BnF Gallica

Comptes rendus de l'Académie des sciences. Série 3, Sciences de la vie

Source gallica.bnf.fr / Bibliothèque nationale de France

{BnF Gallica

Académie des sciences (France). Auteur du texte. Comptes rendus de l'Académie des sciences. Série 3, Sciences de la vie. 1984-01.

1/ Les contenus accessibles sur le site Gallica sont pour la plupart des reproductions numériques d'oeuvres tombées dans le domaine public provenant des collections de la BnF. Leur réutilisation s'inscrit dans le cadre de la loi n°78-753 du 17 juillet 1978 :
- La réutilisation non commerciale de ces contenus ou dans le cadre d'une publication académique ou scientifique est libre et gratuite dans le respect de la législation en vigueur et notamment du maintien de la mention de source des contenus telle que précisée ci-après : « Source gallica.bnf.fr / Bibliothèque nationale de France » ou « Source gallica.bnf.fr / BnF ».
- La réutilisation commerciale de ces contenus est payante et fait l'objet d'une licence. Est entendue par réutilisation commerciale la revente de contenus sous forme de produits élaborés ou de fourniture de service ou toute autre réutilisation des contenus générant directement des revenus : publication vendue (à l'exception des ouvrages académiques ou scientifiques), une exposition, une production audiovisuelle, un service ou un produit payant, un support à vocation promotionnelle etc.

CLIQUER ICI POUR ACCÉDER AUX TARIFS ET À LA LICENCE

2/ Les contenus de Gallica sont la propriété de la BnF au sens de l'article L.2112-1 du code général de la propriété des personnes publiques.

3/ Quelques contenus sont soumis à un régime de réutilisation particulier. Il s'agit :

- des reproductions de documents protégés par un droit d'auteur appartenant à un tiers. Ces documents ne peuvent être réutilisés, sauf dans le cadre de la copie privée, sans l'autorisation préalable du titulaire des droits.
- des reproductions de documents conservés dans les bibliothèques ou autres institutions partenaires. Ceux-ci sont signalés par la mention Source gallica.BnF.fr / Bibliothèque municipale de ... (ou autre partenaire). L'utilisateur est invité à s'informer auprès de ces bibliothèques de leurs conditions de réutilisation.

4/ Gallica constitue une base de données, dont la BnF est le producteur, protégée au sens des articles L341-1 et suivants du code de la propriété intellectuelle.

5/ Les présentes conditions d'utilisation des contenus de Gallica sont régies par la loi française. En cas de réutilisation prévue dans un autre pays, il appartient à chaque utilisateur de vérifier la conformité de son projet avec le droit de ce pays.

6/ L'utilisateur s'engage à respecter les présentes conditions d'utilisation ainsi que la législation en vigueur, notamment en matière de propriété intellectuelle. En cas de non respect de ces dispositions, il est notamment passible d'une amende prévue par la loi du 17 juillet 1978.

7/ Pour obtenir un document de Gallica en haute définition, contacter **utilisation.commerciale@bnf.fr**.

ENDOCRINOLOGIE. — Action de petits peptides, fragments d'ACTH, sur l'incorporation de P^{32} dans les protéines cérébrales *in vitro*. Note de **Georges Cehovic** et **Patricia Cassonnet,** présentée par Robert Courrier.

Remise le 21 novembre 1983, acceptée après révision le 9 janvier 1984.

Certains petits peptides, fragments d'ACTH, peuvent modifier l'incorporation de P^{32} dans les protéines cérébrales *in vitro*. La possibilité du rôle de ces peptides dans le mécanisme de régulation de certaines fonctions cérébrales par l'activation des protéine-kinases différenciées est envisagée.

ENDOCRINOLOGY. — Action of Small Peptides (ACTH sequences) on ^{32}P Incorporation in Brain Proteins *in vitro*.

Some small peptides, ACTH sequences, are able to modify the ^{32}P *incorporation in brain proteins* in vitro. *The possibility that these peptides play a role in the regulation mechanism of some brain functions through differentiated protein-kinases could be considered.*

Il y a une dizaine d'années, en travaillant sur le problème de l'action de MSH et de ses analogues sur la fonction thyroïdienne, nous avions conclu : « ... il serait raisonnable d'envisager l'existence d'un certain nombre de peptides à structure proche de MSH et ACTH dont le spectre d'activité biologique serait en relation qualitative avec leurs structures » [1].

Depuis, on connaît l'extraordinaire développement des recherches sur les peptides hypothalamiques qui ont conduit à l'isolement et la synthèse de plusieurs hormones hypothalamiques ([2], [3], [4]).

On a aussi isolé et synthétisé des peptides du groupe MSH, comme la gamma-MSH et la delta-MSH, avec des variations dans la structure dues à l'espèce [4], ainsi que la betalipotropine et des endorphines beta et gamma qu'on a détectées dans différents organes [6].

En dépit d'un grand nombre de travaux consacrés à ces hormones mélanophoriques, leur rôle dans les régulations endocriniennes, en dehors de leur action pigmentaire, n'est pas encore élucidé.

En étudiant l'action de nouveaux facteurs isolés du placenta humain, nous avons constaté l'existence, d'une part de facteurs stimulant la phosphorylation de certaines protéines cérébrales *in vitro*, et d'autre part de facteurs l'inhibant. En purifiant ces facteurs par chromatographie et HPLC ([7], [8]), nous avons trouvé qu'il s'agit de petits peptides (300 à 600 dalton). Ceci nous a conduit à étudier l'action des acides aminés libres et d'un certain nombre de petits peptides. Une faible stimulation de l'incorporation de P^{32} a été constatée avec des doses très élevées (15 mM) de certains acides aminés et de quelques petits peptides ([9], [10]).

Dans cette Note, nous rapportons les résultats obtenus avec MSH, ACTH et certains de leurs fragments sur la phosphorylation des protéines cérébrales du Rat *in vitro*.

MÉTHODES ET MATÉRIEL. — La méthode de phosphorylation décrite auparavant [7] consiste essentiellement en une incubation *in vitro* des protéines totales du cerveau du Rat obtenues à partir des broyats selon la technique de Rudolf [11] avec les substances utilisées en présence de gamma P^{32}-ATP. Après incubation (2 mn à 30°C), la phosphorylation totale des protéines a été estimée par la mesure de la radioactivité (P^{32}) dans le précipité (TCA – 10 %), et par le degré d'incorporation de P^{32} dans différentes protéines après SDS gel électrophorèse sur plaques et autoradiographie. Cette même méthode a

Source gallica.bnf.fr / Bibliothèque nationale de France

été utilisée par nous dans plusieurs études et permet une comparaison avec nos résultats obtenus avec d'autres substances, et en particulier ceux obtenus avec des acides aminés [9] ou des petits peptides [10].

Les substances utilisées ont été fournies par les sociétés SERVA ou SIGMA, en l'occurrence α-MSH humaine (1-13) α-Melanocyte Stimulating Hormone); α-MSH (6-9) : *His-Phe-Arg-Trp*); ACTH humaine (1-39) (Adrenocorticotropin Hormone); ACTH (1-4 : Ser-Thr-Ser-Met); ACTH (4-10 : Met-Glu-*His-Phe-Arg-Trp*-Gly); ACTH (5-10 : Glu-*His-Phe-Arg-Trp*-Gly).

Ces substances (hormones ou fragments) ont été dissoutes dans la solution Hepes – pH ajusté à 7,3 – et ajoutées à l'incubat des broyats de cerveaux à des concentrations finales de 1 μM à 1 mM.

RÉSULTATS. – L'α-MSH entière et l'ACTH entière n'ont pas significativement modifié l'incorporation de P^{32} (de 1 à 500 μM) (non présenté), ainsi que le fragment d'ACTH (1-4). Par contre, l'ACTH (4-10) (d'ailleurs sans activité corticotropique) s'est montrée très active sur la stimulation de la phosphorylation des protéines cérébrales du cerveau, alors que la fraction 5-10 de l'ACTH a été inactive (tableau).

Fait spectaculaire : l'α-MSH (6-9) (qui correspond à la même séquence 6-7-8-9 de l'ACTH) a une très nette action inhibitrice sur la phosphorylation (*voir* les courbes de la figure 1). L'enregistrement des autoradiogrammes des plaques de gels SDS-PAGE montre que l'ACTH (4-10) augmente la phosphorylation de presque toutes les protéines cérébrales, surtout celles à poids moléculaires plus élevés (*fig.* 2) : aucune modification avec ACTH (5-10) et nette diminution de la phosphorylation de tous les pics protidiques avec α-MSH (6-9).

DISCUSSION. – Basés sur nos précédentes publications ([7] à [10]) sur l'action des petits peptides sur la phosphorylation *in vitro* des protéines cérébrales, nous avons émis

TABLEAU

Action de fragments d'ACTH et d'α-MSH sur la phosphorylation des protéines cérébrales *in vitro*.

Action of ACTH and α-MSH fragments on phosphorylation of cerebral proteins in vitro.

Substances	Conc. (*a*)	cpm (M+SD) (*b*)	% contr. (*c*)	Substances	Conc. (*a*)	cpm (M+SD) (*b*)	%/contr. (*c*)
Contrôle n° 340.	–	7337± 16	100	Contrôle n° 341.	–	5412+ 50	100
	10 μM	7086± 32	96		50 μM	5342+ 28	99
	100 μM	7294± 38	99		100 μM	5460± 40	100
α-MSH (6-9).	500 μM	6290± 39	86	ACTH (1-4).	200 μM	5421± 30	100
	1 mM	4586± 25	63		500 μM	5512±106	102
	10 μM	7451±397	101		1 mM	5496± 76	101
ACTH (5-10).	100 μM	7204± 61	98				
Contrôle n° 339.	–	8918±123	100	Contrôle n° 320.	–	5323± 89	100
	500 μM	9042±109	101		100 μM	5286± 28	99
ACTH (5-10).	750 μM	8785± 62	98		500 μM	6462±136	122
	1 mM	8522± 80	95	ACTH (4-10).	750 μM	7467±600	140
					1 mM	8325±190	156

(*a*) Concentrations (conc.) exprimées soit en micromoles (μM), soit en millimoles (mM).

(*b*) Radioactivité du précipité exprimée en coups par minute (cpm). Moyenne de trois échantillons ± déviation standard (ME ± SD).

(*c*) Pourcentage (%) par rapport au contrôle.

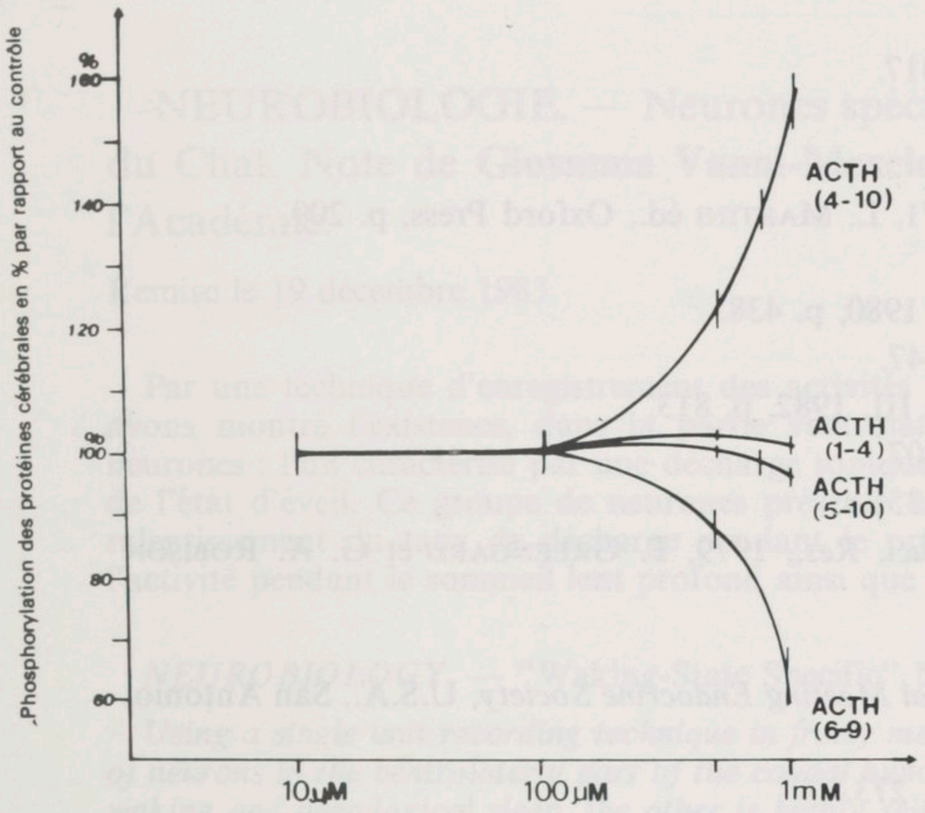


Fig. 1.

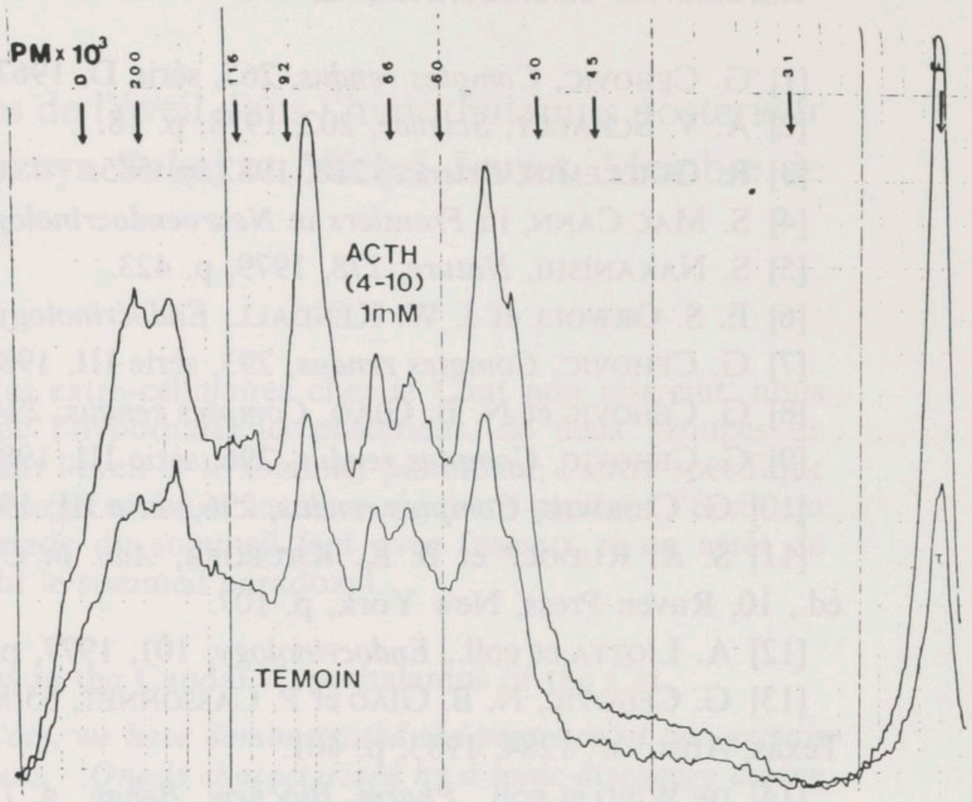


Fig. 2.

Fig. 1. — Action des fragments d'ACTH sur la phosphorylation des protéines cérébrales *in vitro*.

Fig. 2. — Densitométrie des autoradiogrammes des gels SDS après incubation avec un fragment d'ACTH et témoin correspondant. D, début gel ; F, front ; PM $\times 10^3$, poids moléculaire.

l'hypothèse de l'existence de petits peptides dans le placenta activant ou inhibant cette phosphorylation des protéines par l'intermédiaire des protéine-kinases membranaires.

Le fait que nous ayions trouvé une activité stimulante du fragment d'ACTH (4-10) et une action inhibitrice d'une partie de ce segment (6-9), serait en faveur de cette hypothèse.

Les peptides déjà étudiés ainsi que ces segments d'ACTH pourraient agir comme activateurs ou inhibiteurs des sites récepteurs des protéine-kinases différenciées. L'absence d'activation de cette phosphorylation par l'AMP cyclique que nous avons constatée [10] montre que ces protéine-kinases ne dépendent pas de l'AMP cyclique.

La synthèse par le placenta humain des substances corticotropes a été rapportée [12]. Ajoutons ici que les facteurs que nous avons isolés du placenta ont stimulé la phosphorylation des protéines cérébrales, à des concentrations de l'ordre de nanogrammes.

D'autre part, nous avons observé auparavant que certaines substances utilisées en thérapie humaine dans les troubles de la mémoire et ceux liés au vieillissement cérébral, augmentent aussi la phosphorylation de ces mêmes protéines dans nos expériences *in vitro* [13]. Fait important : d'après de Wied [14], dans ses travaux sur le comportement, le fragment d'ACTH (4-10) aurait une action dans le mécanisme de régulation de la mémoire et de la vigilance.

Des recherches basées sur l'hypothèse que l'existence des relations entre certaines fonctions cérébrales, et en particulier la mémoire, et la phosphorylation des protéines cérébrales, pourraient contribuer à une meilleure compréhension de ces mécanismes ainsi qu'à l'isolement des substances actives sur la mémoire, et éventuellement sur d'autres troubles du fonctionnement du système nerveux central.

Références bibliographiques

[1] G. Cehovic, *Comptes rendus*, 265, série D, 1967, p. 1317.
[2] A. V. Schally, *Science*, 202, 1978, p. 18.
[3] R. Guillemin, *Science*, 218, 1982, p. 585.
[4] S. Mac Cann, in *Frontiers in Neuroendocrinology*, 1971, L. Martini éd., Oxford Press, p. 209.
[5] S. Nakanishi, *Nature*, 278, 1979, p. 423.
[6] E. S. Orwoll et J. W. Kendall, *Endocrinology*, 107, 1980, p. 438.
[7] G. Cehovic, *Comptes rendus*, 293, série III, 1981, p. 147.
[8] G. Cehovic et N. B. Giao, *Comptes rendus*, 294, série III, 1982, p. 813.
[9] G. Cehovic, *Comptes rendus*, 296, série III, 1983, p. 207.
[10] G. Cehovic, *Comptes rendus*, 296, série III, 1983, p. 351.
[11] S. A. Rudolf et B. K. Krueger, *Adv. in Cycl. Nucl. Res.*, 1979, P. Greengard et G. A. Robison éd., 10, Raven Press, New York, p. 107.
[12] A. Liotta et coll., *Endocrinology*, 101, 1977, p. 1552.
[13] G. Cehovic, N. B. Giao et P. Cassonnet, 65*th Annual Meeting Endocrine Society*, U.S.A., San Antonio, Texas, Abstr. n° 1284, 1983, p. 401.
[14] de Wied et coll., *Pharm. Biochem. Behav.*, 4, 1976, p. 273.

Avec l'excellente assistance technique de M^me^ M. C. Dagens.

Laboratoire des Nucléotides cycliques,
Faculté de Pharmacie, Université Paris-Sud.
1, *rue Jean-Baptiste-Clément*, 92290 *Chatenay-Malabry.*