

L'action de la S-adénosyl-L-homocystéine sur le bronchospasme expérimental du cobaye

Y. PACHECO *, P. BENSOUSSAN *, M. ROCHE **

RÉSUMÉ

Les effets sur l'arbre bronchique de la S-adénosyl-L-homocystéine (SAH) ont été étudiés chez le cobaye. Cette substance n'a pas d'effet propre sur le tonus bronchomoteur de l'animal anesthésié. Injectée par voie intraveineuse, la SAH potentialise l'effet bronchoconstricteur de la sérotonine et de l'histamine. Administrée par voie inhalatoire, elle a un effet inhibiteur du bronchospasme induit par la sérotonine. Ce dernier étant antagonisé par l'administration simultanée d'adénosine, les auteurs évoquent la possibilité d'une action de la SAH de type compétition par analogie structurale.

La S-adénosyl-L-homocystéine (SAH) est une substance naturelle mise en évidence dans de nombreux types cellulaires, fabriquée par trans-méthylation à partir de la S-adénosyl-méthionine. Son rôle physiologique est très important, car les réactions de transméthylation, au niveau cytoplasmique, intéressent les acides nucléiques, les protéines, les phospholipides et de nombreux neuro-médiateurs [30]. Son étude pharmacologique chez l'animal a permis de mettre en évidence ses propriétés régulatrices du sommeil paradoxal et anti-convulsivantes [12, 13]; sur modèle cellulaire humain, cette substance s'est révélée inhibitrice de l'histaminolibération leucocytaire au même titre que l'adénosine et plusieurs de ses analogues structuraux [2]. Si un point d'impact biochimique au niveau de différentes méthyltransférases a été évoqué pour expliquer son mécanisme d'action [10], ses propriétés d'analogie structural de l'adénosine font évoquer une possible action sur

SUMMARY

The action of S-adenosyl-L-homocysteine on experimental bronchospasm in the guinea pig. — The effects of S-adenosyl-L-homocysteine on the bronchial tree have been studied in the guinea pig. This substance has no intrinsic action on the bronchomotor tonus of the anesthetized animal. When injected intravenously, SAH potentiates the bronchoconstrictor effect of both serotonin and histamine. When administered by inhalation, it has an inhibitory effect on the bronchospasm induced by serotonin. Since the latter is antagonized by the simultaneous administration of adenosine, the authors suggest the possibility that SAH has a competitive action because it is a structural analogue.

les récepteurs membranaires spécifiques de cette dernière molécule.

Plusieurs travaux ont fait état d'effets bronchomoteurs de l'adénosine. Cette substance a un effet bronchoconstricteur chez le rat après injection intraveineuse [25] et chez le sujet asthmatique [7, 8, 21] après inhalation. La possible compétition entre le SAH et l'adénosine nous a incité à entreprendre une étude des effets de cette substance sur l'arbre bronchique du cobaye.

MATERIEL ET METHODES

L'étude pharmacologique des effets de la SAH sur le bronchospasme induit par la sérotonine ou l'histamine a été réalisée sur le cobaye adulte anesthésié au pentobarbital sodique (6 g/100 ml, Sanofi, France), par voie intrapéritonéale (300 mg/kg). 69 cobayes adultes de 300 à 500 g ont été utilisés dans cette étude. Les animaux sont ventilés

* Service de Pneumologie et Laboratoire d'immunoallergologie respiratoire, Centre hospitalier Lyon-Sud, 69230 ST-GENIS-LAVAL.

** Laboratoire de physiologie appliquée et pharmacologie, Université de Savoie, UER des Sciences et Techniques, 73000 CHAMBERY.

Tirés à part : Pr Y. Pacheco, Service de Pneumologie, Centre Hospitalier Lyon-Sud, 69230 ST-GENIS-LAVAL.

Reçu le 22 octobre 1988. Accepté le 10 mars 1989.

artificiellement, en pression positive, grâce à une petite pompe respiratoire (Palmer UK) à volume (20 ml d'air) et fréquence (40/min) constants, branchée sur une canule mise en place dans la trachée, après suppression du vide pleural par incision au niveau du 4^e espace intercostal et sans vagotomie.

La veine jugulaire est cathétérisée pour l'administration intraveineuse des substances pharmacologiques. Pour l'administration des substances par voie inhalatoire, un aérosol est branché sur la canule trachéale et 3 pulvérisations successives d'une seconde sont administrées.

Les variations de calibre bronchique sont appréciées par méthode pneumographique. Son principe repose sur le fait que les variations de la pression inspiratoire sont proportionnelles à la résistance bronchique et à la compliance totale ; il en résulte la possibilité de dériver simplement l'excès dans un système élastique dont le volume est proche de celui du volume pulmonaire de l'animal utilisé. L'analyse des variations du tonus bronchomoteur repose sur l'enregistrement des variations du volume du système élastique. Dans ces conditions, une bronchoconstriction se traduit par une dérivation plus importante de l'air envoyé par la pompe vers le système élastique.

Les augmentations du volume de ce système élastique correspondant à des bronchoconstrictions sont enregistrées à l'aide d'un capteur de pression électromagnétique connecté à un enregistreur potentiométrique (Linseis, RFA). L'analyse des résultats porte sur les variations de l'élévation du tonus bronchomoteur induit par la sérotonine et l'histamine en fonction du prétraitement par la SAH :

— le bronchospasme est déclenché par l'administration iv soit de sérotonine (200 µg/kg) soit d'histamine (100 µg/kg),

— l'effet potentialisateur ou antagoniste de la SAH vis-à-vis du bronchospasme induit par la sérotonine ou l'histamine a été apprécié après administration de la SAH soit par voie intraveineuse (0,5 mg/kg à 7 mg/kg) soit par voie inhalatoire (avec des solutions de SAH de 10^{-5} M à 10^{-3} M, chaque pulvérisation contenant 40 µl soit 43 µg de SAH pour une solution à 10^{-3} M). La SAH et l'agent bronchoconstricteur ont été administrés successivement à 2 minutes d'intervalle quelle que soit la voie utilisée pour la SAH.

Tests statistiques

Les résultats ont été comparés à l'aide des tests non paramétrique de Wilcoxon et paramétrique de « t » pour valeurs couplées grâce à un logiciel (« Balance » Elsevier Scientific Software, Amsterdam).

RESULTATS

Action de la SAH par voie intraveineuse

De 0,5 mg/kg jusqu'à 7 mg/kg la SAH administrée par voie iv n'a aucun effet sur le tonus bronchique du cobaye. Par contre, elle potentialise l'action bronchoconstrictrice de la sérotonine et de l'histamine de façon statistiquement significative (fig. 1).

Action de la SAH par voie inhalatoire

La SAH en dose unique n'a pas d'effet propre sur le tonus bronchomoteur. La SAH administrée en dose unique par voie aérosol inhibe le bronchospasme expérimental du cobaye induit par la sérotonine injectée par voie iv aux doses précédemment décrites. L'effet maximal de cette inhibition est obtenu pour la solution de SAH à 5×10^{-4} M (fig. 2). Cet effet maximal persiste pendant 15 minutes. L'administration de plusieurs doses successives (5 minutes d'intervalle) de SAH, à la concentration $2,5 \times 10^{-5}$ M potentialise l'inhibition du bronchospasme induit par l'histamine ou la sérotonine (fig. 3).

Action de l'adénosine et de l'association adénosine-SA

L'adénosine administrée seule par voie inhalatoire à la concentration de 5×10^{-4} M n'a aucun effet sur le tonus bronchique, ne potentialise pas l'effet bronchoconstricteur de la sérotonine ou de l'histamine. Associée à la SAH, l'adénosine antagonise l'effet inhibiteur de la SAH sur le bronchospasme (fig. 4).

DISCUSSION

La S-adénosyl-L-homocystéine (SAH), analogue structural de l'adénosine, n'a pas d'effet propre sur le tonus bronchomoteur du cobaye anesthésié. Par contre, lorsqu'elle est injectée par voie intraveineuse préalablement aux substances bronchoconstrictives, la SAH potentialise l'effet bronchoconstricteur de la sérotonine et de l'histamine. Lorsque la SAH est administrée par voie inhalatoire, elle a un effet inverse c'est-à-dire inhibiteur sur le bronchospasme induit par la sérotonine. L'effet est dépendant de la dose. Ce dernier, enfin, est antagonisé par l'administration simultanée d'adénosine évoquant une possible compétition par analogie structurale. Les propriétés pharmacologiques de la SAH ont été principalement étudiées dans le domaine neurophysiologique. Cette molécule a des propriétés anticonvulsivante et inductrice de sommeil paradoxal [12, 13]. Au cours

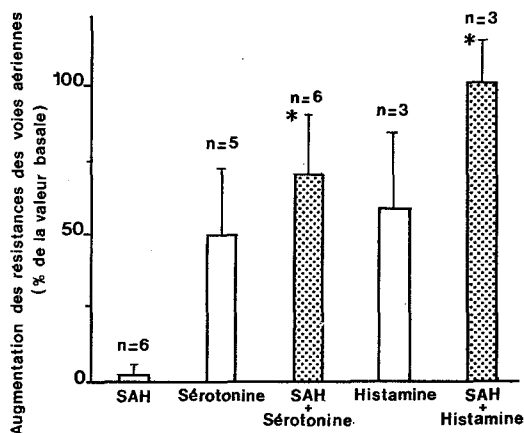


Fig. 1. — Effet de la SAH administrée par voie intraveineuse sur l'effet bronchoconstricteur de l'histamine ou de la sérotonine chez le cobaye anesthésié au pentobarbital (30 mg/kg par voie intrapéritonéale). La SAH (0,5 mg/kg) potentialise l'action bronchoconstrictrice de la sérotonine (200 µg/kg) ou de l'histamine (100 µg/kg). n : nombre de cobayes par expérience. Astérisque : $p < 0,05$.

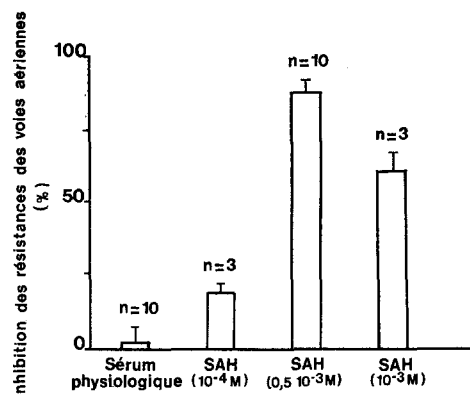


Fig. 2. — Effet de la SAH administrée par voie inhalatoire sur l'effet bronchoconstricteur de la sérotonine, chez le cobaye anesthésié au pentobarbital. L'inhibition des résistances des voies aériennes est exprimée en pourcentage de la valeur des résistances obtenues après l'injection de sérotonine. La SAH administrée par aérosol inhibe le bronchospasme induit par la sérotonine (200 µg/kg par voie iv) chez le cobaye anesthésié. n : nombre de cobayes par expérience.

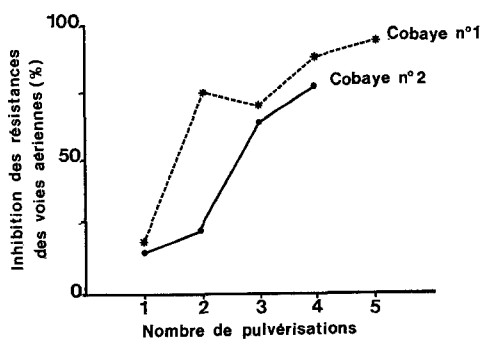


Fig. 3. — Effet cumulatif de plusieurs doses inhalées de SAH vis-à-vis de l'effet bronchoconstricteur d'une dose unique de sérotonine. La SAH administrée par voie inhalatoire ($2,5 \times 10^{-4}$ M) réduit le bronchospasme induit par la sérotonine (200 µg/kg par voie iv). Un intervalle de 5 minutes est respecté entre chacune des pulvérisations de SAH. La réduction de l'effet bronchoconstricteur de la sérotonine augmente avec le nombre de pulvérisations.

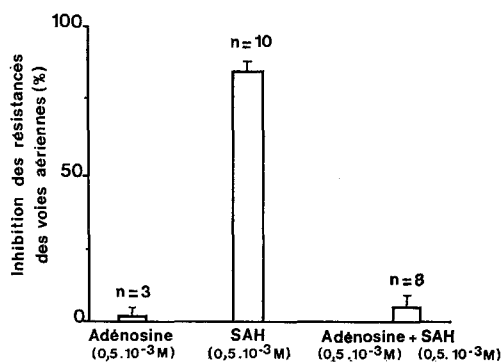


Fig. 4. — Inhibition par l'adénosine de l'effet inhibiteur de la SAH sur le bronchospasme sérotoninergique chez le cobaye anesthésié par le pentobarbital. L'adénosine n'a pas d'effet modulateur propre du bronchospasme induit par la sérotonine (200 µg/kg par voie iv). Par contre elle antagonise l'effet inhibiteur de la SAH (obtenu à $0,5 \times 10^{-3}$ M).

des études de tolérance de cette substance un effet relaxateur de la musculature lisse intestinale avait été constaté (résultat non publié). Sur le plan biochimique la SAH inhibe les réactions de transméthylation et en particulier celle des phospholipides [30], modifie la capture des catécholamines [11], peut se fixer sur les récepteurs A_2 de l'adénosine [28]. En se fixant sur ces derniers récepteurs la SAH se comporte comme une substance agoniste stimulant le récepteur et donc augmentant la production d'AMP cyclique cytoplasmique.

L'adénosine est un nucléotide purique qui se forme soit pendant le métabolisme de l'adénosine triphosphate (ATP) soit lors de l'hydrolyse de la S-adénosyl-L-homocystéine, un dérivé des réactions de méthylation intracellulaire [18].

Un rôle possible de l'adénosine dans l'asthme a été envisagé à la suite de la constatation que la théophylline à niveaux thérapeutiques annihilait l'activité de l'adénosine au niveau du récepteur [14]. La libération in vitro de l'adénosine à partir des cellules mastocytaires est documentée chez la souris et le rat [23]. L'adénosine accroît la libé-

ration de médiateurs préformés à partir des mastocytes et des basophiles [6]. L'adénosine stimule la libération d'histamine induite par les anti IgE sur cellules mastocytaires pulmonaires humaines dispersées [19]. L'inhalation d'adénosine entraîne chez l'asthmatique, mais pas chez le sujet normal une bronchoconstriction qui dépend de la concentration [8, 21]. Mais certains résultats concernant l'effet de l'adénosine sur les voies aériennes semblent contradictoires. En effet alors que l'adénosine est bronchoconstrictrice chez certaines espèces de rats et chez l'asthmatique, aucun effet n'est observé chez le cobaye [26].

Le mécanisme de la bronchoconstriction est multifactoriel et fait intervenir des phénomènes neurovégétatifs [3], des altérations de l'épithélium bronchique [4], et des anomalies du système immunitaire de la muqueuse bronchique [15]. L'intrication entre ces différentes composantes rend complexe l'interprétation de l'effet pharmacologique d'une substance inhalée. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer l'action antagoniste de la SAH par voie inhalatoire sur le bronchospasme expérimental. La SAH pourrait agir au niveau de la musculature lisse bronchique soit en antagonisant l'action des substances bronchoconstrictives, soit en renforçant l'activité du système bronchodilatateur non adrénergique non cholinergique. Un effet relaxateur de la musculature lisse de l'intestin grêle a été observé avec cette molécule chez le chien et le rat (M. Roche résultats non publiés). L'action de la SAH peut également être envisagée au niveau des terminaisons nerveuses de l'épithélium bronchique. Cette molécule présente des analogies structurales avec l'adénosine et l'ATP (fig. 5) ; l'ATP a été décrit comme un « coneuromédiateur » de la noradrénaline et se comporte comme un antagoniste au niveau des récepteurs purinergiques P_1 présynaptiques [20]. Enfin, la SAH pourrait également agir au niveau du système immunitaire intrabronchique en diminuant la libération de substances bronchoconstrictives telles que l'histamine ou à potentialité inflammatoire telle que les radicaux libres de l'oxygène. Dans ce sens, Pacheco et coll. ont montré que la SAH pouvait antagoniser l'histamine libération à partir des leucocytes humains [24] et inhiber la production de radicaux libres de l'oxygène (résultats non publiés).

D'un point de vue biochimique, différents niveaux d'impact peuvent être évoqués pour expliquer l'action de la SAH. La SAH inhibe la méthylation des phospholipides membranaires [9] étape biochimique qui joue un rôle important dans les processus de transmission de messages transmembranaires et dans la qualité de l'expression de certains récepteurs (B adrénergique par exemple) [17, 29]. La SAH, par son analogie structurale

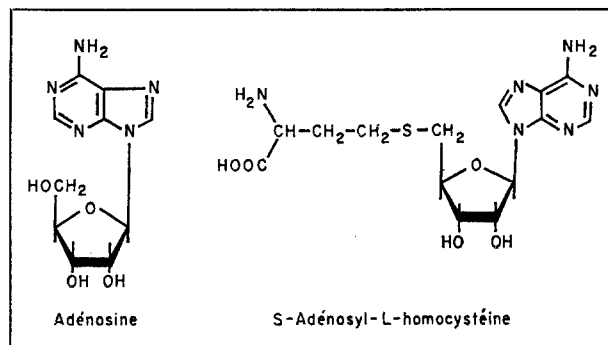


Fig. 5. — Formules développées de l'adénosine et de la S-adénosyl-L-homocystéine.

avec l'adénosine, pourrait également agir sur l'un des récepteurs spécifiques de cette substance que l'on trouve, non seulement sur le tissu nerveux, mais aussi sur les cellules du système immunitaire [22]. La SAH se comporte comme un agoniste des récepteurs A_2 de l'adénosine. Elle pourrait donc stimuler, par l'intermédiaire de ce type de récepteur, la fabrication d'AMP cyclique et ne partager avec l'adénosine que certaines de ses propriétés.

Elle pourrait, entre autre, moduler comme l'adénosine l'action des cellules immunitaires à activité pro-inflammatoire [16, 27]. Mais on peut également envisager pour cette molécule un antagonisme compétitif de l'adénosine et un effet réducteur des effets biochimiques inducteurs de bronchoconstriction de cette dernière [1].

En ce qui concerne les effets contradictoires observés avec les voies d'administration intraveineuse et inhalatoire de la SAH, certaines hypothèses peuvent être avancées. Il est en particulier possible de faire intervenir une action de cette molécule sur le tonus vasculaire, l'adénosine ayant des propriétés vasodilatatrices. Une telle contradiction n'est pas propre à la SAH, car des effets opposés ont été également décrits pour l'adénosine, selon qu'elle est administrée par voie intraveineuse avec un effet bronchoconstricteur chez le rat [25], ou qu'elle est administrée par voie inhalatoire sur voies aériennes précontractées de cobaye avec un effet bronchodilatateur [2, 5].

En conclusion, la SAH semble douée d'un effet protecteur vis-à-vis du bronchospasme expérimental induit chez le cobaye par la sérotonine. Cette constatation expérimentale pourrait conduire à une tentative d'utilisation thérapeutique de cette substance chez l'homme dans le cadre de l'asthme ou de l'hyperréactivité bronchique.

Remerciements

Ce travail a bénéficié d'un soutien financier de l'Institut Mérieux.

REFERENCES

1. Advenier C., Bidet D., Floch-Saint-Aubin A., Renier A. — Contribution of prostaglandins and thromboxanes to the adenosine and ATP induced contraction of guinea pig isolated trachea. *Br. J. Pharmacol.*, 1982, 77, 39-44.
2. Advenier C., Devillier P.H., Matran R., Naline E. — Influence of epithelium on the responsiveness of guinea pig isolated trachea to adenosine. *Br. J. Pharmacol.*, 1988, 93, 295-302.
3. Barnes P.J. — Neural control of human airways in healthy and disease. *Am. Rev. respir. Dis.*, 1986, 134, 1289-1314.
4. Bouschey H.A., Holtzman M.J., Sheller J.R., Nadel J.A. — Bronchial hyperreactivity. *Am. Rev. respir. Dis.*, 1980, 121, 389-412.
5. Brown C.M., Ollis M.G. — Evidence for an A_2 /Ra adenosine receptor on the guinea pig trachea. *Br. J. Pharmacol.*, 1982, 76, 381-387.
6. Church M.K., Hughes P.J. — Adenosine potentiates immunological histamine from rat mast cells by a novel cyclic AMP independent cell surface action. *Br. J. Pharmacol.*, 1985, 85, 3-5.
7. Cushley M.J., Tattersfield A.E., Holgate S.T. — Inhaled adenosine and guanosine on airway resistance in normal and asthmatic subjects. *Br. J. clin. Pharmacol.*, 1983, 15, 161-165.
8. Cushley M.J., Holgate S.T. — Adenosine-induced bronchoconstriction in asthma: role of mast cell mediator release. *J. Allergy clin. Immunol.*, 1985, 75, 272-278.
9. Fonlupt P., Rey C., Pacheco H. — Phosphatidylethanolamine methylation in membranes from rat cerebral cortex: effect of exogenous phospholipids and S-adenosylhomocysteine. *Biochem. biophys. Res. Commun.*, 1981, 100, 1720-1726.
10. Fonlupt P., Rey C., Pacheco H. — SAH analogs, modified in the aminoacid region, inhibitors of phosphatidylethanolamine methylase activity and ^{3} H-SAH binding to rat brain membranes. *Life Sci.*, 1982, 31, 655-659.
11. Fonlupt P., Roche M., Cronenberger L., Pacheco H. — Activation by S-adenosylhomocysteine of norepinephrine and serotonin in vitro uptake in synaptosomal preparations from rat brain. *Experientia*, 1979, 35, 1089-1090.
12. Fonlupt P., Roche M., Cronenberger L., Pacheco H. — La S-adenosyl-L-homocystéine-1. Inductrice de sommeil. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1980, 58, 160-166.
13. Fonlupt P., Roche M., Cronenberger L., Pacheco H. — La S-adenosyl-L-homocystéine-2. Anticonvulsive. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1980, 58, 493-498.
14. Fredholm B.B. — Are methylxanthine effects due to antagonism of endogenous adenosine. *Trends Pharmacol. Sci.*, 1980, 1, 129-132.
15. Hargreave F.E., Dolovich J., O'Byrne P.M., Ransdale E.H., Daniel E. — The origine of airway hyperresponsiveness. *J. Allergy. clin. Immunol.*, 1986, 78, 825-832.
16. Hillyard P.A., Nials A.T., Skidmore I.F., Vardey C.J. — Characterization of the adenosine receptor responsible for the inhibition of histamine and SRS-A release from human lung fragments. *Br. J. Pharmacol.*, 1984, 83, 337-345.
17. Hirata F., Axelrod J. — Phospholipid methylation and biological signal transmission. *Science*, 1980, 209, 1082-1090.
18. Hoffman D.R., Marion D.W., Cornalzer W.E., Duerre J.A. — Adenosylmethionine and 5-adenosylhomocysteine metabolism in isolated rat liver. Effects of L-methionine, L-homocysteine and adenosine. *J. biol. Chem.*, 1980, 255, 10822-10827.
19. Hughes P.J., Holgate S.T., Church M.K. — Adenosine inhibits and potentiates IgE independent histamine release from human lung mast cells by an A_2 purinoceptor mediated mechanism. *Biochem. Pharmacol.*, 1984, 33, 3847-3852.
20. Katsuragi T., Furukawa T. — Novel, Selective purinoceptor antagonists: investigation of ATP as a neurotransmitter. *TIPS*, 1985, 337-339.
21. Mann J.S., Holgate S.T., Renwick A.G., Cushley M.J. — Airway effects of purine nucleosides and nucleotides and release with bronchial provocation in asthma. *J. appl. Physiol.*, 1986, 61, 1667-1676.
22. Marone G., Petrcaca R., Vigorita S. — Adenosine receptors on human inflammatory cells. *Int. Arch. Allergy appl. Immunol.*, 1986, 77, 259-263.
23. Marquardt D.L., Gruber H.E., Wasserman S.I. — Adenosine release from stimulated mast cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1984, 81, 192-196.
24. Pacheco Y., Macovschi O., Biot N., Fonlupt P., Perrin-Fayolle M., Pacheco H. — Modulation by S-adenosyl-methionine and S-adenosyl-homocysteine of the human leukocytes histamine release. *Clin. Allergy*, 1984, 14, 37-43.
25. Pauwels R., Van der Straeten M. — The bronchial effects of adenosine in the rat. *Arch. int. Pharmacodyn. Ther.*, 1986, 280 (suppl.), 229-239.
26. Pauwels R. — The role of adenosine in bronchial asthma. *Bull. eur. Physiopathol. respir.*, 1987, 23, 203-208.
27. Riches D.W.H., Watkins J.L., Henson P.M., Stanworth D.R. — Regulation of macrophage lysosomal secretion by adenosine, adenosine phosphate esters, and related structural analogues of adenosine. *J. Leukocyte Biol.*, 1985, 37, 545-557.
28. Sarda N., Gharib A., Reynaud D., Ling O.U., Pacheco H. — Identification of adenosine receptor in rat pineal gland. Evidence for A-2 selectivity. *J. Neurochem* (in press).
29. Sirois P., Lauzierem, Braquet P. — Further studies on the mechanism of action of leukotrienes and histamine on guinea pig lung parenchyma. Role of calcium, phospholipase and methyltransferase. *Prostaglandins*, 1986, 31, 1117-1133.
30. Ueland M. — Pharmacological and biochemical aspects of S-adenosylhomocysteine and S-adenosylhomocysteine hydrolase. *Pharmacol. Rev.*, 1982, 34, 223-253.

■ ■ ■