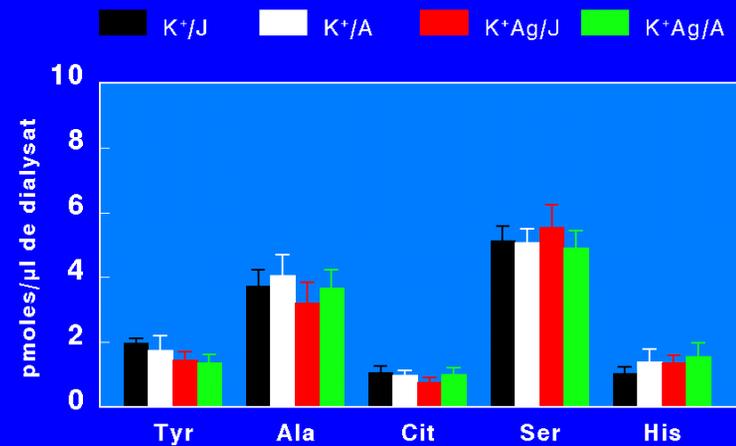


ω -AGATOXINE IVA

ω -AGATOXINE IVA 1 μ M

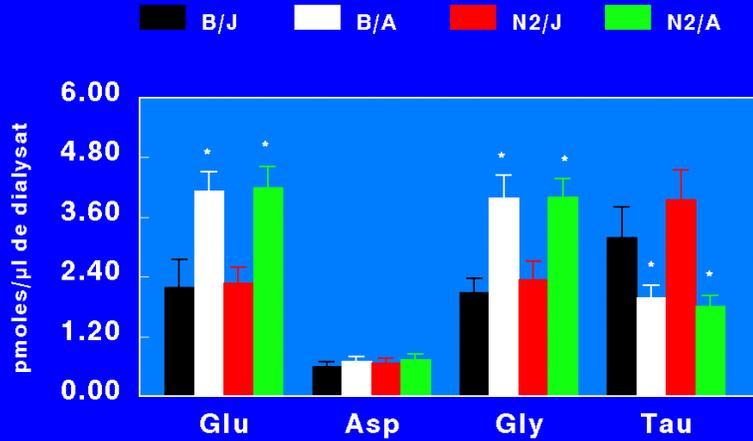


K⁺ 100 mM/ ω -AGATOXINE IVA 1 μ M

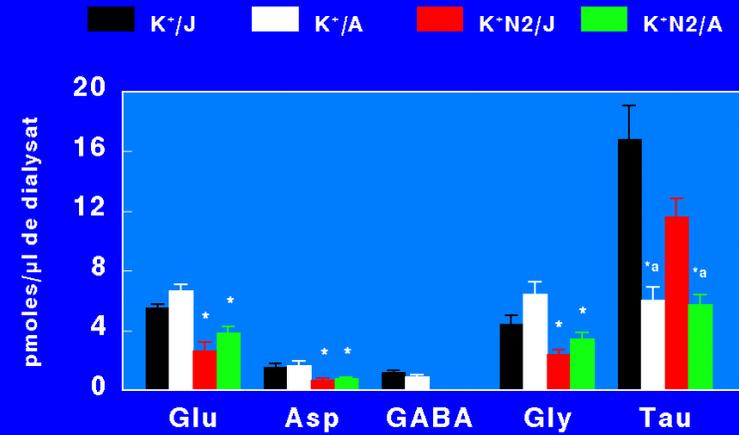


NEOMYCINE

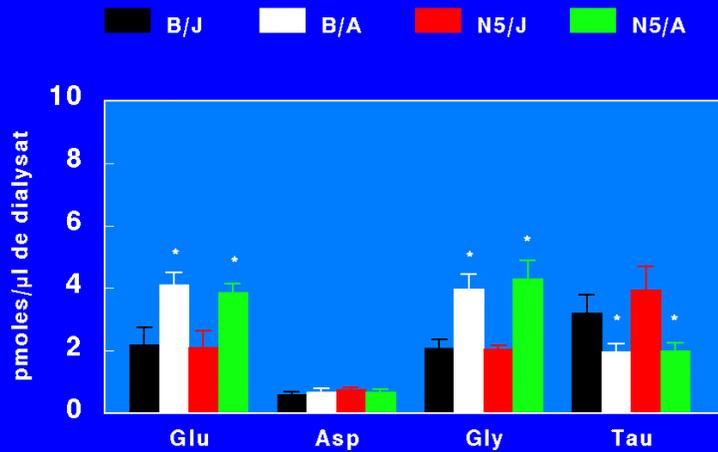
NEOMYCINE 225 μM



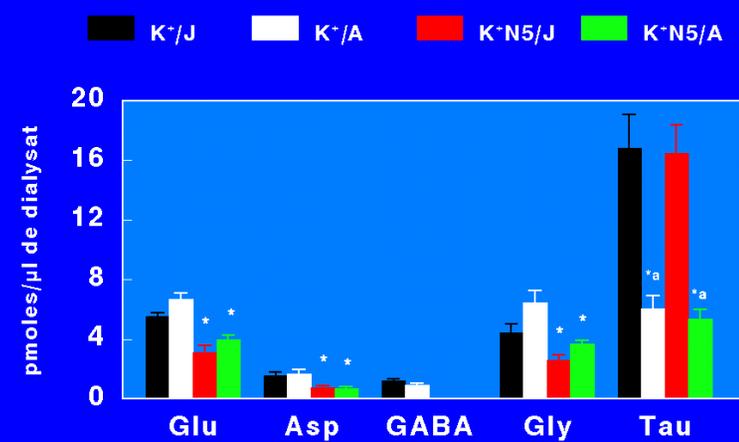
K⁺ 100 mM/NEOMYCINE 225 μM



NEOMYCINE 550 μM

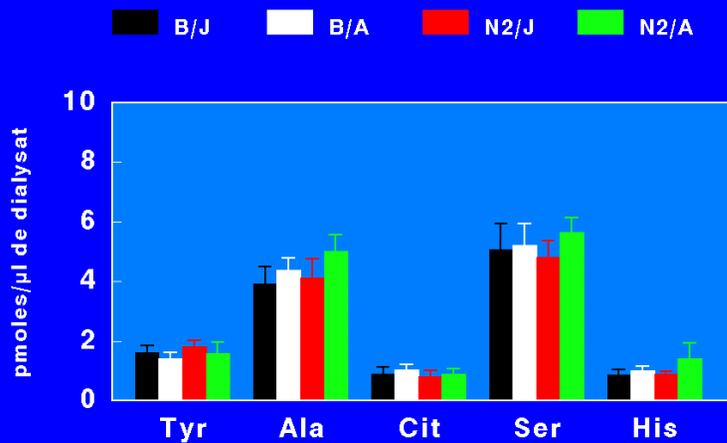


K⁺ 100 mM/NEOMYCINE 550 μM

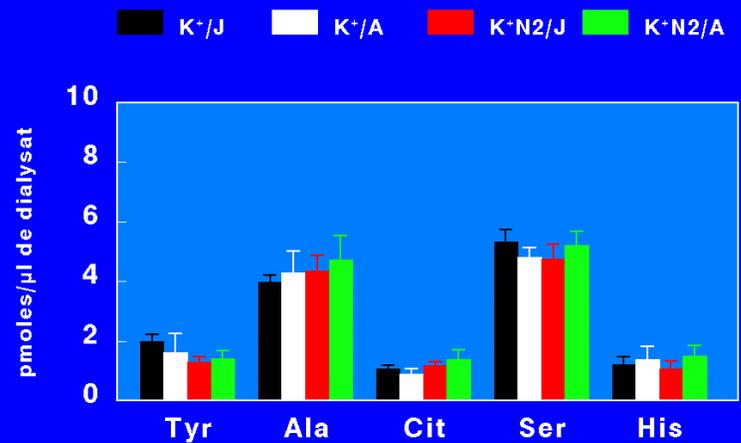


NEOMYCINE

NEOMYCINE 225 μ M

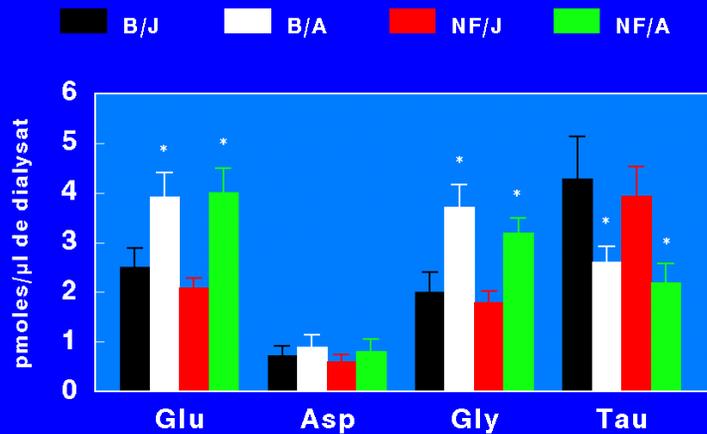


K⁺ 100 mM/NEOMYCINE 225 μ M

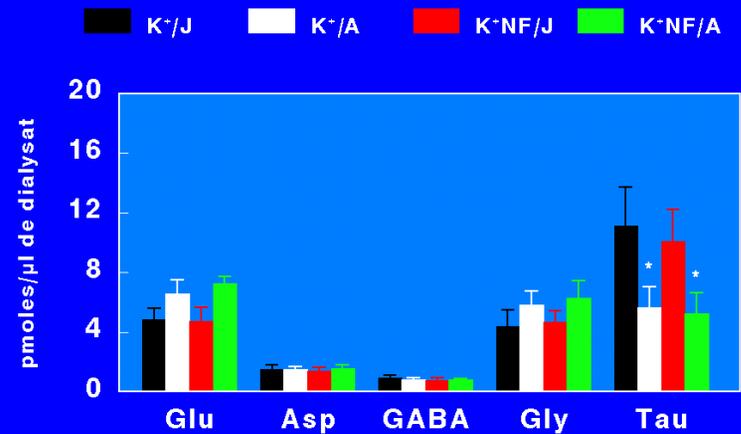


NEFIDEPINE

NEFIDEPINE 10 μ M



K⁺ 100 mM/NEFIDEPINE 10 μ M



CONCLUSIONS

1.- La technique de microdialyse associée à l'HPLC/DF s'est révélée une méthodologie efficace pour l'étude *in vivo* des mécanismes de libération synaptique des aminoacides. Le cortex frontal conserve son intégrité fonctionnellement comme le montre la réponse de ses neurones à la dépolarisation potassique et la modulation de cette réponse par les antagonistes des CCSV, canaux sous-tendant le processus de la libération neuronale des neurotransmetteurs.

2.- Le vieillissement cérébral s'accompagne d'une augmentation des concentrations extracellulaires basales de glutamate, transmetteur excitateur et excitotoxique, et de la glycine, transmetteur inhibiteur, ainsi que d'une diminution de celle de la taurine, neuromodulateur inhibiteur et neuroprotecteur. Ces altérations pourraient produire des lésions cellulaires ou, du moins, sensibiliser le cortex frontal à diverses agressions endogènes et exogènes.

3.- La dépolarisation neuronale induit, en plus de son action stimulatrice sur la libération du glutamate, de l'aspartate, du GABA et de la glycine, une diminution persistante des quantités extracellulaires de la glutamine et une augmentation de celles de la taurine.

L'augmentation persistante de la libération cellulaire de la taurine pourrait constituer un mécanisme de neurprotection vis-à-vis de la libération excessive des AAE.

La diminution persistante des quantités de la glutamine traduirait une augmentation du transport glial de cet AA qui servirait, lors d'une stimulation neuronale persistante (K^+ 100 mM pendant 30 min), non seulement à la synthèse de glutamate, mais également comme substrat énergétique.

4.- Le vieillissement cérébral normal ne semble pas altérer la libération évoquée du glutamate, de l'aspartate, du GABA et de la glycine. Seule la réponse des cellules libérant la taurine serait réduite au cours du vieillissement cérébral. Cette diminution pourrait traduire une baisse, âge-dépendante, de l'activité des systèmes de neuroprotection

5.- Libération évoquée de glutamate, aspartate et de la glycine, à partir du cortex frontal, dépendrait des CCSV P/Q

La libération évoquée de GABA impliquerait, chez les animaux jeunes, et non chez les animaux âgés, en plus des canaux P/Q, d'autres types de CCSV, sensibles à la néomycine non-L, non-N.

Le vieillissement cérébral normal s'accompagnerait d'une réorganisation de la participation relative des CCSV dans la libération neuronale de GABA.

6.- Les modifications induites par la dépolarisation neuronale sur les concentrations extracellulaires de la taurine et de la glutamine seraient indépendantes du fonctionnement des CCSV de type P et/ou Q et des autres éléments intervenant dans la régulation de l'homéostasie du calcium pouvant être bloqués par la néomycine. Ces modifications seraient calcium-indépendantes



I. AFAILAL
J.M. PEINADO
C. M. IRIBAR IBAB

MERCI