

Rôle de l'ACTH dans la protection des neurones contre l'anoxie

Jean-Claude Louis,
Patrick Anglard, Guy Vincendon

Summary

The influence of ACTH on anoxic neuronal death was defined in vitro by incubating cultures of chick embryo cortical neurons in anoxic atmosphere. Exposure of neurons to anoxia produced irreversible lesions after 10 hours. Neuronal cell death was completed within 48 hours.

Treatment with 10 nM ACTH(1-24) for 24 hours preceding oxygen deprivation protected against the development of anoxic damage and fully prevented neuronal death. In the light of its effect on the transport of glucose in neurons [4], it is proposed that ACTH(1-24) plays an important role in the preservation of neuronal functions during hypoxic stress.

De nombreux syndromes cliniques, comme la détresse respiratoire du nouveau-né, l'insuffisance cardio-respiratoire, les accidents ischémiques cérébraux, les états de choc, sont caractérisés par une insuffisance d'oxygénation du cerveau. Les lésions provoquées par l'hypoxie peuvent devenir irréversibles et perturber les fonctions nerveuses si l'apport d'oxygène n'est pas rapidement rétabli. L'arrêt des fonctions cérébrales est la conséquence de la mort des neurones provoquée par l'hypoxie. Les facteurs les plus fréquemment incriminés dans les mécanismes de la mort neuronale en hypoxie sont le déficit de production d'énergie en absence d'oxygène, la perturbation de la microcirculation cérébrale et la genèse de radicaux libres [1, 2]. Nos travaux antérieurs ont permis de mettre en évidence l'effet neurotrophe de l'hormone adrénocorticotrope (ACTH) [3, 4]. L'ACTH favorise la survie et la maturation

des neurones en culture [3] et stimule le transport de glucose [4]. Ces observations nous ont conduit à rechercher l'influence de l'ACTH sur la survie des neurones cultivés en atmosphère dépourvue d'oxygène. Les résultats obtenus établissent que l'ACTH protège les neurones contre l'anoxie.

Matériels et méthodes

Les techniques de culture de neurones du cortex cérébral d'embryon de poulet ont été décrites précédemment [3, 5]. Les neurones sont cultivés dans un milieu nutritif (DMEM : Ham F12; 1 : 1, v/v; Laboratoires Flow, Asnières) de composition chimique définie contenant de la transferrine, de l'insuline, de la putrescine, de la progestérone, du sélénium et des antibiotiques [3]. Ces cultures sont maintenues dans un incubateur à 37°C en atmosphère d'air (95 %) / CO₂ (5 %). Les traitements par l'ACTH(1-24) (Ciba-Geigy,

ADRESSE

Centre de neurochimie du Cnrs, 5, rue Blaise-Pascal, 67084 Strasbourg Cedex.

Figure 1. Effet de l'anoxie (48 heures) sur les cultures de neurones du cortex cérébral d'embryon de poulet. Alors que dans les cultures témoins (a), la mortalité cellulaire est totale, les cultures traitées par l'ACTH (1-24) (10 nM) au cours des 24 heures précédant la déprivation en oxygène ne sont pas affectées par l'anoxie (b) ($\times 150$).

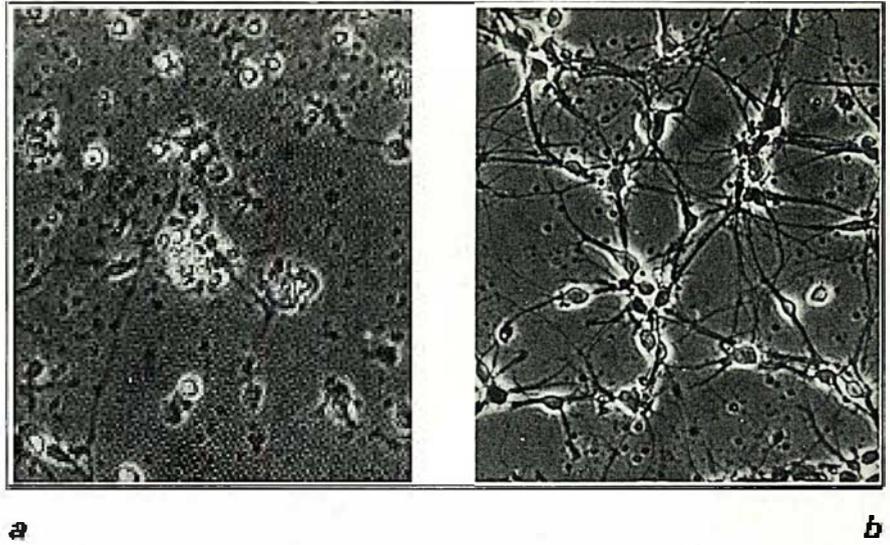


Figure 2. Effet d'une période courte d'anoxie (10 heures) sur la morphologie des neurones. Dans les cultures témoins, on observe l'apparition de signes de dégénérescence cellulaire (a) : augmentation du volume cellulaire, rétraction des dendrites et fragmentation des corps cellulaires. Le traitement des cultures par l'ACTH (1-24) (10 nM) protège les neurones des lésions engendrées par l'anoxie (b) ($\times 250$).

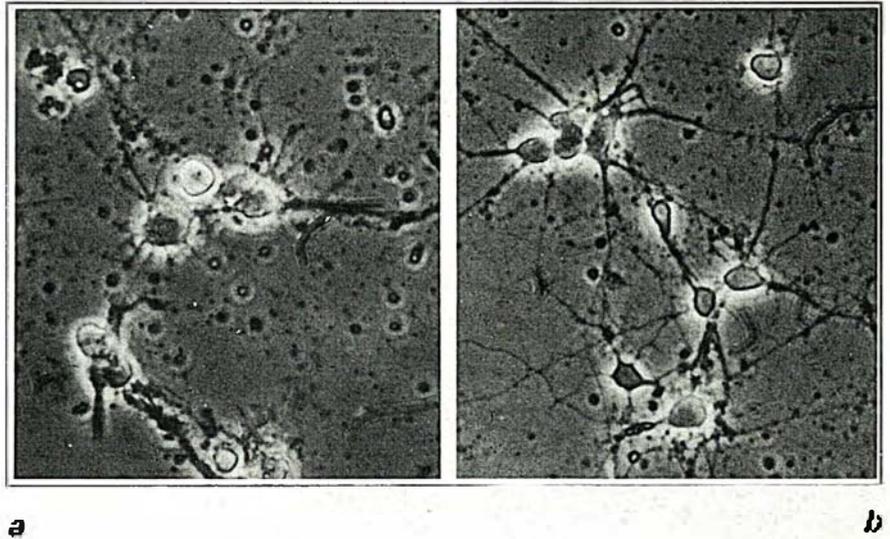
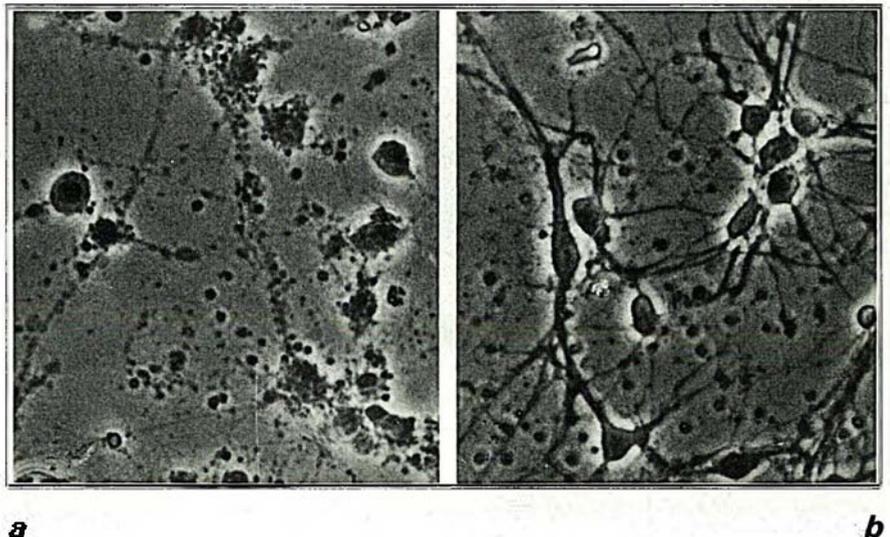


Figure 3. Effet de l'anoxie (10 heures), suivie du retour en atmosphère normoxique (48 heures) sur la survie des neurones. Alors que les neurones traités par l'ACTH (1-24) (10 nM) ont survécu et se sont développés (b), il ne subsiste que des débris cellulaires dans les cultures témoins (a). ($\times 250$).



Bâle, Suisse) sont initiés 24 heures avant la déprivation en oxygène. Pour les expériences d'anoxie, les cultures sont transférées pour des temps variables dans un caisson étanche, dans lequel on fait passer un flux d'azote (95 %) / CO₂ (5 %).

Résultats

Aucun neurone en culture ne survit lorsque les cultures sont placées pendant 48 heures en atmosphère dépourvue d'oxygène (*figure 1 a*). L'ACTH (1-24) administrée à une concentration de 10 nM pendant les 24 heures précédant le passage en anoxie assure la survie de 95 % des neurones (*figure 1 b*). Une incubation plus courte (10 heures) en anoxie se traduit chez les neurones non traités par des signes de dégénérescence cellulaire, comme l'augmentation du volume des corps cellulaires, la rétraction des fibres nerveuses, l'apparition de vacuoles intracytoplasmiques, pour aboutir à la fragmentation des structures cellulaires (*figure 2 a*). En revanche les cellules qui ont été prétraitées par l'ACTH (1-24) ne sont pas affectées par 10 heures d'anoxie (*figure 2 b*). Lorsqu'après 10 heures de culture en anoxie les cellules sont replacées en atmosphère normale (air (95 %) / CO₂ (5 %)), on observe après 48 heures que les neurones traités par l'ACTH (1-24) survivent et se développent (*figure 3 b*), alors que dans les cultures non traitées on ne retrouve que des débris cellulaires (*figure 3 a*).

Discussion

La plupart des études portant sur l'influence de l'hypoxie sur le cerveau sont effectuées in vivo sur des animaux de laboratoire et sont difficiles à interpréter du fait de la variation simultanée d'autres paramètres comme la pression artérielle, la ventilation pulmonaire, la pression partielle de CO₂ et le pH sanguin. L'étude des effets directs du manque d'oxygène sur les neurones peut être abordée à l'aide de la culture cellulaire. Les résultats présentés ici démontrent que l'ACTH permet aux neurones de résister à l'anoxie.

Une telle influence suggère que

l'ACTH pourrait avoir un rôle spécifiquement en relation avec les processus d'adaptation du cerveau aux conditions d'hypoxie.

L'ACTH intracérébrale peut provenir de deux sources : soit une production endogène par des neurones situés dans l'hypothalamus et innervant l'ensemble des structures cérébrales [6, 7], soit une source d'ACTH hypophysaire, sécrétée de manière accrue lors de l'hypoxie [8], et dont le passage à travers la barrière hémoméningée pourrait être facilité par l'hypoxémie.

Les mécanismes par lesquels l'ACTH exerce son influence sur le neurone en anoxie restent encore à définir. Nous avons démontré récemment que l'ACTH était capable de réguler le transport de glucose au niveau des neurones [4]. En agissant sur la disponibilité et l'utilisation du glucose par la glycolyse, l'ACTH pourrait ainsi assurer la couverture des besoins énergétiques par des mécanismes anaérobies et permettre la survie des neurones en l'absence d'oxygène. Un autre mécanisme pourrait impliquer une action directe de l'ACTH sur la neurotransmission. Des travaux récents ont en effet suggéré que la mort de certains neurones lors d'épisodes d'anoxie ou d'ischémie aiguë était causée par une libération excessive d'acides aminés neurotransmetteurs comme l'acide glutamique et l'acide aspartique [9-12]. Bien qu'il n'existe pas actuellement de données expérimentales concernant l'influence de l'ACTH sur la libération de ces neurotransmetteurs, cette hypothèse ne semble pas devoir s'appliquer à l'ACTH. En effet, si l'ACTH protégeait les neurones contre l'anoxie en influant sur la neurotransmission, cet effet devrait être immédiat. Or, un délai de plusieurs heures est nécessaire pour que l'ACTH soit efficace, ce qui suggère une intervention de l'hormone sur les régulations métaboliques.

En conclusion, ce travail montre que l'ACTH permet aux neurones de résister à l'anoxie. La libération de ce peptide dans le cerveau pourrait jouer un rôle essentiel dans le maintien des fonctions des neurones au cours des états de souffrance cérébrale hypoxique.

RÉFÉRENCES

1. Brierley JB. Cerebral hypoxia. In: Blackwood W, Corsellis JAN, eds. *Greenfield's Neuropathology*. Londres: Edward Arnold, 1976: 43-85.
2. Meldrum BS. Metabolic factors during seizures and their relation to nerve cell death. In: Delgado-Escueta AV, Wasterlain CG, Treitman DM, Porter RJ, eds. *Advances in Neurology, Status Epilepticus: mechanisms of brain damage and treatment*. New York: Raven Press, 1983; 34: 261-76.
3. Daval JL, Louis JC, Gérard MJ, Vincendon G. Influence of adrenocorticotrophic hormone on the growth of isolated neurons. *Neurosci Lett* 1983; 36: 299-304.
4. Daval JL, Anglard P, Gérard MJ, Vincendon G, Louis JC. Regulation of deoxyglucose uptake by adrenocorticotrophic hormone in cultured neurons. *J Cell Physiol* 1985; 124: 75-80.
5. Pettmann B, Louis JC, Sensenbrenner M. Morphological and biochemical maturation of neurons cultured in the absence of glial cells. *Nature* 1979; 281: 378-80.
6. Brownstein MJ. Adrenocorticotrophic hormone (ACTH) in the central nervous system. In: Costa E, Trabucchi M, eds. *Neural peptides and neuronal communication*. New York: Raven Press, 1980: 93-9.
7. Krieger DT. Brain peptides: what, where and why? *Science* 1983; 222: 975-85.
8. Shinsako J, Dallman MF, Raff H. Renin and ACTH responses to hypercapnia and hypoxia after chronic carotid chemodeneration. *Am J Physiol* 1984; 247: 412-7.
9. Rothman S. Synaptic activity mediates death of hypoxic neurons. *Science* 1983; 220: 536-7.
10. Benveniste H, Drejer J, Schousboe A, Diemer NH. Elevation of extracellular concentrations of glutamate and aspartate in rat hippocampus during transient cerebral ischemia monitored by intracerebral microdialysis. *J Neurochem* 1984; 43: 1369-74.
11. Rothman S. Synaptic release of excitatory amino acid neurotransmitter mediates anoxic neuronal death. *J Neurosci* 1984; 7: 1884-91.
12. Simon RP, Swan JH, Griffiths T, Meldrum BS. Blockade of N-methyl-D-Aspartate receptors may protect against ischemic damage in the brain. *Science* 1984; 226: 850-2.

TIRÉS A PART

J.-C. Louis : Centre de neurochimie du Cnrs, 5, rue Blaise-Pascal, 67084 Strasbourg Cedex.