La kisspeptine : une nouvelle voie pour maitriser l'ovulation chez les petits ruminants ?

Massimiliano Beltramo, V. Aucagne, R. Vincent, M. Galibert, J.B. Madinier, Didier Lomet, A. Delmas, Alain Caraty

▶ **To cite this version:**

Massimiliano Beltramo, V. Aucagne, R. Vincent, M. Galibert, J.B. Madinier, et al.. La kisspeptine : une nouvelle voie pour maitriser l'ovulation chez les petits ruminants ?. 5. Journées d'Animation Scientifique du département Phase (JAS Phase 2013), Oct 2013, Paris, France. 2013. hal-02805330

HAL Id: hal-02805330
https://hal.inrae.fr/hal-02805330

Submitted on 6 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

La kisspeptine : une nouvelle voie pour maitriser l'ovulation chez les petits ruminants ?

Beltramo M. [1], Aucagne V. [2], Vincent R. [1], Galibert M. [2], Madinier J.-B.[2], Lomet D. [1], Delmas A. [2], Caraty A[1].

[1]UMR Physiologie de la Reproduction et des Comportements (INRA, UMR85 ; CNRS, UMR7247, Université François Rabelais Tours, IFCE) F-37380 Nouzilly, France ;
[2] UPR CNRS 4301 Centre de Biophysique Moléculaire (CBM)

Introduction

La découverte de la kisspeptine (KP) a été une avancée majeure pour comprendre les mécanismes qui permettent le contrôle central de la reproduction. Chez les mammifères, l'injection périphérique de la KP10 induit une augmentation de la sécrétion de la GnRH (gonadotropin releasing hormone) suivie par une augmentation de la concentration plasmatique de la LH. Nous avons démontré qu'une infusion continue de KP10 pendant l'anoestrus permet de réactiver l'axe hypothalamo-hypophyse-gonade et d'induire une ovulation. Ces résultats montrent l'extrême intérêt de ce système comme outil possible pour maitriser la reproduction. Néanmoins les différentes formes endogènes de la KP (KP54, KP16, KP14, KP13 et KP10, toutes dérivées de la forme la plus longue, KP54) ont une demi-vie *in vivo* très courte et ne sont donc pas utilisables pour des applications qui demandent une stimulation prolongée. Pour pallier ce problème, nous avons commencé un programme visant à la production d'analogues de la KP avec une durée d'action prolongée.

Matériels et méthodes

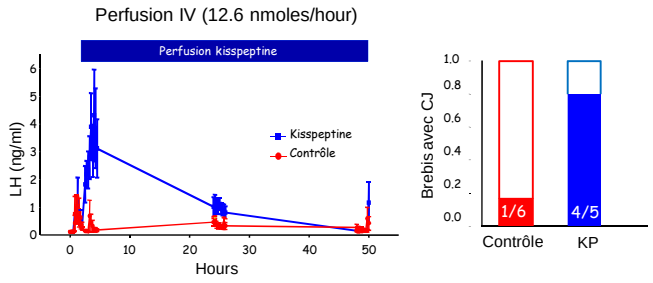
Les analogues de la kisspeptine ont été générés par synthèse peptidique sur phase solide en stratégie Fmoc/tBu.

La puissance des analogues a été évaluée par un test de mobilisation du calcium intracellulaire sur une lignée HEK293 transfectée avec le récepteur de la kisspeptine (GPR54).

Le test de dégradation dans le sang a été effectué avec du sérum de brebis. Les analogues à analyser ont été mis en solution dans de l'eau milliQ en présence d'un calibrant interne (L-phénylalaninol), préchauffés et incubés à 39 °C dans le sérum. Le suivi de la cinétique de dégradation a été fait en prélevant, à différents temps donnés, des échantillons. Les échantillons ont été traités avec de l'acétonitrile pour précipiter les protéines du sérum et par la suite analysés par HPLC.

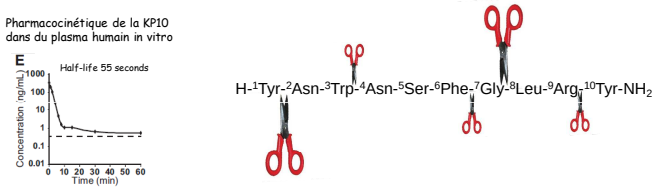
Les tests de stimulation de la sécrétion de la LH ont été réalisés en saison d'anoestrus sur des brebis Ile de France âgées de 3-5 ans et maintenues en conditions de photopériode naturelle. Le jour avant le test un cathéter a été posé dans la veine jugulaire de l'animal et, le jour du test, le composé à tester a été injecté dans le cathéter. Avant et suivant l'injection du composé, des prélèvements de sang ont été effectués à des intervalles variables entre 10 min et 1 h, pendant une durée comprise entre 3 h et 30 h. Les échantillons de sang ont été centrifugés, et le plasma stocké à -20 °C jusqu'à son utilisation pour mesurer la concentration de LH, en suivant une méthode RIA décrite dans la littérature (Caraty et al., 2007).

1. Une perfusion prolongée de la KP induit l'ovulation



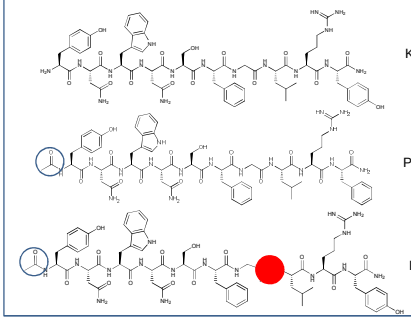
Caraty et al., 2007

2. La KP est rapidement dégradée



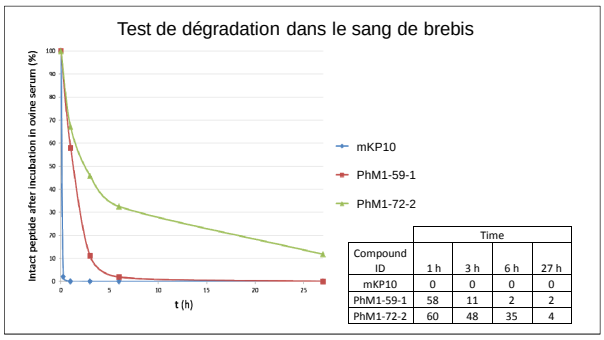
Sites de dégradation enzymatique de la KP10

3. Synthèse d'analogues de la KP10



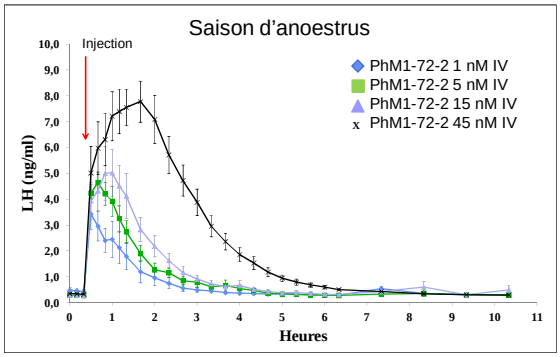
KP10	EC_{50} = 2.5 nM
PhM1-59-1	EC_{50} = 0.1 nM
PhM1-72-2	EC_{50} = 0.1 nM

4. Les analogues sont très résistants à la dégradation



Compound ID	Time 1 h	3 h	6 h	27 h
mKP10	0	0	0	0
PhM1-59-1	58	11	2	2
PhM1-72-2	60	48	35	4

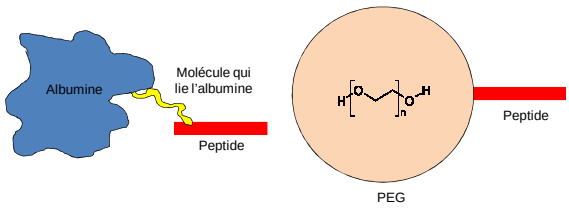
5. Les analogues augmentent la durée du pic de LH



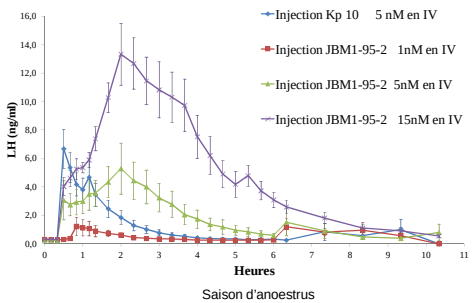
6. Le problème de l'excrétion rénale

Stratégie pour réduire l'excrétion rénale:

- Augmenter l'affinité pour l' albumine
- Conjugaison avec une molécule qui lie l'albumine: acide gras



7. La réduction de l'excrétion rénale améliore la durée d'action



Saison d'anoestrus

Conclusions

- Grâce à des modifications ciblées des sites de dégradation enzymatique et à la réduction de l'excrétion rénale nous avons pu créer des analogues de la kisspeptine qui ont une puissance accrue et une meilleure pharmacocinétique.
- Ces analogues produisent après une seule injection une augmentation du niveau plasmatique de la LH très prolongée par rapport à la kisspeptine.
- Ces résultats suggèrent que les analogues que nous sommes en train de développer pourraient être utilisés en alternative aux traitements hormonaux actuellement utilisés pour induire l'ovulation en saison d'anoestrus. Une demande de brevet à été deposée.