République Algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
École Nationale Supérieure vétérinaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة

ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE VÉTÉRINAIRE

Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

LA LEPTINE ET LA REPRODUCTION CHEZ LES MAMMIFERES

Présenté par : TEMMAR Hafsa.

Soutenu le : 30/06/2018.

Devant le jury composé de:

- Président : Dr. HACHEMI Amina	Maître Assistant A (ENSV)
- Promoteur : Dr. MIMOUNE Nora	Maître de Conférences A (ENSV)
- Examinateur 1: Dr. BAAZIZI Ratiba	Maître de Conférences B (ENSV)
- Examinateur 2: Dr. ADDAD Salah Eddine	Docteur Vétérinaire

Année universitaire : 2017/2018

Remerciement

Louange à ALLAH seigneur de l'univers le tout puissant qui m'a donnée le courage et la patience pour réaliser ce travail.

Je tiens tout d'abord à remercier Mme MIMOUNE Nora Maître de conférences à ENSV pour avoir accepté d'encadrer et de diriger ce travail, et pour ces conseils, son soutien et son encouragement qui était la source généreuse de l'aide tout au long de ce travail.

Mes remerciements vont également à Mme HACHEMI Amina Maître Assistant à ENSV d'avoir accepté d'être Président de jury de ce mémoire.

Je tiens à remercier également M. ADDAD Salah Eddine (Docteur vétérinaire) et Mme BAAZIZI Ratiba Maître de Conférence à ENSV d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie également Yacine le bibliothécaire pour son aide et sa disponibilité.

Enfin, je remercie tous mes enseignants qui m'ont suivie le long de mes études. Un merci chaleureux de votre aide et de vos conseils, veuillez trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance et de ma vive gratitude.

.

dédicace

Au nom D'ALLAH le tout puissant et le très miséricordieux que par sa grâce j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A ma très chère maman, autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu as inculqué le sens de l'optimisme et de la confiance en soi, tu m'as comblé avec tendresse et affection tout au long de mon parcours, tu étais toujours la maman, le papa et l'amie. En ce jour mémorable pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vie reconnaissance et mon profond estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie.

A la mémoire de mon cher papa, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jours et nuit pour mon éducation et mon bien être. Paix a ton âme.

A mon frère ABDOU et mes sœurs :manou,mellalo,roki,fifi,ramou,et ma sousame qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.

A ma ZINA qui a été mon dynamisme et mon soutien durant mon cursus.

A mon très cher oncle MUMUS qui était toujours notre soutien, mon exemple de bravoure et de persévérance.

A mes neveux et nieces :Zozo,Sohaib,Feras,Asma,Sarah,Adem,Amira,Ines et Idriss malgré toutes vos bêtises je vous aime .

A mon amour Yacine, qui a été toujours mon soutien, ma source de bonheur, d'amour et de réconfort, avec qui j'ai passé des années inoubliables et qui a pu transformer la galère des études en un véritable moment de bonheur et de joie.

A mes chères copines :Hadjer(HTY) ma jumelle d'amour , ,dabdoubti Ihsen (ترى ى ى),mon adorable Ikram, Rayene,Lynda, Meriyouma ,Yasmine et Amina avec lesquelles j'ai passé des moments de joie et de folie , je vous aime tellement et à Yacine akagami aussi.

A mon adorable Soyette , ma boule de poils qui a été ma source de bonheur et de tendresse.

A mes amis de l'ENSV, mon groupe 9 « fateh et fatiha » et team girls (Yasmine,Dihya,Souad et Adel) avec qui j'ai passé des moments inoubliables.

A tous ceux qui m'ont aidée, soutenue et encouragée de près ou de loin.

SOMMAIRE

INTRODUCTION 1

CHAPITRE 1: GENERALITES SUR LA LEPTINE

I. La découverte de la leptine : 2

II. Description 4

III. STRUCTURE DE LA LEPTINE 5

III.1. Structure primaire de la leptine 5

III.2 Structure secondaire 5

III.3 Structure tertiaire 6

IV. LE GENE DE LA LEPTINE 7

IV.1. Situation 7

IV.2. Clonage et caractéristiques du gène 7

V. Le récepteur de la leptine 8

V.1. La découverte du récepteur de la leptine 8

V.2. Les différentes isoformes du récepteur de la leptine : 10

V.2.a L'isoforme longue ObRb 11

V.2.b Les isoformes courtes 12

V.2.c L'isoforme circulante ObRe 12

VI. VOIES DE SIGNALISATION INDUITES PAR LA LEPTINE 13

VII. Régulation de la synthèse de leptine et de son elimination 15

VII.1. Niveaux plasmatiques de leptine et nutrition 15

VII.2. Sécrétion de leptine et rythmes biologiques 16

VII.2.a Rythme circadien 16

VII.2.b Rythme ultradien 17

VII.3. Transport et distribution dans l'organisme 20

VII.4. Elimination de la leptine 22

CHAPITRE 2: ROLES DE LA LEPTINE DANS LA REPRODUCTION

I. INTRODUCTION 23

II. LEPTINE ET NEURONES DE LA GnRH 24

III. LEPTINE ET HYPOPHYSE : ACTION SUR LES GONADOTROPHINES 26

IV. LEPTINE ET GONADES 27

IV.1. Leptine et ovaires 28

IV.1.1. Récepteur 28

IV.1.2. La leptine induit le développement folliculaire chez des souris 28

IV.1.3. Leptine induit l'ovulation chez les souris 30

IV.1.4. L'action sur les hormones ovariennes 31

IV.2. Leptine et testicules 32

V. LEPTINE ET PUBERTE 33

VI. LEPTINE ET GESTATION 33

VI.1. Leptinémie pendant la gestation 33

VI.2. Leptine et développement foetal 34

VI.3. Leptine amniotique 35

VI.4. Leptine placentaire 35

VII. LEPTINE ET PERIPARTUM 38

VIII. LEPTINE ET REPRODUCTION POSTPARTUM 39

IX. LEPTINE ET LACTATION 39

X. ROLES DE LA LEPTINE LORS DE MAMMITES ET DE METRITES 40

XI. LEPTINE ET ANOESTRUS SAISONNIER 41

CONCLUSION 42

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Liste des figures

Figure01: Les expériences de parabiose (circulation croisée) entre souris normales ……4

souris ob/ob et souris db/db .

Figure02: Structure primaire de la leptine……... 5

Figure 03: Structure secondaire schématique de la leptine…… 5

Figure 04: Structure tertiaire schématique de la……. 6

Figure 05: Structure tertiaire……... 7

Figure06: Taille et caractéristiques des gènes *obese* murin et humain……... 9

Figure 7: Les différentes isoformes du récepteur de la leptine…….. 12

Figure 8: La voie de signalisation STAT…… 15

Figure 9: Évolution du taux plasmatique de leptine sur 24h, chez l'homme……. 18

Figure 10: Rythme ultradien de la sécrétion de leptine chez le rat…… 19

Figure 11: Facteurs induisant une augmentation des taux plasmatiques de leptine…… 20

Figure 12: Facteurs induisant une diminution des taux plasmatiques de leptine……20

Figure 13: Expériences de la découverte de la leptine…… 24

Figure 14: Les noyaux hypothalamiques impliqués dans l'homéostasie énergétique……..25

Figure15: Induction de la libération de GnRH par la leptine au niveau de l'hypothalamus…….. 26

Figure16: Anatomie de l'hypophyse……... 27

Figure 17: Présence des CJ chez les souris hypogonadiques après le traitement hormonal…… 30

Figure 18: induction de l'ovulation par la leptine…… 31

Figure19: Immunolocalisation de la leptine et de son récepteur dans le placenta de porc au 100éme jour de gestation et de placenta ovin 128eme jour de gestation……37

Figure20: Les rôles possibles de la leptine dans l'interface foeto-maternelle…… 38

Figure 21: Comparaison entre les concentrations plasmatiques de la leptine……. 42

des juments à activité ovarienne continue par rapport à celles ayant un anoestrus hivernal.

Liste des abréviations

Aa Acide Aminé

ADNc ADN complémentaire

AgRP les neurones Agouti-connexes

AMPK mitogen-activated protein kinase)

AN anorexies nerveuses

AND Acide désoxyribonucléique

ARN Acide ribonucléique

ARNm ARN messager

BHE Barrière hémato-encéphalique

CART cocaine-and amphetamine-related transcript

db/db Souris *diabetes*

FSH hormone folliculostimulante

G-CSF granulocyte colony stimulating factor

GH Hormone de croissance

GnRH Gonadolibérine Releasing Hormone

hCG hormone chorionique gonadotrope

HHG hypothalamo-hypophysogonadique

HPG hypothalamus-pituitaire-gonadique

IGF-l insulin growth factor

IRS insulin receptor substrate

JAK Janus kinase

Kb kilobase

KD kilodalton

KO knock-out

LCR léquide céphalorachidien

LH hormone lutéinisante

LIF Leukaemia Inhibitory Factor

LIF-R Leukaemia Inhibitory Factor receptor

MAPK mitogen-activated protein kinase

NPY le neuropeptide Y

ob/ob Souris obese

ObR Récepteur de la leptine

Pb paire de base

PI3K phosphatidylinositol 3-kinase

PMSG pregnant mare serum gonadotropin

POMC pro-opiomelanocortin

PTP1B Protéine Tyrosine Phosphate 1B

SNC systéme nerveux central

SOCS-3 Suppressor-Of-Cytokine Signaling 3

STAT Signal Transducer and Activator of Transcription

Introduction générale

Chez les mammifères, la fonction reproductive est strictement dépendante des disponibilités énergétiques environnementales. Il est bien connu que des modifications aiguës de l'état métabolique sont capables d'altérer la fonction de l'axe hypothalamo-hypophysogonadique (HHG). Dans plusieurs modèles animaux et chez l'homme, le jeûne et la restriction calorique déterminent la suppression rapide de la sécrétion pulsatile de l'hormone lutéinisante (LH) et l'hormone folliculostimulante (FSH). Un tel mécanisme prévient probablement la dépense d'énergie dans des conditions où le succès reproductif est très improbable. Par ailleurs, le stockage excessif des réserves métaboliques, notamment dans le cas de l'obésité, interfère aussi avec une régulation correcte de l'axe reproductif. Dans le cadre de ces interactions délicates avec l'environnement, l'état métabolique et la fonction reproductive, le tissu adipeux joue un rôle de relais, informant directement les structures cérébrales supérieures des réserves énergétiques disponibles à travers ses produits de sécrétion. La découverte de la leptine et de son récepteur ainsi que l'existence de modèles animaux de déficience ou de résistance à la leptine ont beaucoup apporté à la compréhension des relations entre réserves d'énergie, tissu adipeux et fonction reproductive. Par ailleurs, les centres de contrôle hypothalamiques de l'axe reproductif sont localisés à proximité des centres anatomiques qui contrôlent la faim.

En Algérie très peu de connaissances sont actuellement disponibles sur la leptine et son rôle dans la reproduction.

De ce fait, nous nous sommes intéressées à réaliser une étude bibliographique sur la leptine et ces effets sur la reproduction.

Chapitre 1 :

Généralités sur la leptine

I. LA DECOUVERTE DE LA LEPTINE

Dans sa façon de se nourrir au quotidien, l'individu alterne entre phase d'alimentation et phase de jeûne. D'un jour à l'autre, la quantité d'aliments ingérés ainsi que leurs compositions peuvent varier considérablement, sans que la dépense énergétique quotidienne n'évolue en conséquence. Cependant le poids d'un individu reste, d'une manière générale, relativement constant au cours de sa vie d'adulte. Ainsi, le poids d'une femme augmente en moyenne de onze kilogrammes entre l'âge de 25 ans et 65 ans, pour une prise alimentaire totale sur cette période d'environ vingt tonnes (Hervey, 1969). Il existe donc une régulation fine de la balance énergétique définie par l'équilibre entre prise alimentaire et dépense énergétique (activité physique, métabolisme basal et thermogénèse adaptative). La régulation de cette balance par un système endocrine intégrant les réserves énergétiques est maintenant étudiée depuis plus d'un demi-siècle. Hetherington et Ranson (1942), puis Anand et Brobeck (1951) montrent que, chez le rat, des lésions au niveau de l'hypothalamus induisent un déséquilibre de la balance énergétique. La lésion de l'hypothalamus ventromédian induit une hyperphagie conduisant à une obésité morbide, ainsi qu'une altération de la thermorégulation. La lésion de l'hypothalamus latéral induit une forte réduction de la prise alimentaire conduisant à la mort par « famine » (Hetherington et Ranson1942, Anand et Brobeck,1951). Ces expériences sont les premières démonstrations de l'importance de l'hypothalamus en tant que centre de contrôle de la prise alimentaire et de la dépense énergétique.

Kennedy en développant sa théorie lipostatique est le premier en 1953 à expliquer la constance du poids d'un individu au cours de sa vie par la régulation de la masse adipeuse de l'organisme (Kennedy, 1953). En se basant sur les expériences de lésions hypothalamiques réalisées au cours des années 1940-50, il émet l'hypothèse d'une relation entre la masse adipeuse et le contrôle hypothalamique de la prise alimentaire. L'hypothalamus collecterait des informations relatives à la quantité de masse adipeuse de l'organisme par l'intermédiaire d'un facteur circulant, et régulerait en retour prise alimentaire et dépense énergétique de manière adéquate.

Suite à ces travaux, Hervey réalise en 1959 l'expérience qui allait marquer l'histoire de l'étude de la prise alimentaire. Grâce au processus chirurgical de parabiose, permettant l'union chronique de deux rats vivants en suturant ensemble leur péritoine et leurs muscles (Huff, 1950), il réunit la circulation sanguine d'un rat rendu obèse par lésion

hypothalamique et d'un rat contrôle (Hervey,1959). Suite à cette union, le comportement du rat obèse n'est pas modifié tandis que le rat contrôle cesse de s'alimenter. Hervey suggère alors l'existence d'un facteur de satiété circulant dont la concentration chez le rat obèse devait être augmentée par rapport au rat contrôle. L'absence d'effet observée chez le rat ayant subi une lésion hypothalamique suggère également la présence du récepteur de ce facteur de satiété
circulant au niveau de l'hypothalamus. Cette simple expérience a permis de mettre en place les préceptes de la leptine, dont l'étude, quarante-cinq ans plus tard, est toujours d'actualité.

Les conclusions de Hervey sont ensuite soutenues par la découverte de souris génétiquement obèses, la souris « obese » (ob/ob) et la souris « diabetes » (db/db), caractérisées par une hyperphagie, une dépense énergétique réduite et un syndrome d'obésité morbide. Coleman réalise des expériences de parabiose avec ces deux modèles murins (Coleman ,1973). La parabiose entre souris contrôle et ob/ob provoque une réduction de la masse adipeuse de la souris ob/ob et n'a pas d'effet sur la souris contrôle. La parabiose entre souris contrôle et db/db n'a pas d'effet sur la souris db/db, mais induit cependant une forte réduction de la prise alimentaire chez la souris contrôle (hypophagie), conduisant à sa mort.

La parabiose entre les souris ob/ob et db/db n'induit aucun changement chez la souris db/db ; néanmoins la souris ob/ob devient hypophagique et meurt. Logiquement, Coleman interprète ses résultas de la manière suivante :

les souris ob/ob ne produisent pas le (ou un) facteur de satiété, tandis que les souris db/db le produisent mais y sont insensibles. Il sera démontré plus tard que le gène obese code pour la leptine (Ob) et le gène diabetes pour son récepteur (ObR).

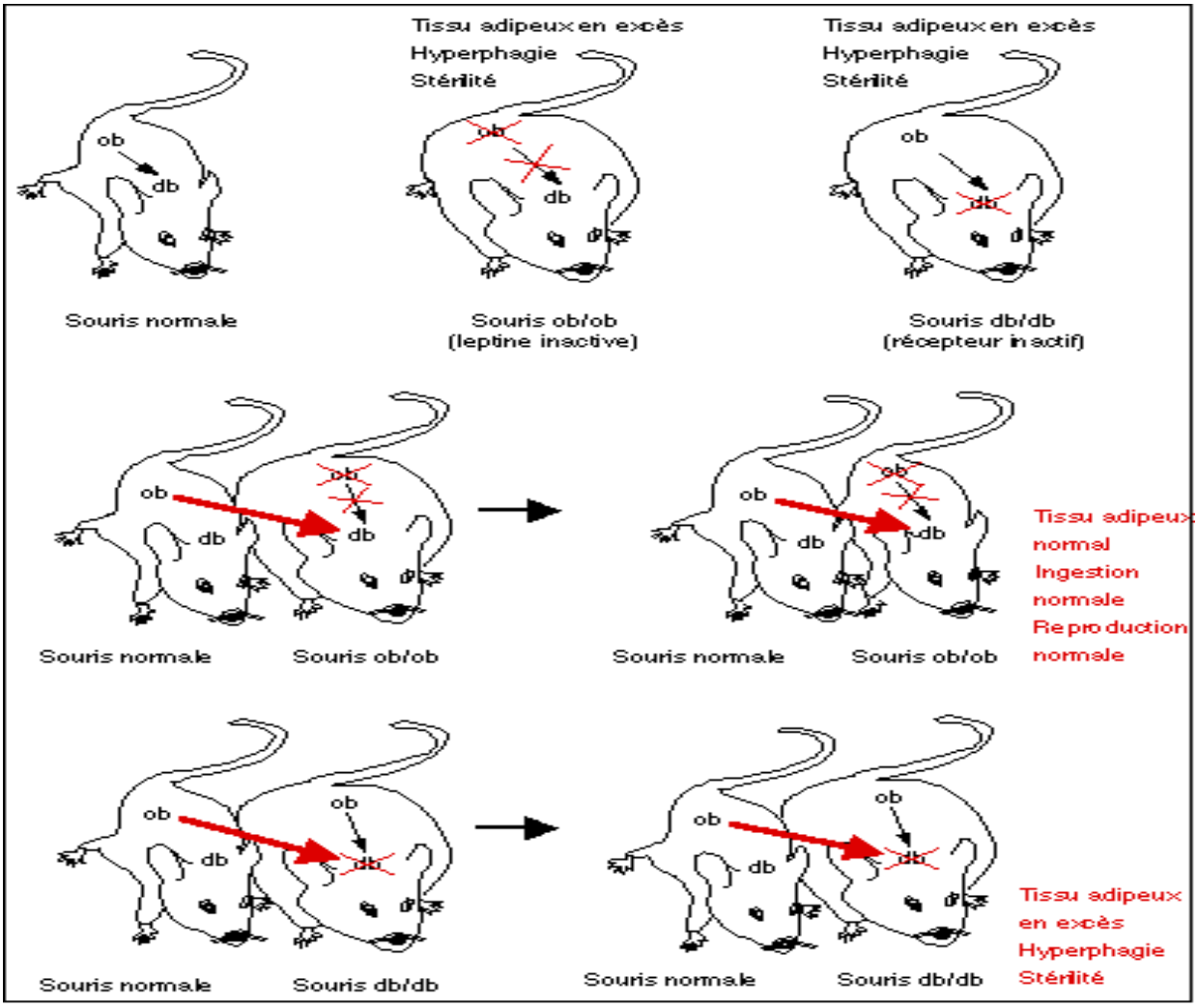


Figure1 : Les expériences de parabiose (circulation croisée) entre souris normales, souris ob/ob et souris db/db (COLEMAN, 1973).

II. DESCRIPTION

Le mot leptine provient de mot « leptos » en grec qui signifie mince. C'est une protéine de 16Kd et 146 acides aminés apparenté à la famille des cytokines (ZHANG et al, 1997) et sa structure ressemble à celle des hormones lactogènes.

C'est une hormone codée par le gène (Ob) (LEP pour le gène humain), produite principalement par le tissu adipeux, mais aussi par le placenta, l'épithélium gastrique, l'ovaire, testicule et les muscles squelettiques.

C'est une hormone qui règle la taille de la masse adipeuse par ses effets sur la prise alimentaire et le métabolisme énergétique : c'est une hormone de satiété.

-Il existe 84% d'homologie entre les leptines animale et humaine connues (BAUDIN ,2000).

III. STRUCTURE DE LA LEPTINE

III . 1. Structure primaire de la leptine

La leptine est composée de 146 acides aminés. Sa structure primaire est représentée dans la **(Figure2)**.

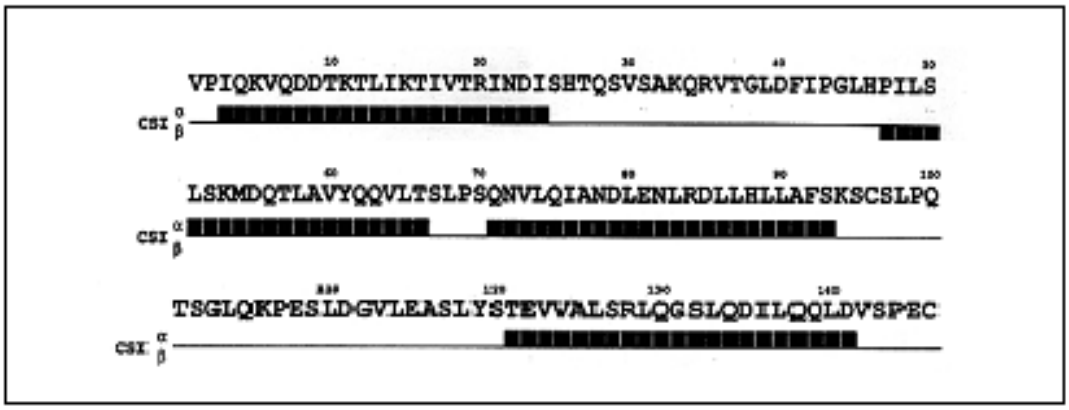


Figure 2: Structure primaire de la leptine d'après (SHALINI et al, 2001).

III .2 Structure secondaire

Les 146 acides aminés de la leptine mature sont agencés de la manière suivante (**Figure 3**) : quatre hélices α (A, B, C et D) reliées par 3 boucles (AB, BC et CD), la boucle CD contenant une petite hélice E (BENEDICTE, 2007).

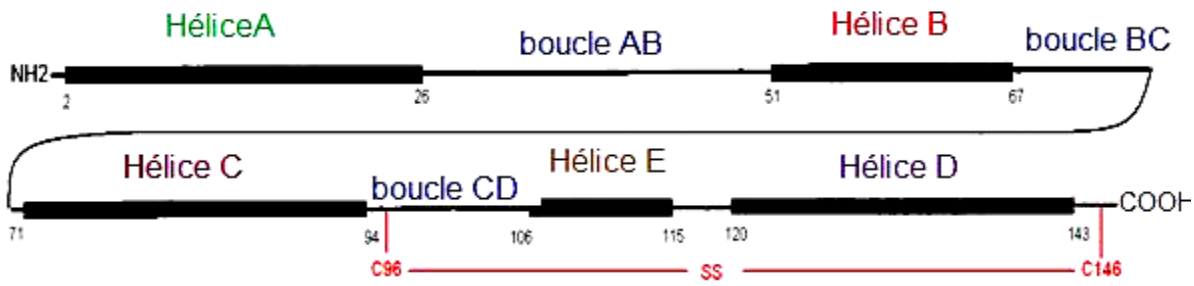


Figure 3: Structure secondaire schématique de la leptine (BENEDICTE, 2007).

III .3 .Structure tertiaire

Une étude cristallographique de la leptine (ZHANG, 1997) a permis de montrer que la leptine était une molécule de forme plutôt hexagonale, allongée, de dimensions 20 x 25 x 45 10-10m (**Figures 4 et 5**). Elle possède 4 hélices antiparallèles. Entre les hélices A, B, C et D, on trouve deux longues séquences AB et CD et une courte séquence BC. On note également la présence de résidus hydrophobes en une haute flexibilité. La leptine aurait donc vraisemblablement une conformation libre différente de sa forme liée.

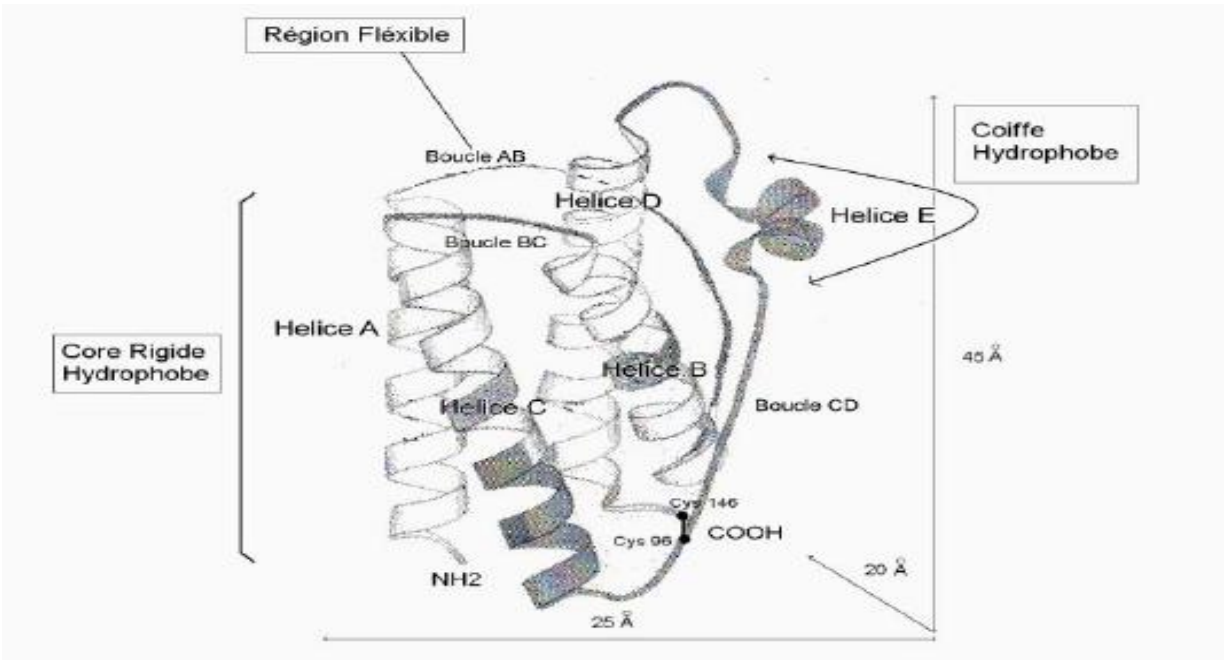


Figure 4: Structure tertiaire schématique de la leptine (BENEDICTE, 2007)

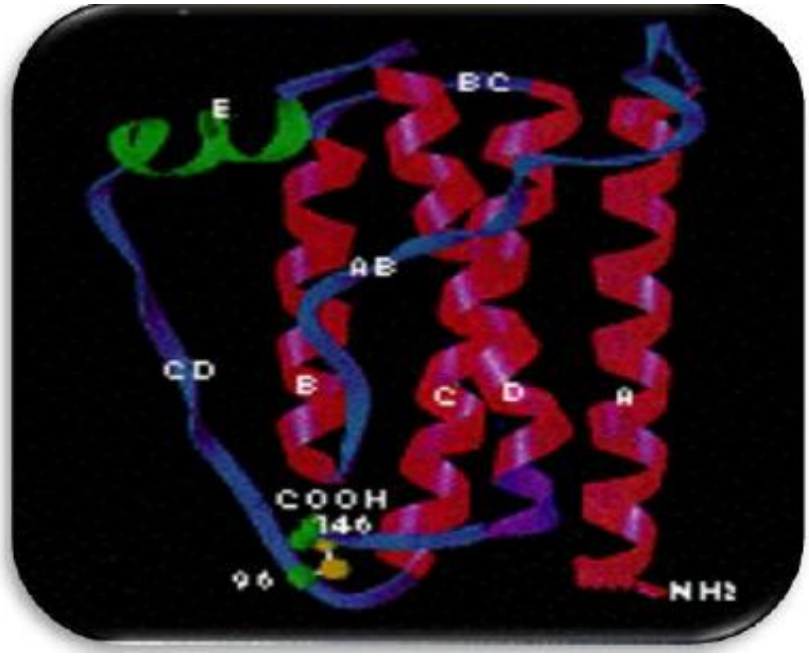


Figure 5: Structure tertiaire (LOIC et al. 2007)

Les quatre hélices (A, B, C, D) sont représentées en rouge (l'extension vrillée de l'hélice D est en violet). Elles forment deux feuillets de paires antiparallèles d'hélices (A et D contre B et C). La courte hélice E (en vert) est quasiment perpendiculaire aux hélices AB CD. Les boucles de connexion (en bleu) AB et CD s'enroulent toutes deux sur la face BD du faisceau d'hélices. La faible densité observée dans la première partie de la boucle AB indique la haute flexibilité de cette région. Malgré l'absence de similitudes de séquences génétiques entre la leptine et d'autres cytokines, il existerait une similitude 3D structurale dans le noyau de 4 hélices de la leptine avec l'IL2, la GH et le LIF (MADEJ et al. 1995).

IV. LE GENE DE LA LEPTINE

IV .1. Situation

Le gène « *obese* », codant pour la leptine, a été identifié pour la première fois en 1994 chez la souris, sur le chromosome 6. Chez l'homme, il est localisé sur le bras long du chromosome 7. Il n'a pas été localisé précisément chez les carnivores domestiques (BENEDICTE, 2007). Chez la vache,

la leptine est codée par un gène localisé sur le chromosome 4. La séquence de la région codante ovine possède respectivement 96, 93, 88, 84 et 82 % d'homologie avec les séquences bovine, porcine, humaine, murine et de rat (CHILLARD et al. 1999).

IV.2. Clonage et caractéristiques du gène

La découverte de la séquence du gène obèse murin (chauve-souris de l'europe) et humain, a été réalisée par l'équipe de FRIEDMAN (ZHANG et al. 1994), en utilisant la technique du clonage, ils retrouvent ainsi une mutation du gène obèse chez les souris ob/ob. La même équipe montre que la protéine Ob est présente dans le plasma et que l'injection de celle-ci chez la souris produit une réduction de la prise alimentaire et de la masse adipeuse (ZHANG et al. 1994).

Le gène obese est composé de 3 exons séparés par 2 introns. La séquence codante de la protéine leptine est localisée au niveau des exons 2 et 3 et code pour un ARNm de 4,5 kb environ chez le rat. Chez la souris, la taille totale du gène obese est de 20 kb. La taille de l'exon 1 est de 26 pb, celle de l'exon 2 (qui possède l'ATG) est de 175 pb et celle de l'exon 3 (qui possède le TGA) est de 2600 pb au minimum. Les introns 1 et 2 mesurent 7,5 et 1,7 kb respectivement (HE et al. 1995) (**Figure 6)**. Il existerait également un autre exon apparemment non traduit localisé entre les exons 1 et 2 et mesurant 93 pb.(HE et al. 1995).

Chez l'homme, le gène obese mesure environ 20 kb. La taille des différents exons chez l'homme et la souris est comparable. Les introns 1 et 2 sont cependant plus grands avec 10 kb et 2,3 kb respectivement (ISSE et al. 1995) **(Figure 6)**.

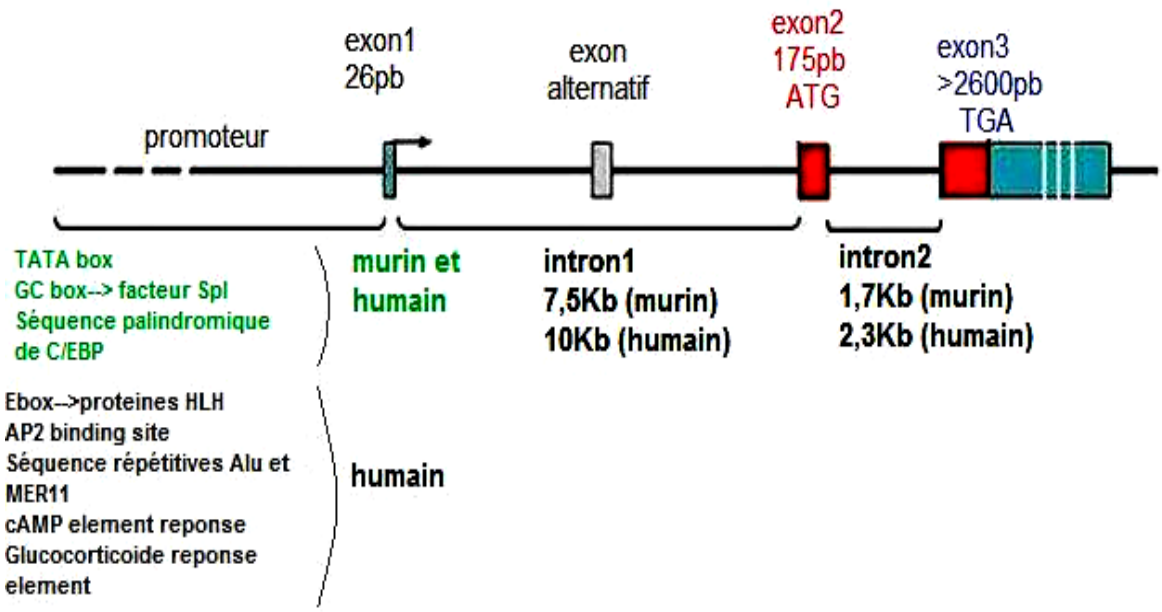


Figure 6: Taille et caractéristiques des gènes *obese* murin et humain (SEBASTIEN, 2007).
La taille exacte du promoteur murin est inconnue, néanmoins un promoteur de 750 pb est considéré comme suffisant pour induire efficacement la transcription, la région située entre les nucléotides 0 et -161 étant primordiale (LANIA et al. 1997).

V. LE RECEPTEUR DE LA LEPTINE

V .1. La découverte du récepteur de la leptine

L'équipe de Tepper a été la première à isoler et cloner le récepteur de la leptine (ObR) en suivant une démarche scientifique particulièrement intéressante (Tartaglia LA et al. 1995).

Ils ont utilisé une banque d'ADN complémentaire (ADNc) construite à partir d'ARNm isolés du plexus choroïde de souris, tissu identifié à l'aide de leptine couplée à la phosphatase alkaline comme exprimant fortement le récepteur de la leptine. Après transfection de combinaisons de plusieurs ADNc de plus en plus restreintes dans des cellules en culture et en utilisant la leptine

marquée à la phosphatase alkaline pour identifier les clones positifs, ils ont finalement isolé un ADNc codant pour une protéine de 894aa.

Le domaine extracellulaire du récepteur cloné par Tartaglia possède de nombreuses similitudes avec les récepteurs de la superfamille des cytokines classe I. Bien que le taux d'homologie de séquence entre ce domaine et celui des autres récepteurs de cytokines ne soit que de 24% environ, ObR possède le motif Trp-Ser-X-Trp-Ser caractéristique de cette famille de récepteur (Kishimoto T et al. 1994). Tout comme les récepteurs de cytokines, ObR présente un domaine membranaire unique composé de vingt-trois résidus. Le domaine intracellulaire de l'ObR isolé par Tartaglia, est étonnamment court par rapport à celui des autres membres de la famille des cytokines de classe I (34 résidus), mais présente néanmoins 47% d'homologie avec le récepteur du LIF (LIF-R). Il possède également un site de fixation de la protéine Janus kinase (JAK) appelé boîte 1, impliqué dans l'activation du récepteur et l'initiation des voies de transduction du signal.

En établissant une carte de la région génétique du gène cloné, Tartaglia et al (1995) ont mis en évidence une localisation proche du locus du gène diabetes codant pour le récepteur de la leptine. Cependant chez les souris db/db, la fixation de la leptine au niveau du plexus choroïde est identique à celle des souris contrôles. Et surtout, aucune mutation dans la séquence de ce récepteur isolé et cloné par Tartaglia n'a été retrouvée chez les souris db/db.

De ces observations émergea l'hypothèse de l'existence de plusieurs isoformes de ObR. Au moins six isoformes sont dénombrées à l'heure actuelle et sont nommées de ObRa à ObRf.

Elles sont générées par épissage alternatif à partir du même ARNm pré-messager. Le récepteur cloné par Tartaglia *et al*. correspond à une isoforme courte de ObR, ObRa.

V.2. Les différentes isoformes du récepteur de la leptine

Le récepteur de la leptine appartient à la famille des récepteurs de cytokines de classe I contenant notamment les récepteurs aux interleukines 2, 3, 4, 6, 7, au G-CSF, à la GH, à la prolactine et l'érythropoïétine (Bazan, 1989). Le gène *diabetes* codant pour ObR possède dix-sept exons communs à toutes les isoformes et plusieurs exons alternatifs. Toutes les isoformes d'ObR générées

par épissage alternatif partagent le même domaine extracellulaire amino-terminal de 816aa possédant le site de liaison du ligand, un domaine fibronectine de type III, un pont disulfure indispensable à l'interaction avec la leptine ainsi que le motif Trp-Ser-X-Trp-Ser caractéristique de la famille de récepteur de cytokines de classe I (Kishimoto *et al.* 1994; Ahima et Flier 2000).

Les isoformes diffèrent au niveau des domaines membranaire ou intracellulaire carboxy-terminal et sont classées en trois catégories distinctes : l'isoforme longue ou ObRb, les isoformes courtes ou ObRs (a, c, d, f) possédant un domaine intracellulaire réduit et l'isoforme circulante ou ObRe ne possédant ni domaine membranaire ni domaine intracellulaire (Figure 7).

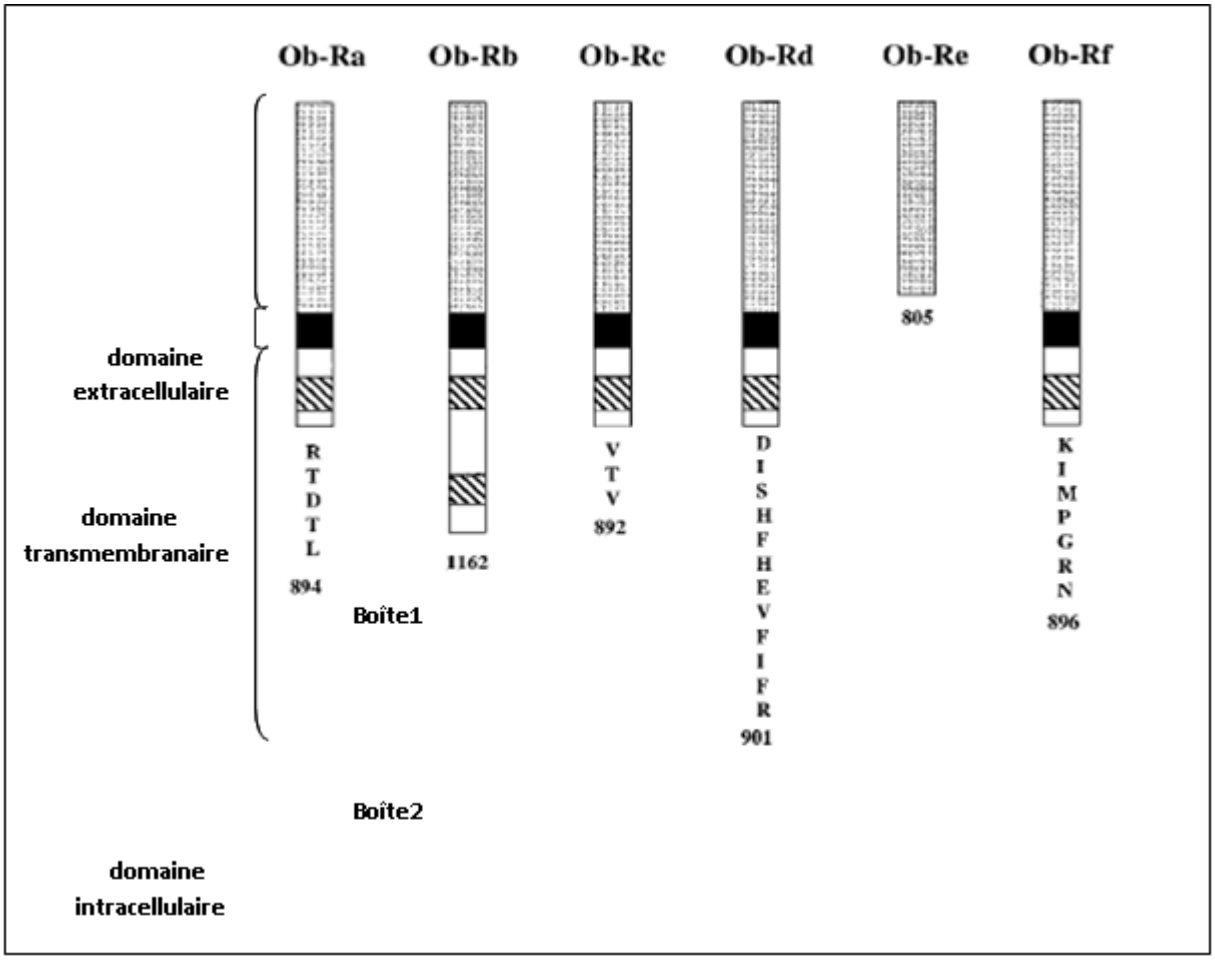


Figure 7: Les différentes isoformes du récepteur de la leptine.

Toutes les isoformes de ObR possèdent un domaine extracellulaire commun. Le domaine intracellulaire permet de différencier les isoformes courtes ObRs (a, c, d, f) et l'isoforme longue ObRb. L'absence de domaine transmembranaire est caractéristique de l'isoforme circulante ObRe. D'après Ahima *et al*, 2000.

V .2.a L'isoforme longue ObRb

A partir des données obtenues lors du clonage de ObRa, l'équipe de Tepper en collaboration avec Morgenstern, a pu isoler une autre isoforme de ObR chez l'homme et chez la souris (Chen *et al.* 1996). Le domaine intracellulaire carboxy-terminal de cette isoforme est composé de 302 résidus : c'est l'isoforme longue ou ObRb. Elle correspond au produit du gène *diabetes*. La mutation de ObRb retrouvée chez les souris *db/db* (Chen *et al.* 1996; Lee *et al.* 1996) et le rat Zucker (Phillips *et al.* 1996) conduit à l'obésité, suggérant le rôle prépondérant de ObRb dans l'établissement des voies de signalisation induites par la leptine. Les souris *db/db* sont d'ailleurs caractérisées par une

déficience de la voie de signalisation « Signal Transducer and Activator of Transcription » (STAT) induite par la leptine (Ghilardi *et al.* 1996). Pour ces raisons, ObRb peut être considérée comme l'isoforme la plus importante du récepteur de la leptine. De plus, les souris *db/db* possèdent le même phénotype que les souris db^{3J}/db^{3J} (mutation pour toutes les isoformes de ObR) et *ob/ob* (Bates et Myers 2003).

V .2.b Les isoformes courtes

ObRa : cette isoforme est exprimée dans la très grande majorité des tissus étudiés. Cependant, sa fonction précise est à l'heure actuelle mal définie et son importance probablement sous-estimée. En effet, malgré un domaine intracellulaire court, ObRa possède la capacité d'activer certaines voies de signalisation en réponse à la leptine .ObRa est également impliquée dans le transport actif de la leptine du sang vers le cerveau. Cette isoforme est fortement exprimée au niveau des micro-vaisseaux cérébraux et du plexus choroïde, structures qui constituent respectivement la barrière hémato- encéphalique et la barrière hémato-fluide cérébrospinaux (Bjorbaek *et al.* 1998b). Le passage de la barrière hémato-encéphalique est réduit chez les souris ObRa « knock-out » (KO). *In vitro*, ObRa possède la capacité de transporter la leptine au travers des cellules de rein (Madin-Darby Canine Kidney) par transcytose (Hileman *et al.* 2000).

ObRc, ObRd, ObRf : ces trois isoformes courtes sont moins exprimées que ObRa et le sont uniquement dans certains tissus. De plus, contrairement à ObRa, leurs séquences sont faiblement conservées entre les espèces (Ahima et Flier 2000) suggérant un rôle moins important de ces isoformes dans la physiologie de la leptine. Leurs fonctions sont à l'heure actuelle très mal définies. ObRc est exprimée dans les micro-vaisseaux cérébraux et le plexus choroïde suggérant comme pour ObRa une fonction de transporteur de leptine (Hileman *et al.* 2002). ObRd et ObRf sont très faiblement exprimés dans les tissus et ne semblent pas jouer de rôle majeur dans la biologie de la leptine.

V .2.c L'isoforme circulante ObRe

ObRe ne possède ni le domaine transmembranaire ni le domaine intracellulaire de ObR. Ce récepteur circulant correspond à la protéine de liaison (ou « binding protein ») soluble de la leptine (Li *et al.* 1998). Comme les autres « binding protein », la principale fonction de ObRe est de stabiliser la leptine plasmatique, de réguler la proportion de leptine libre dans le plasma et donc son action biologique.

L'ARNm codant pour ObRe est présent chez la souris et le rat mais aucun ARNm correspondant n'a été découvert chez l'homme alors que la protéine ObRe est bien présente dans le plasma (Chua *et al.* 1997). ObRe humain n'est donc pas le produit d'une transcription génique classique. Les isoformes ObRa et ObRb peuvent être clivées au niveau de leur domaine extracellulaire et former ainsi ObRe (Ge *et al.* 2002). Ce processus de clivage pourrait jouer un rôle prépondérant dans le contrôle des effets physiologiques de la leptine. En effet, des études menées chez l'homme ont montré que l'obésité est associée à une baisse de ObRe circulant dans le plasma, tandis qu'une perte de poids est associée à son augmentation (Van Dielen *et al.* 2002). A l'inverse, d'autres études n'ont montré aucune différence dans la concentration plasmatique de ObRe chez les patients obèses ; cependant ceux-ci présentent environ 75% de ObRe liée à la leptine, contre seulement 33% chez les sujets sains. Dans tous les cas, la majorité de la leptine circule sous forme libre chez les individus obèses (Wu *et al.* 2002).

VI .VOIES DE SIGNALISATION INDUITES PAR LA LEPTINE

Le récepteur de la leptine est un membre de la superfamille de récepteur de cytokine de la classe I et agit par l'intermédiaire du signal de JAK/STAT (Janus Kinases/Signal Transducers and Activators of Transcription) (SILVIA, 2004).

Les boîtes 1 et 2 (box 1 & box 2) sont les domaines intracellulaires impliqués dans la transduction du signal de JAK/STAT, qui mène à l'activation de la transcription **(Figure 7)**.

- En absence de leptine, ObRb et ObRs (Ob-Re ou forme soluble du récepteur) sont présents au niveau de la membrane plasmique sous la forme de monomères ou d'homodimères. La fixation de la leptine sur ObR (complexe tétramérique 2(ObR-Ob) entraîne l'activation de la protéine JAK2 qui est constitutivement associée à ObR. JAK2 active en retour ObR en le phosphorylant au niveau de plusieurs résidus tyrosines.
- ObRb est la seule isoforme permettant l'activation de la voie STAT. La leptine, induit via ObRb l'activation de la protéine STAT3 principalement, par laquelle elle engendre la majorité de ses effets sur la balance énergétique.

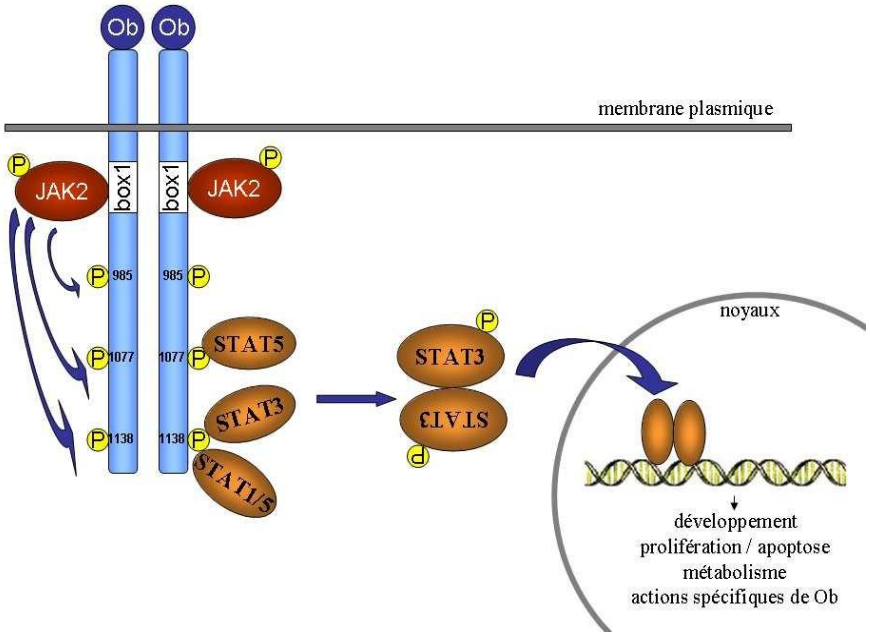


Fig 8: La voie de signalisation STAT(SILVIA,2004)

La liaisonde la leptine sur son récepteur entraîne l'activation de JAK2, qui induit alors l'activation complète de ObRb en phosphorylant ses résidus tyrosines 985, 1077 et 1138. Y1077 permet le recrutement et l'activation de STAT5 et Y1138 le recrutement et l'activation de STAT1, STAT3 et STAT5. Les protéines STAT activées s'homodimérisent et subissent une translocation nucléaire où elles stimulent la transcription de leurs gènes-cibles.

- La voie MAPK est activée par ObRb et plus faiblement par ObRs en réponse à la leptine; ceci par l'intermédiaire du domaine intracellulaire du récepteur ou via JAK2.

Cette voie de signalisation, impliquée dans l'homéostasie énergétique cellulaire, stimule la production et freine la consommation d'énergie. Elle est également impliquée dans les processus de prolifération et de différenciation, ainsi que dans les phénomènes de stress cellulaire.

- ObRb et ObRs activent la voie IRS (phosphatidylinositol) /PI3K en réponse à la leptine. Cette voie de signalisation est primordiale dans la médiation des effets anorexigènes de la leptine au

niveau central. Elle est également impliquée dans les processus de prolifération et d'apoptose, ainsi que dans la régulation du métabolisme cellulaire.

- La leptine active également la voie de signalisation AMPK (mitogen-activated protein kinase) impliquée notamment dans le métabolisme cellulaire. La leptine participe également à la régulation du système de l'oxide nitrique (NO).

- Les protéines SOCS-3 et PTP1B sont des régulateurs négatifs des voies de signalisation induites par la leptine. Les protéines SOCS sont exprimées suite à l'activation de la voie STAT et inhibent en réponse l'activation des protéines STAT et JAK et ainsi inhiber également les voies de signalisation MAPK et PI3K. (SEBASIEN, 2007).

VII. REGULATION DE LA SYNTHESE DE LEPTINE ET DE SON ELIMINATION

Initialement les adipocytes du tissu adipeux blanc étaient considérés comme les seules cellules productrices de leptine. Cependant, une synthèse ectopique de leptine a été mise en évidence dans de nombreux tissus et notamment le muscle, le foie et l'hypophyse (Jin *et al.* 1999; Morash B *et al.* 1999; Jin *et al.* 2000). Nous aborderons plus précisément ce point dans la partie consacrée à l'hormone de croissance. L'importance relative de la synthèse ectopique de leptine dans la concentration plasmatique de cette hormone reste sujette à controverses, et à ce jour les adipocytes sont toujours considérés comme la source principale de leptine. La régulation de la synthèse de leptine est bien entendu différente selon les tissus considérés. Elle est de plus soumise à un grand nombre de facteurs de régulation.

VII .1. Niveaux plasmatiques de leptine et nutrition

La leptine est une hormone circulant dans le plasma à une concentration dépendante du statut énergétique et du niveau de masse adipeuse de l'organisme. Dans les modèles murins ou chez l'homme, l'obésité est associée à une élévation du taux plasmatique de leptine tandis que les états lipodystrophiques sont associés à une réduction de ce taux (Maffei *et al.* 1995).

Suite à la prise d'un repas unique, le niveau plasmatique de leptine augmente chez les rongeurs, tandis qu'il semble inchangé chez l'homme (Saladin *et al.* 1995; Korbonits *et al.* 1997). Chez l'homme, ce niveau augmente sous l'effet d'un régime hypercalorique de plusieurs jours. Cependant un jeûne (24-48h) induit une forte baisse de la concentration plasmatique de leptine chez les rongeurs et l'homme. Après une période de jeûne, la prise d'un repas individuel induit une augmentation de la leptine plasmatique jusqu'au rétablissement de son taux initial. La sécrétion de

leptine est également corrélée à la composition et à l'apport calorique des repas (Poppitt *et al.* 2005).

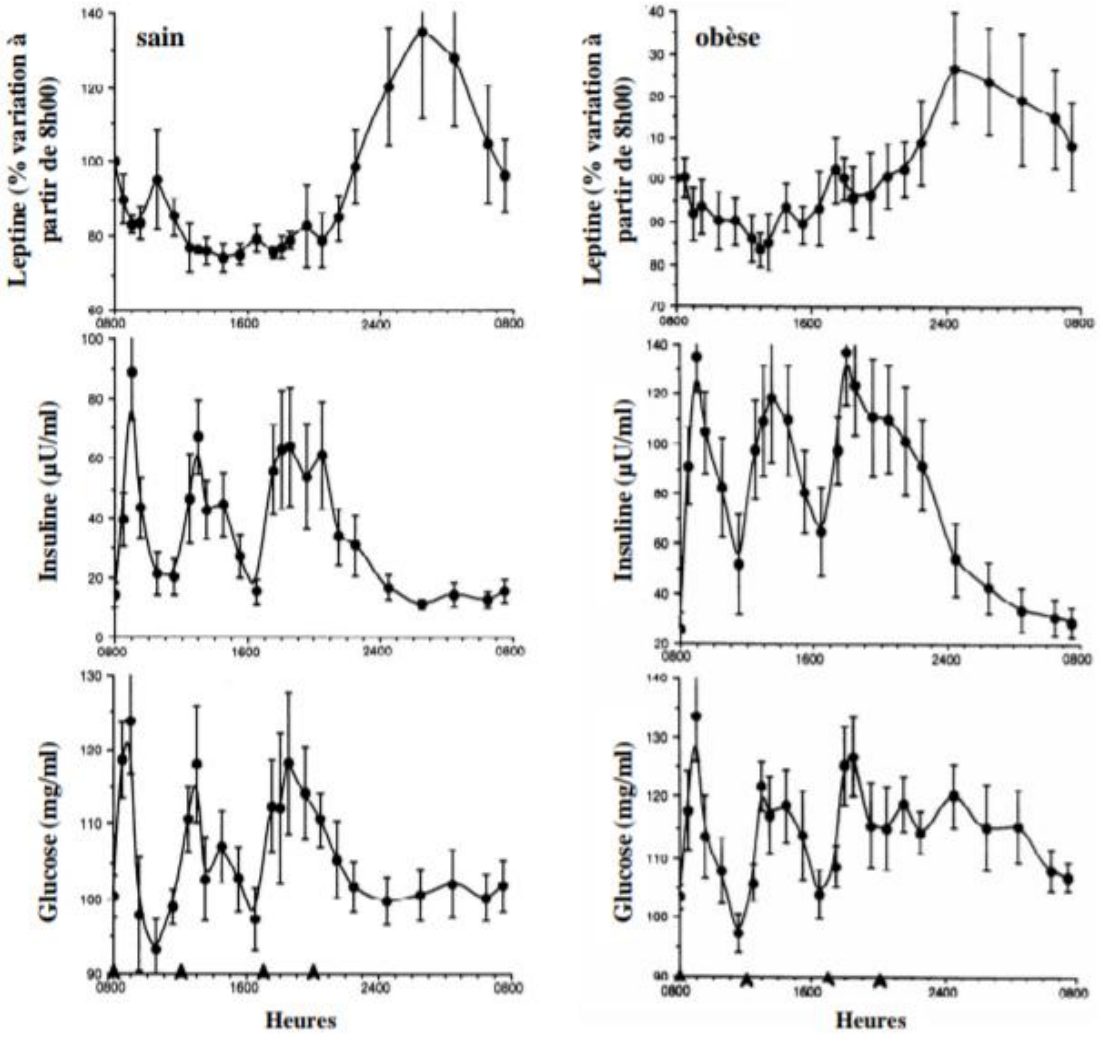
VII.2. Sécrétion de leptine et rythmes biologiques

VII.2.a Rythme circadien

L'expression et la sécrétion de leptine sont caractérisées par un rythme diurne chez les rongeurs et chez l'homme (Saladin *et al.* 1995; Sinha *et al.* 1996).

Chez les rongeurs, le taux plasmatique de leptine est plus élevé durant la phase sombre que durant la phase lumineuse du cycle nycthéméral. Lorsque le rat est soumis à un cycle lumière/obscurité de 5h-19h/19h-5h, la concentration plasmatique de leptine augmente à partir de 19h pour atteindre son maximum à 23h (environ 9ng/mL) et diminue ensuite jusqu'à rejoindre son niveau basal à 5h (environ 6ng/mL) (Xu *et al.* 1999). La phase d'obscurité correspondant chez les rongeurs à la période d'activité, l'augmentation de leptine plasmatique est en corrélation avec le début de la prise alimentaire, et semble indépendante de la photopériodicité et des autres mécanismes classiques du contrôle du rythme circadien. Chez le rat, la synthèse de leptine par les cellules adipocytaires et l'expression hypothalamique de son récepteur augmentent quant à elles avant le début de la phase sombre. Elles sont donc indépendantes de l'initiation de la prise alimentaire. Ces résultats suggèrent que la sécrétion de leptine et sa synthèse sont régulées en partie par des mécanismes indépendants (Kalra *et al.* 2003).

Chez l'homme, on retrouve également des variations de la concentration plasmatique de leptine corrélées avec le cycle circadien (Figure 9). Celle-ci augmente durant la phase sombre qui contrairement aux rongeurs, correspond à la phase de sommeil. Bien qu'une simple prise alimentaire ne semble pas changer le taux de leptine circulante, l'augmentation nocturne de cette hormone est corrélée avec la rythmicité et l'heure de la prise alimentaire précédente (Schoeller *et al.* 1997). Le rôle de cette rythmicité biologique dans le contrôle central de la prise alimentaire est pour l'instant mal défini. Elle pourrait intervenir dans la régulation au niveau périphérique d'autres acteurs moléculaires impliqués dans les diverses fonctions de la leptine (Kalra *et al.* 2003). Ce rythme n'est pas affecté par l'obésité (Sinha *et al.* 1996)



, 1.

Figure 9: Évolution du taux plasmatique de leptine sur 24h, chez l'homme.

Évolution sur 24 heures des taux plasmatiques de leptine, insuline et glucose, chez des individus sains et obèses. D'après Sinha *et al*, 1996.

VII.2.b Rythme ultradien

Chez l'homme et les rongeurs, la sécrétion de leptine par les adipocytes n'est pas continue mais pulsatile, caractérisée par des pics de sécrétion de faible amplitude mais de fréquence élevée (Figure 10) (Licinio *et al.* 1997; Bagnasco *et al.* 2002). Chez le rat, la restriction alimentaire entraîne une diminution de l'amplitude des pics, sans modification de leur fréquence (Bagnasco *et al.* 2002).

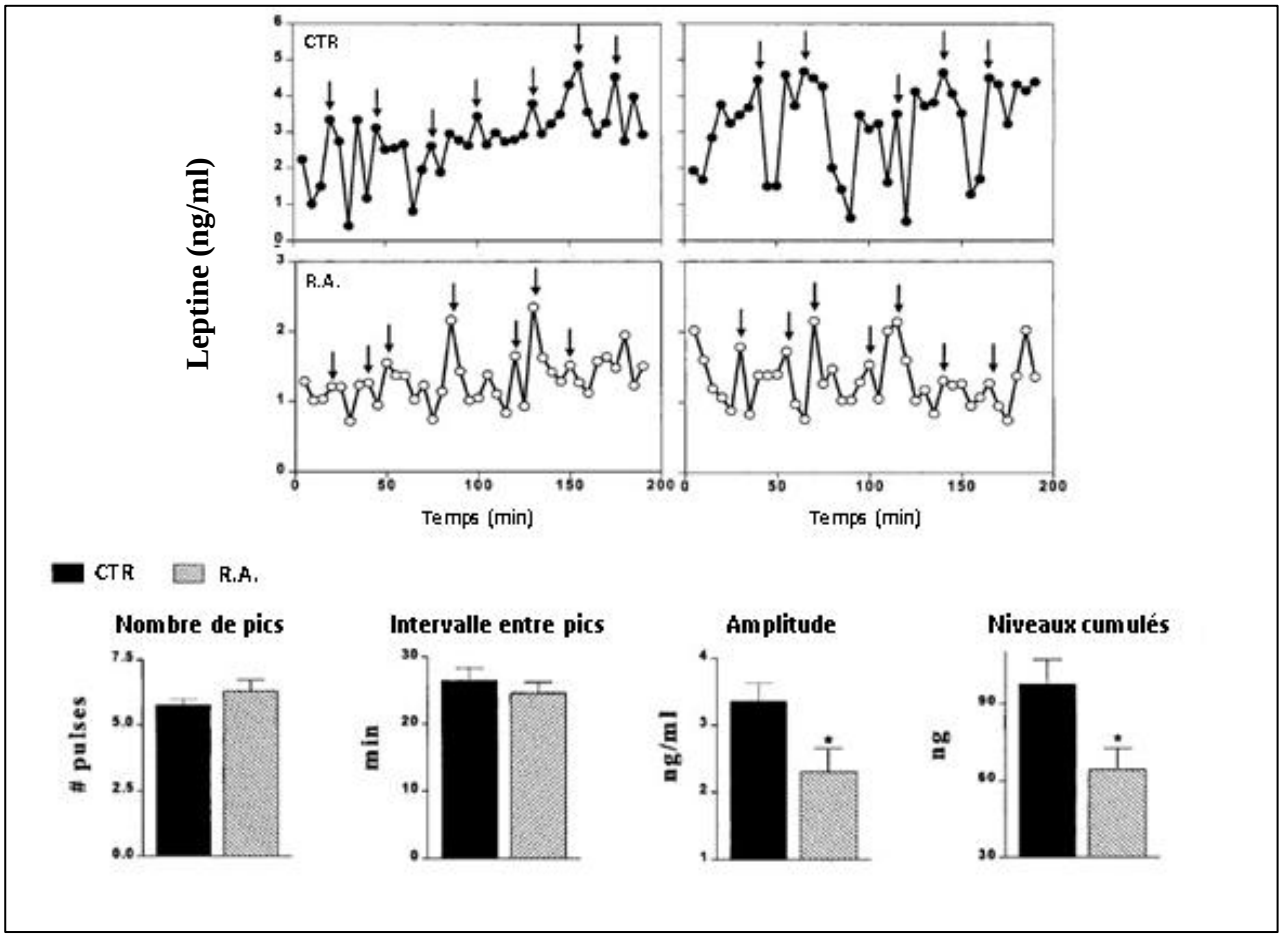


Figure 10: Rythme ultradien de la sécrétion de leptine chez le rat.

Profil de sécrétion pulsatil de la leptine chez les rats contrôles (cercles ouverts, CTR) ou soumis à une restriction alimentaire (cercles pleins, R.A.). La restriction alimentaire entraîne une diminution de l'amplitude des pics mais pas de leur fréquence. D'après Bagnasco *et al*, 2002.

Factor	Models	References
Obesity	Rodents	Frederich et al,[55,315] Maffei et al[29]
	Humans	Considine et al,[30] Maffei et al[29]
Overfeeding	Rodents	Trayhurn et al,[77] Hardie et al[70]
	Humans	Kolaczynski et al[215]
Impaired renal function	Humans	Iida et al,[316] Merabet et al[317]
Insulin	Adipocyte	Saladin et al,[209] Leroy et al[318]
	Rat islets	Ceddia et al[231]
	Humans	Utriainen et al,[208] Saad et al,[207] Mantzoros et al[242]
	ob/ob mice	Stephens et al[105]
Glucose	Mice	Kamohara et al[248]
Glucocorticoides	Adipocyte	Leroy et al,[318] Slieker et al[276]
	Rats	Saladin et al[209]
	Humans	Miell et al,[281] Kolaczynski et al,[319] Papaspyrou-Rao et al[320]
TNF-α	Humans	Mantzoros et al[306]
	Adipocytes	Zhang et al[321]
Oestrogen	Adipocytes	Machinal et al[37]
	Humans	Shimizu et al[182]
	Rats	Shimizu et al[182]
	Pigs	Qian et al[322]
Endotoxin	Hamsters	Grunfeld et al[307]
Interleukin-1	Humans	Janik et al[303]
	Hamsters	Grunfeld et al[307]
Alcohol	Humans	Mantzoros et al[242]

Figure 11: Facteurs induisant une augmentation des taux plasmatiques de leptine. D'après Margetic *et al*, 2002

Factor	Models	References
Androgens	Adipocytes	Wabitsch et al,[300] Machinal et al[37]
Fasting	Humans	Trayhurn et al,[77] Hardie et al[70]
β_3-Adrenoceptor agonists	Humans	Donahoo et al[88]
	Rodents	Ghorbani and Himms-Hagen,[323] Li et al,[87] Trayhurn et al,[73] Mantzoros et al[86]
	Adipocytes	Gettys et al,[324] Slieker et al[276]
Growth hormone	Zucker rats	Isozaki et al[298]
	Rats	Carro et al[289,290]
	Children	Rauch et al[297]
Cold exposure	Humans	Trayhurn et al[28]
	Rats	Hardie et al[70]
	Human adipocytes	Peino et al[72]
Exercise—long term	Rats	Zheng et al[62]
	Humans—women	Kohrt et al[63]
Somatostatin	Humans	Donahoo et al[88]
	Rats	Carro et al[290]
Cyclic AMP	Adipocytes	Saladin et al,[209] Slieker et al[276]
Thiazolidinedions	Adipocytes	De Vos et al,[96] Kallen and Lazar[97]
Cigarette smoking	Humans	Hodge et al,[325] Wei et al,[326] Mantzoros et al,[242] Miyata and Meguid[327]
IGF-1	Rats	Boni-Schnetzler et al[302]
Free fatty acids	Adipocytes	Deng et al[22]

Figure 12: Facteurs induisant une diminution des taux plasmatiques de leptine. D'après Margetic *et al*, 2002

VII .3. Transport et distribution dans l'organisme

Chez l'homme et la souris, la leptine circule dans le sang sous formes libre et liée (HOUSEKNECHT et al. 1996 ; SINHA et al. 1996). Plusieurs complexes transporteur-leptine ont été identifiés, de poids moléculaires allant de 80 kDa à 450 kDa selon les auteurs (SINHA et al. 1996 , HOUSEKNECHT et al. 1999 ; LANDT, 2000).

Une partie du transport est assurée par la forme soluble du récepteur et par l'α2 macroglobuline (SINHA et al. 1996 ; LANDT, 2000). La nature exacte des autres protéines de transport n'a pas encore été déterminée mais l'existence de complexes de haut poids moléculaire permet d'envisager une circulation sous forme de complexes multimériques. La capacité de transport a été déterminée chez l'homme (LANDT, 2000). Elle est constante, de l'ordre de 2 g/l, pour les leptinémies physiologiques (entre 2 g/l et 10 g/l). Elle augmente ensuite progressivement avec la leptinémie pour atteindre un maximum de 5.5 g/l pour une leptinémie de l'ordre de 60 g/l. Lorsque la leptinémie varie de 2 à 10 g/l, le pourcentage de saturation augmente de manière linéaire pour atteindre un plateau à 80% quand la leptinémie dépasse 10 g/l.

Pour les leptinémies physiologiques (comprise entre 2 et 10 g/l), le nombre de transporteurs est constant et le pourcentage de saturation varie rapidement avec la leptinémie ce qui permet de maintenir un équilibre entre la fraction libre et la fraction liée (CUMIN et al. 1997). Au-delà de 10 g/l, les transporteurs sanguins sont saturés. La capacité de transport augmente mais pas de manière proportionnelle à la concentration de leptine. Le nombre de transporteurs devient rapidement insuffisant ce qui se traduit par une augmentation de la proportion de leptine libre chez les sujets hyperleptinémiques. La forme libre étant la forme active de l'hormone, ce déséquilibre pourrait être en partie responsable de l'apparition du syndrome de résistance à la leptine observé chez les sujets en surpoids (HOUSEKNECHT et al. 1996, LANDT, 2000).

Les paramètres pharmacocinétiques propres à la leptine ont été déterminés chez l'homme et le rat (HILL et al. 1998, WONG et al. 2004). Chez l'homme, dans les conditions physiologiques, le temps de demi-vie plasmatique est 3,4 heures ; la vitesse d'élimination est de 1.3 ml/kg/min et le volume de distribution est de 150 ml/kg. Ces paramètres ne dépendent pas de la leptinémie totale. Par contre, on observe une diminution de la sécrétion, de la distribution et de la clairance chez les sujets âgés et une augmentation de la production et de la rémanence chez les sujets obèses et chez les femmes (WONG et al. 2004).

Chez le rat, la pharmacocinétique de la leptine a été décrite selon un modèle à deux compartiments. Dans le premier compartiment, la leptine subit une élimination rapide avec un temps de demi-vie de 3-4 minutes, dans le second compartiment, elle est éliminée plus lentement avec un temps de demi-vie de 71 minutes ; ceci pour une clairance totale de 6-16ml/kg/min (HILL et al. 1998). Ce modèle traduit la fixation d'une partie de la leptine dans les tissus périphériques. La leptine se concentre dans l'intestin grêle, dans le foie et dans l'estomac et à des taux plus faibles dans le muscle, la peau, le caecum et le cerveau. Cette leptine est ensuite progressivement relarguée sous forme active dans le sang. Son catabolisme est retardé par rapport à la leptine qui ne quitte pas la circulation sanguine. Etant donné que l'hypothalamus est une des cibles principales de la leptine, il convient d'envisager les modalités de transport particulières de l'hormone jusqu'à ce site spécifique. Les échanges entre la circulation générale et le système nerveux central (SNC) sont limités par la présence de la barrière hémato-encéphalique (BHE). Cette barrière entre le sang et l'encéphale fournit aux neurones un environnement biochimique et métabolique stable, une protection vis-à-vis des toxines et des agents infectieux et les isole des substances chimiques humorales circulantes (MONNEREAU, 2004), notamment des hormones. La leptine est filtrée au niveau des plexus choroïdes et se retrouve dans le liquide cerébro-rachidien (LCR). Le mécanisme de transport de la leptine à travers la BHE et la toile choroïdienne n'est pas encore connu avec certitude (BANKS, 2004). Ce transport est rapide et spécifique de l'hypothalamus, puisque dans le reste du SNC, la leptine ne traverse pas la BHE (ZLOKOVIC et al., 2000). Il existe donc un transporteur de haute affinité dans l'hypothalamus et au niveau du plexus choroïde qui permet de réguler l'entrée de la leptine dans l'hypothalamus et le liquide céphalorachidien (LCR). Etant donné que la forme courte du récepteur Ob-Ra est fortement exprimée dans ces deux régions de l'encéphale et plus particulièrement par les cellules endothéliales des capillaires de ces régions, on suppose aujourd'hui qu'elle joue ce rôle de transporteur. De plus il a été montré *invitro* qu'Ob-Ra permettait le transport spécifique de la leptine à travers des cellules polarisées, du pôle apical vers le pôle basal (HILEMAN et al. 2000). L'hypothèse proposée à ce jour pour expliquer le transport de la leptine jusqu'au noyau arqué dans l'hypothalamus implique un transport à travers les capillaires de cette région et un passage de la BHE, grâce au récepteur Ob-Ra qui joue le rôle de transporteur. Une petite quantité de leptine atteint également l'hypothalamus par diffusion dans le tissu nerveux à partir du LCR.

Ob-Ra est également fortement exprimé dans le rein où il pourrait avoir le même rôle de transporteur, permettant de faire entrer la leptine dans les cellules des tubules rénaux afin qu'elle y soit métabolisée (BENEDICTE, 2007).

VII .4. Elimination de la leptine

La leptine est principalement éliminée par voie rénale, environ à 80 %. Une néphrectomie bilatérale diminue de 81 % l'élimination.Tous les auteurs ne s'entendent pas quant au mécanisme d'élimination par le rein. La taille de la molécule empêcherait la filtration glomérulaire (ZENG, 1997). Pour d'autres, puisque le mécanisme d'élimination est de très haute capacité et non saturable, la filtration serait la seule voie d'élimination possible (CUMIN, 1997). Cependant, on ne retrouve quasiment pas de leptine dans les urines. Un fractionnement de la leptine avant son élimination rénale serait donc possible. Les mécanismes précis de l'élimination rénale de la leptine n'ont pas encore été élucidés. La présence d'un récepteur (isoforme courte) fortement exprimé dans le rein semble indiquer que celui-ci intervienne dans la capture de la leptine (LOIC et al. 2007).

Chapitre 2 :

Rôles de la leptine dans la reproduction

I. INTRODUCTION

En plus de son action sur la satiété, l'équilibre énergétique et la thermorégulation, la leptine tient une place centrale dans le développement et la régulation de la reproduction. L'existence d'un modèle animal présentant une mutation homozygote inactivatrice du gène ob, la souris ob/ob, a été fondamentale pour la compréhension des liens entre tissu adipeux et axe reproductif. La souris ob/ob est infertile et présente une interruption majeure de la spermatogenèse, due à une insuffisance hypothalamo- hypophysaire (ZHANG et al. 1994).
Le traitement par la leptine est capable de restaurer la fertilité dans les deux sexes (CHEHAB et al. 1996, MOUNZIH et al. 1997). En revanche, la seule restriction calorique n'est pas capable de rétablir la fonction reproductive, ce qui suggère que l'obésité n'est pas la cause de l'infertilité, et que la leptine constitue un facteur nécessaire au contrôle de la reproduction.

Par ailleurs, dans un autre modèle, la souris db/db, une mutation du gène ob-R provoque la synthèse d'un récepteur ne comportant plus une large partie de sa portion intracellulaire. La souris db/db présente des troubles de la reproduction tout à fait similaires à ceux de la souris ob/ob; mais le traitement à la leptine est incapable de restaurer sa fertilité **(Figure 13)** (BELBACHIR, 2007).

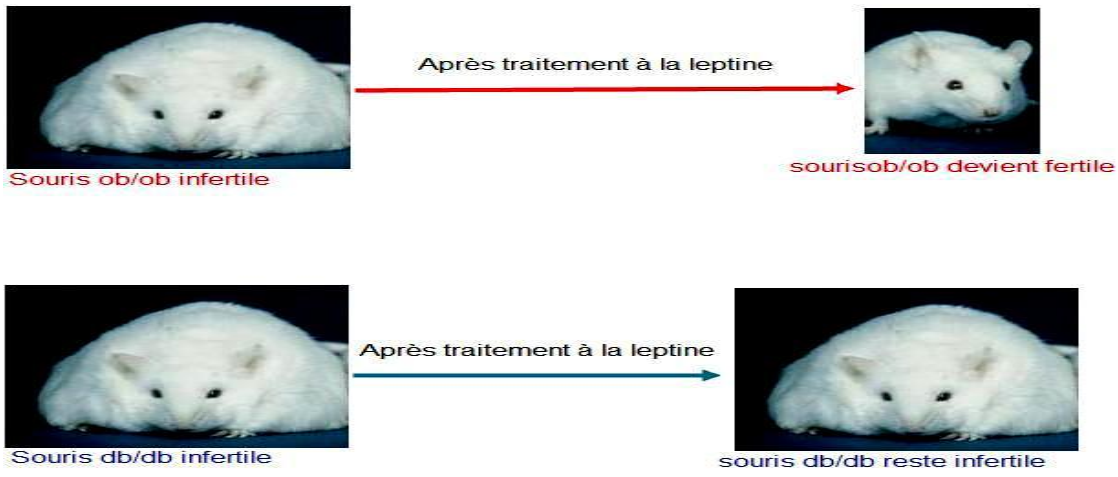


Figure 13 : Expériences de la découverte de la leptine (BELBACHIR, 2007).

II. LEPTINE ET NEURONES DE LA GNRH

Les observations *in vitro* ont prouvé que les concentrations subnanomolaires de la leptine stimulent la décharge de la GnRH des éminence-arqués médians de rat après incubation brève de quelques minutes (Yu et al. 1997) (Figure 14). Cependant, quand des concentrations micro-molaires de la leptine ont été employées, l'effet inducteur de la leptine a été perdu et la production de la GnRH a été diminuée. Ces données ont été confirmées par des expériences suivantes faites dans une variété des cellules neuronales immortalisées sécrétrices de la GnRH qui exprime Ob-R. Dans ces cellules, la libération de GnRH a été stimulée par exposition à des concentrations infimes de leptine, (MAGNI et al. 1999). Ces données suggèrent fortement que la leptine agit au niveau central pour réguler la reproduction, et que l'effet stimulateur est exercé seulement sur une plage relativement étroite de concentrations de leptine. Selon les données actuelles, la leptine exercerait son action soit directement sur des neurones de GnRH ou par un circuit inter neuronal. Jusqu'à présent, les études entreprises sur des rongeurs et les primates n'ont pas démontré la co-expression de GnRH et de Ob-R au niveau des corps cellulaires (Figure 14). Ainsi, l'hypothèse des intermédiaires neuronaux entre la leptine et les neurones de GnRH semble la plus probable (FINN et al. 1998).

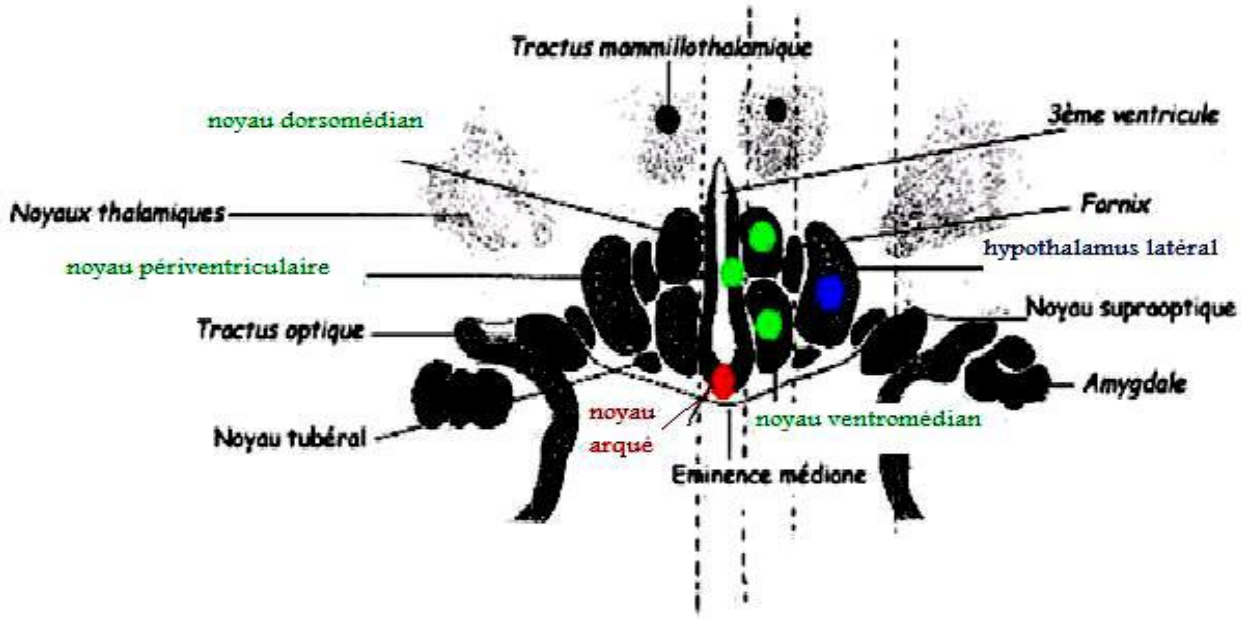


Figure 14: Les noyaux hypothalamiques impliqués dans l'homéostasie énergétique (BENEDICTE, 2007).

Une co-expression abondante d'Ob-R avec le pro-opiomelanocortin (**POMC**), le neuropeptide Y (**NPY**) et les neurones Agouti-connexes (**AgRP**) de peptide au niveau du noyau arqué du rat a été démontrée (CHEUNG et al. 1997). Cette expression de **POMC** est réduite de 50% chez la souris Ob/Ob et restaurée après administration de leptine (MIZUNO et al. 1998).

Ces observations suggèrent que la leptine pourrait modifier la fonction reproductrice en modulant la disponibilité de la protéine de POMC dans le cerveau. Cependant, les données récentes issues d'études sur le récepteur MC3, le récepteur MC4 et les souris **NPY**-déficientes n'ont pas montré des changements importants de l'axe reproducteur ou de la fertilité (CONE, 1999), indiquant de ce fait qu'il est peu probable que ces systèmes changent les effets reproducteurs de la leptine.

Récemment, le peptide "cocaine-and amphetamine-related transcript" **(CART)** s'est avéré inhibiteur endogène de la prise alimentaire régulé par leptine (KRISTENSEN et al. 1998), et module l'accélération de la sécrétion pulsatile de la GnRH (LEBRETHON et al. 2000).

Ainsi, la leptine stimule la décharge de l'hormone (GnRH) de l'hypothalamus **(Figure 15)**. Des études ont démontré la co-expression d'Ob-R et la sécrétion de GnRH par des neurones (pourpre). Cependant, une forte immuno-réactivité pour Ob-R a été montrée dans POMC (proopiomelanocortin), NPY (le neuropeptide Y) et les neurones de CART "cocaine-and amphetamine-related transcript" (vert) dans le noyau arqué. Ces résultats suggèrent que ces peptides pourraient être impliqués dans les effets stimulateurs de la leptine sur la sécrétion de la GnRH (MASSIMILIANO et al. 2001). D'autres études sont nécessaires pour élucider les circuits neuraux responsables des actions de la leptine sur les neurones de la GnRH in vivo**.**

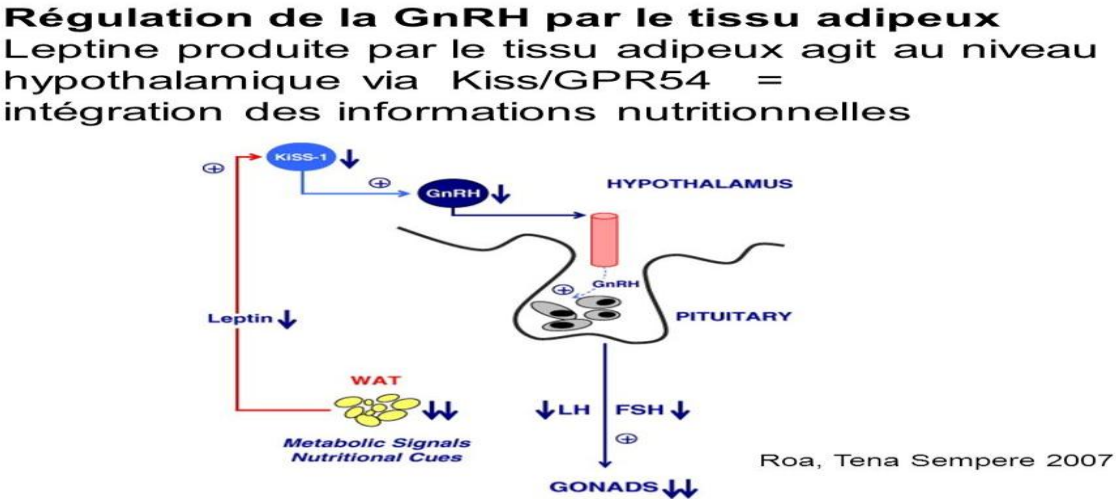


Figure15 : Induction de la libération de GnRH par la leptine au niveau de l'hypothalamus (TENA-SEMPERE et al. 2007)

III. LEPTINE ET HYPOPHYSE : ACTION SUR LES GONADOTROPHINES

Des transcriptions d'ARN messager codant le récepteur de leptine ont été trouvées dans l'hypophyse d'un rat adulte (ZAMORANO et al. 1997), les hypophyses fœtales humaines, des adénomes hypophysaires (SHIMON et al., 1998) et l'hypophyse antérieure de brebis (DYER et al., 1997). Les études immuno-histochimiques ont démontré l'expression de la protéine d'ObR dans 29% et 90% des gonadotropes des pars distalis et des pars tuberalis de l'hypophyse antérieure ovine, respectivement **(Figure 16).** (IQBAL et al. 2000)

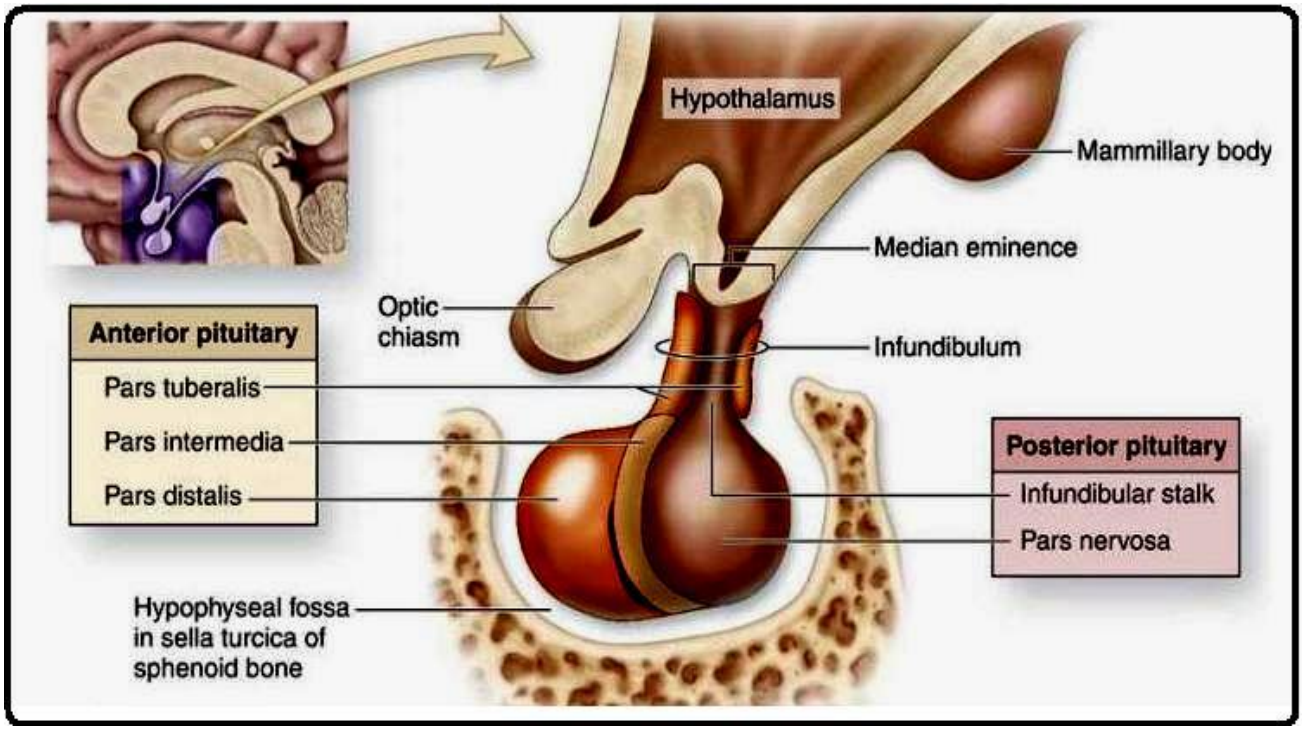


Figure16: Anatomie de l'hypophyse (SEBASTIEN, 2007).

D'autres études ont confirmé la présence de l'isoforme longue du récepteur de la leptine dans le tissu hypophysaire humain normal et néoplasique (JIN et al. 2000) qui indique que la leptine a le potentiel de réguler la fonction hypophysaire par l'intermédiaire des mécanismes endocrines et paracrines et/ou autocrines. Dans des expériences récentes, 16 sur 47 adénomes hypophysaires ont libéré de la leptine dans le milieu d'incubation. Cette libération de leptine n'est pas corrélée avec le type de tumeur ou avec la libération d'autres hormones hypophysaires. Les études *in vitro* ont

prouvé que l'incubation des hémi-hypophyses antérieures de rat mâle adulte et des tumeurs hypophysaires avec la leptine a conduit à une sécrétion dépendante de la dose de gonadotrophines, FSH et LH. En outre, il a été montré que de fortes concentrations de leptine empêchent la prolifération cellulaire hypophysaire dans des variétés de cellules hypophysaires humaines et de rat *in vitro*. En conséquence, la leptine pourrait directement et immédiatement influencer les fonctions des gonadotropes en augmentant les actions stimulatrices sur l'axe (HPG) hypothalamus-pituitaire-gonadique exercé au niveau hypothalamique. En outre, la leptine pourrait être impliquée dans la régulation de la croissance et de la différentiation des cellules hypophysaires (MASSIMILIANO, 2001).

Des études réalisées chez les primates ont permis de montrer que l'injection intraveineuse de leptine maintient la pulsatilité de la LH chez les macaques rhésus mâles à l'état basal (à jeun) (FINN et al. 1998), démontrant de ce fait que la leptine peut empêcher l'effet inhibiteur du jeûne sur la sécrétion des gonadotrophines. Ces données suggèrent que la leptine exerce un effet stimulant sur les réseaux centraux qui régulent la sécrétion hypophysaire des gonadotrophines (WADE et al. 1997).

Dans les anorexies nerveuses (AN), la sous-alimentation grave est associée à des niveaux extrêmement bas de leptine au niveau plasmatique et au niveau du liquide céphalo-rachidien, des niveaux bas et non pulsatiles de gonadotrophines (MANTZOROS et al. 1997). Des valeurs de leptine en dessous de 1,85 ng/ ml sont associées à une aménorrhée des femelles primates de poids insuffisant ou avec des troubles alimentaires (KOPP et al. 1997).

Chez les hamsters à jeun traité avec du désoxyglucose 2 (un inhibiteur concurrentiel d'utilisation de glucose), seule l'administration de la leptine permet de rétablir partiellement la cyclicité œstrale (SCHNEIDER et ZHOU, 1999). Ainsi, il s'avère que la leptine ne pourrait pas rétablir la sécrétion des gonadotrophines quand l'état de détresse métabolique est augmenté par un affaiblissement de l'utilisation des réserves métaboliques périphériques. De ce fait, les actions centrales de la leptine sur la capacité reproductrice pourraient fonctionner en concert avec d'autres signaux métaboliques (par exemple disponibilité de glucose pour réglementer l'activité neuronale de GnRH) (FOSTER et NAGATANI, 1999).

IV. LEPTINE ET GONADES

Si la leptine semble exercer une action majeure sur la régulation hypothalamo-hypophysaire de la sécrétion des gonadotrophines, elle est également susceptible d'agir directement sur les gonades.

L'expression du gène codant pour les récepteurs de la leptine a été mise en évidence dans l'ovaire et le testicule de rat (ZAMORANO et al. 1997).

IV.1. Leptine et ovaires

IV.1.1. Récepteur

Le récepteur Ob-R est exprimé dans les ovocytes, dans les cellules endothéliales et dans le corps jaune. L'expression ovarienne de leptine et d'Ob-R varie et est régulée par les gonadotrophines pendant l'ovulation, indiquant un rôle possible de la leptine dans différents aspects de la fonction ovarienne, telle que la maturation ovocytaire, l'angiogenèse, la rupture folliculaire et la formation du corps jaune (RYAN et al. 2003).

IV.1.2. La leptine induit le développement folliculaire chez des souris

En effet, l'existence possible des effets GnRH-indépendants de leptine sur la stimulation ovarienne et développement folliculaire a été étudiée dans trois modèles de souris hypogonadiques: souris hpg GnRH- déficient, des souris Ob/Ob leptine-déficient, et des souris prépubertaires. Pour éliminer l'activité connue de la leptine comme inducteur de la GnRH, toutes les souris Ob/Ob et pré-pubertaires ont été traitées avec un antagoniste de GnRH. Une croissance folliculaire rapide a été Observée 17h après administration de la leptine aux souris ob/ob traitées par antagoniste de GnRH (deux injections à 8h d'intervalle). Cette réponse était semblable à celle observée après administration de PMSG (pregnant mare serum gonadotropin). Le traitement simultané des souris Ob/Ob avec PMSG et leptine a eu comme conséquence la croissance des cellules interstitielles aboutissant à une croissance ovarienne. Contrairement aux souris Ob/Ob, la leptine n'a pas induit le développement folliculaire chez les souris pré-pubertaires traitées par l'antagoniste de GnRH ou de souris hpg GnRH- déficient (DALIT et al. 2005).

Ces même auteurs ont montré que la leptine induit la formation de corps jaune chez les souris. En effet, la capacité de la leptine à remplacer la LH comme inducteur de lutéinisation a été étudiée chez les trois modèles de souris d'hypogonadisme après traitement par PMSG. Le traitement des souris ob/ob avec PMSG seul n'induit pas la formation de corps jaune. En revanche, le traitement associant une injection initiale de PMSG (à t0) suivie d'une injection de leptine 48h après a permis le développement à 72 H du corps jaune **(Figure 17A, flèche)**. PMSG a également induit le

développement folliculaire chez la souris hpg-GnRH déficientes. Cependant, le corps jaune a montré une morphologie anormale **(Figure 17C)**. Quand des souris hpg-GnRH déficientes ont été traitées avec PMSG suivi de leptine, un grand nombre de corps jaunes a été vus chez toutes les souris **(Figure 17D)**. Pour vérifier si ces effets de la leptine pourraient être obtenus chez les souris normales, l'étude a été répétée chez les souris pré-pubertaires traitées par antagoniste de GnRH. Le traitement de ces souris avec PMSG seul a eu comme conséquence des corps jaunes dans seulement un tiers des souris, tandis que le traitement avec PMSG suivi de leptine a donné une augmentation de la maturité folliculaire et formation de corps jaunes chez toutes les souris. Les souris traitées avec PMSG seul ou avec PMSG et leptine ont montré des corps jaunes avec les ovocytes enfermés. Ces ovocytes enfermés résultent probablement d'une réponse ovulatoire inefficace en absence de décharge de LH (DALIT et al. 2005).

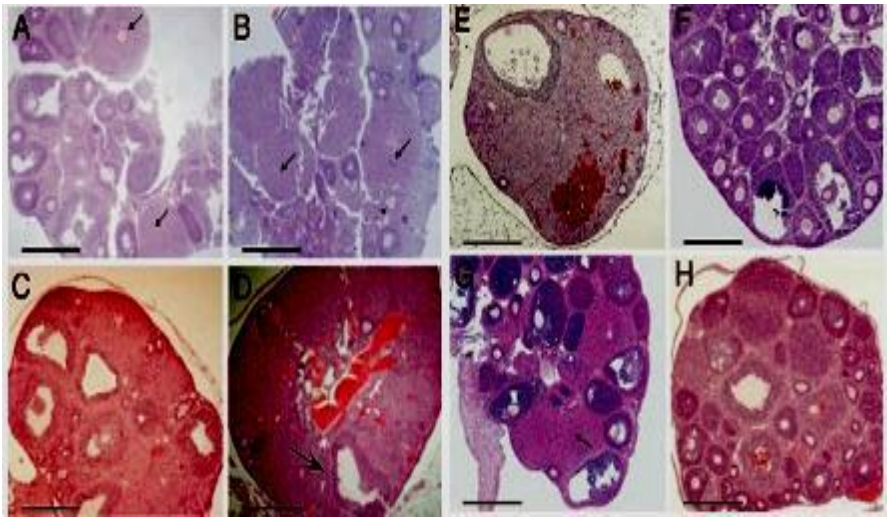


Figure 17 : Présence des CJ chez les souris hypogonadiques après le traitement hormonal **(DALIT et al. 2005).**

L'examen histologique des ovaires de souris Ob/Ob et prepubertaires a été effectué 72 h après traitement avec l'antagoniste de GnRH et les réactifs indiqués. Les sections montrées sont des exemples représentatives de nombre indiqué des ovaires. A) Ovaires des souris Ob/Ob (n=6)a traité avec PMSG au temps 0 suivi de leptine à 48h .B) des ovaires des souris ob/ob (n=3) ont été traités avec PMSG au temps 0 suivi du hCG à 48h. Les CJ sont indiqués par des flèches. C) Ovaires de souris hpg(n=14) traités au PMSG quotidiennement pendant 4 jours. D) Les ovaires des souris hpg (n=20) ont été traité avec le PMSG pendant 4 jours suivis de leptine au 5ème jour. La flèche indique un follicule rompu. E) Ovaires des souris hpg (n=4) traités avec le PMSG pendant 4 jours suivis du hCG le 5éme jour. F)ovaires des souris prepubertaires (n=24) traitées avec PMSG au temps 0. G) Ovaires des souris prepubertaires (n=6) traités avec PMSG au temps 0 suivi de leptine à 48h. H) ovaires des souris prepubertaires (n=6) traité avec PMSG au temps 0 et hCG de 48h. L'examen

histologique des ovaires des souris hpg a été exécuté au 5ème jour après traitement avec des réactifs indiqués. L'examen histologique des ovaires de tous au

très modèles de souris a été effectué au 3ème jours après traitement avec des réactifs indiqués. Taille de barre, 0.4 millimètre. (DALIT et al. 2005).

IV.1.3. Leptine induit l'ovulation chez les souris

Le développement du corps jaune après traitement PMSG et leptine dans les ovaires de chacun des trois modèles de souris déficient en GnRH suggère la possibilité de remplacer l'hCG par la leptine comme inducteur d'ovulation. En effet, une étude a été menée sur des souris femelles hypogonadiques traitées avec de la PMSG (une injection quotidienne pendant 4 jours), puis le 5ème jour avec une injection de leptine murin. L'examen microscopique des oviductes a indiqué que 4 des 10 souris traitées ont ovulé le sixième jour, indiquant un changement complet du processus de l'ovulation par la leptine (**Figure 18A**). Aucune ovulation n'a été détectée chez les souris traitées avec la PMSG seul.

Des résultats similaires ont été obtenus avec les souris normales, les souris pré-pubertaires traitées par un antagoniste de GnRH (**Figure 18C**). Aucune ovulation n'a été détectée sur le lot de souris traitées avec PMSG seul. Des résultats similaires ont été obtenus chez les souris Ob/Ob traitées par l'antagoniste de GnRH traitées premièrement avec PMSG et puis avec la leptine. Ces observations ont indiqué que la leptine peut remplacer le hCG comme inducteur d'ovulation chez les souris, quoiqu'avec une efficacité beaucoup inférieur (DALIT et al. 2005).

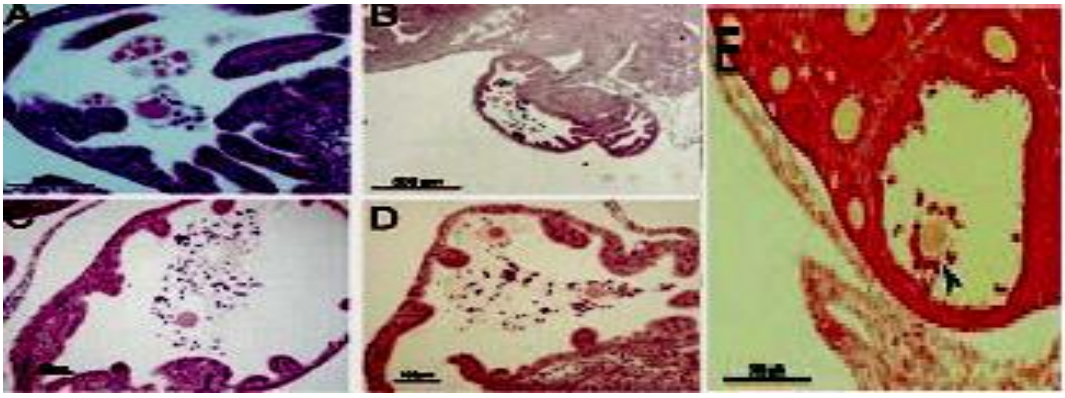


Figure 18 : induction de l'ovulation par leptine **(DALIT et al. 2005).**

A) Un ovocyte dans l'ampoule de la souris hpg traitée chaque jour avec le PMSG pendant 4 jours suivi de leptine au 5ème jour. B) ovocytes dans l'ampoule de souris hpg traitée quotidiennement avec le PMSG pendant 4 jours suivis du hCG aux 5ème jour. C) ovocytes dans l'ampoule d'une souris pré-pubertaire traitée avec un antagoniste de GnRH puis PMSG au temps 0 et de leptine 48h après. D) Ovocytes dans l'ampoule de souris prepubertaire traitée à l'antide recevant le PMSG au temps 0 et le hCG à 48 h. E) les ovocytes mûrs dans l'ovaire de la souris prepubertaire traitée par l'antide recevant le PMSG au temps 0 et la leptine à 48 H.Noter les cellules de corps polaire (flèche) et de cumulus (DALIT et al., 2005).

IV.1.4. L'action sur les hormones ovariennes

In vitro, la leptine exerce un effet négatif sur la production de stéroïdes ovariens, chez les rongeurs et les bovins. En particulier, il a été montré que la leptine :

Inhibe la production d'œstradiol et de progestérone induite par l'insuline dans des cellules isolées de la granulosa bovine (SPICER, FRANCISCO; 1997).

Prévient la sécrétion de la progestérone et de l'androsténedione dans des cellules isolées de la thèque bovine (SPICER, FRANCISCO ; 1998).

Empêche la libération de l'œstradiol par les cellules de la granulosa de rat en culture (ZACHOW, MAGOFFIN ; 1997).

En accord avec ces données, il a été montré que l'incubation de cellules de granulosa de femme fertile avec des concentrations élevées de leptine inhibait significativement la sécrétion d'œstradiol stimulée par la FSH (follicule-stimulating-hormone) et l'IGF-1(insuline growthe factor). (AGARWAL et al. 1999).

Ces observations indiquent que la leptine, à des concentrations identiques à celles retrouvées chez les femmes obèses, peut interférer avec la production d'œstradiol par le follicule dominant in vitro, soit directement, soit par la réduction des substrats androgéniques dérivés des cellules de la thèque. De plus, l'excès de leptine pourrait altérer la réponse ovarienne aux stimuli trophiques (pour exemple : IGF-1), produits par le follicule dominant. Si des niveaux élevés de leptine interfèrent avec le développement du follicule dominant, un stimulus adéquat pour la sécrétion de la LH devient impossible, et cela peut déterminer l'anovulation.

A l'appui de cette hypothèse, des études récentes ont montré que l'administration in vivo de leptine à des rates immatures et l'exposition in vitro des ovaires intacts à la leptine provoquent un déclin important de la capacité d'ovulation (DUGGAL et al ; 2000). Globalement, ces données pourraient expliquer l'incidence élevée de dysfonctions reproductives ainsi que la reprise de l'ovulation après perte de poids chez la patiente obèse.

L'Ob-R est aussi exprimé dans les ovocytes, dans les cellules endothéliales et dans le corps jaune. L'expression ovarienne de leptine et d'Ob-R varie et est régulée par les gonadotrophines pendant l'ovulation, indiquant un rôle possible de la leptine dans différents aspects de la fonction ovarienne, comme la maturation ovocytaire, l'angiogenèse, la rupture folliculaire et la formation du corps jaune (RYAN et al. 2003).

IV.2. Leptine et testicules

Le récepteur Ob-R a été identifié dans les cellules spermatiques et dans les cellules de Leydig chez la souris (HOGGARD et al. 1997).

La leptine rentre dans le testicule par un processus passif (BANKS et al. 1999). Les actions de la leptine sur les cellules de Leydig de rat sont caractéristiques de la phase embryonnaire tardive ainsi que de l'âge adulte. Le système leptine-récepteur n'est pas fonctionnel avant la maturation sexuelle. La leptine pourrait donc jouer un rôle dans l'embryogenèse testiculaire et la maturation des cellules de Leydig pendant la vie prénatale (CAPRIO, 2004).

Un retard de croissance testiculaire avec réduction de la surface du diamètre et de la lumière intratubulaires des tubules séminifères est observé chez les petits mâles de mères exposées à la sous-alimentation (leptine à faible dose) pendant la gestation et la lactation ou pendant l'allaitement seul.

Les données recueillies ces dernières années suggèrent fortement que la leptine est capable d'agir à différents niveaux de l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire (TENA-SEMPERE et BARREIRO, 2002).

La leptine module le contrôle de la production d'androgènes induite par les gonadotrophines; la leptine exerce une inhibition rapide de la production de testostérone (CAPRIO et al., 2004).

La leptine semble agir comme un signal inhibiteur direct de la stéroïdogenèse testiculaire, qui peut expliquer le lien entre la diminution de la sécrétion de testostérone et hyperleptinémie chez les hommes obèses (TENA-SEMPERE et BARREIRO., 2002).

V. LEPTINE ET PUBERTE

Il a été suggéré que la leptine est un régulateur du début de puberté chez les souris (AHIMA et al. 1997, CHEHAB et al. 1997), le rat (GRUAZ et al. 1998) et l'homme (MATKOVIC et al. 1997). Chez ce dernier, les concentrations de leptine augmentent pendant la puberté puis diminuent après la puberté mais seulement chez les mâles diminuées suite à l'inhibition de la sécrétion de la leptine par la testostérone (HORLICK et al. 2000 ; SILVIA, 2004**)**. L'administration de Leptine a avancé le début pubertaire chez les souris (AHIMA et al. 1997; CHEHAB et al. 1997) et les rats (GRUAZ et al. 1998).

Chez les génisses d'un cheptel laitier, les concentrations de leptine augmentent linéairement de 16 semaines avant jusqu'à la semaine de l'ovulation pubertaire (GARCIA et al. 2002) Ces concentrations sont corrélées avec le poids corporel (DIAZ-TORGA et al. 2001). Ce qui suggère que la leptine peut agir comme une hormone passive qui permet le début de l'ovulation pubertaire. Lorsque la maturité sexuelle est acquise et les sources métaboliques sont proportionnées, la leptine sert également comme un signal métabolique qui peut réguler la sécrétion des gonadotrophines. Cependant, la sécrétion seule de leptine n'est pas suffisante pour le déclanchement de la puberté (SILVIA, 2004**)**.

Chez l'homme, après la puberté, les taux de testostérone et le volume testiculaire sont inversement corrélés aux taux de leptine, tandis que chez la femme, après adaptation à la masse grasse, les taux d'œstradiol sont directement corrélés aux niveaux de leptine (WABITSCH et al; 1997). Ces données; indiquent que les androgènes et les œstrogènes pourraient expliquer, au moins en partie, les différences de taux de leptine entre les deux sexes. Cette hypothèse est aussi confortée par des études ***In vitro*** montrant que les androgènes et les œstrogènes inhibent et stimulent, respectivement, l'expression et la libération de leptine par les adipocytes humains en culture (CASABIELL et al ; 1998).

VI. LEPTINE ET GESTATION

VI.1. Leptinémie pendant la gestation

Les concentrations sériques de la leptine commencent à augmenter à des stades précoces de gestation, ces augmentations ne sont pas dues simplement au gain de poids maternel (SORINA et al. 2007). Du début à la mi- gestation, les taux de leptine sont augmentés de façon accrue et restent élevés jusqu'à la fin de gestation chez l'homme (MUKHERJEA et al. 1999), le rat (AMICO et al. 1998; GARCIA et al. 2000), les souris (TOMIMATSU et al. 1997) et les moutons (EHRHARDT et al. 2001; FORHEAD et al. 2002). Ces augmentations sont la conséquence de l'augmentation de l'adiposité qui induit l'augmentation de l'expression de l'ARNm de la leptine dans le tissu adipeux (EHRHARDT et al. 2001). L'augmentation de la concentration de la leptine pendant la gestation semble être paradoxale car c'est une période de demande alimentaire accrue, pas une période où on s'attend à ce que les actions de la leptine augmentent. Toutefois, pendant la gestation, à mesure que la concentration d'Ob-Re (Ob-Rs) augmente dans la circulation, la majeure partie de leptine est présente sous forme non active (MOUNZIH et al. 1997, SEEBER et al. 2002).

Chez les vaches, les niveaux de la leptine en début et à la mi- gestation ne sont pas connus. Ceux-ci sont élevés à la fin de gestation (BLOCK et al. 2001). Pendant la gestation un état de résistance à la leptine s'installe empêchant une diminution de la prise alimentaire et éventuellement l'ovulation (SILVIA, 2004).

VI.2. Leptine et développement fœtal

La leptine semble intervenir dans la régulation des multiplications cellulaires. En effet, dans la phase S (synthèse d'ADN) du cycle cellulaire, elle induit indirectement l'accélération de la prolifération cellulaire des trophoblastes en empêchant l'apoptose et en déplaçant des cellules dans la phase G2/M du cycle cellulaire. La leptine serait alors trophique et mitogène d'une manière temps et dose dépendante .Chez la femelle gestante, le fœtus commence à produire de la leptine très tôt vers la moitié du 1er trimestre mais c'est le placenta qui contribue considérablement à l'hyperleptinémie maternelle. Les niveaux fœtaux commencent à augmenter autour de la 34ème semaine de la gestation, et sont corrélés avec le poids fœtal. La leptine maternelle régule le métabolisme de la mère, mais n'est pas liée à la croissance fœtale ou à la leptine fœtale. Chez le fœtus, la leptine a été détectée, dès la 14ème semaine de gestation. Son taux reste bas jusqu'à la 34ème semaine de gestation, puis augmente exponentiellement, en corrélation avec l'accroissement du tissu adipeux fœtal. Enfin, la leptine fœtale dérive en partie (2-5%) du placenta alors que le reste est issu des tissus fœtaux, principalement des adipocytes (SORINA et al., 2007).

VI.3. Leptine amniotique

Les données sur les niveaux de la leptine dans le liquide amniotique sont peu abondantes. L'origine de la leptine dans le liquide amniotique est peu claire. Dans l'étude d'ANGELO et al. (2005), les niveaux de leptine dans le liquide amniotique sont corrélés avec ceux dans le sang maternel, mais cette évidence n'est pas confirmée par d'autres auteurs. La leptine du liquide amniotique serait fournie en grande partie par les tissus fœtaux et par le rein fœtal. En effet, il est rapporté que des niveaux de leptine dans le liquide amniotique sont liés à la circulation fœtale, mais cette évidence n'est pas également confirmée par d'autres études. Une autre origine possible de la leptine présente dans le liquide amniotique serait le placenta et les amniocytes. Des niveaux de la leptine dans le liquide amniotique montrent un dimorphisme sexuel et ne sont pas liés à la croissance fœtale. Enfin, le taux de leptine présente dans le liquide amniotique a été inversement lié au poids placentaire (ANGELO et al. 2005).

VI.4. Leptine placentaire

Les tissus placentaires des humains, des rongeurs et des animaux de ferme contiennent la leptine et son récepteur. La leptine produite par le placenta humain a la même taille, charge et immunoréactivité que la leptine produite par le tissu adipeux. La leptine placentaire contribue à l'augmentation des concentrations de la leptine dans la circulation maternelle à la fin de gestation alors qu'elle est susceptible d'avoir un rôle endocrine en régulant la balance énergétique maternelle. La leptine placentaire peut avoir des activités angiogéniques et immunomodulatrices qui stimulent le placenta d'une façon autocrine ou paracrine. Elle semble également stimuler la croissance et le développement fœtal en se liant aux récepteurs de leptine présents dans les organes fœtaux.

Des études récentes ont indiqué que la leptine est également présente dans le placenta ovin et porcin. Ces espèces ont des placentas de type épitheliochorial, dans lesquels l'approvisionnement de sang maternel est bien séparé de la surface absorbante du chorion. La leptine est présente sur la couche de trophectoderme du placenta ovin en fin de gestation (jour 128). Chez le porc, la leptine et son récepteur sont localisés à la couche du trophectoderme des tissus placentaires du jour 30 et du jour 100 (la limite est de 114 jours) (**Figure 19).** La localisation de la leptine et de son récepteur au

niveau du trophectoderme porcin est compatible avec les données obtenues chez des humains et des rongeurs, suggérant que la leptine placentaire dans l'espèce domestique a des rôles semblables à ceux proposés pour la leptine placentaire des humains et de souris (CHERYL et al. 2000).

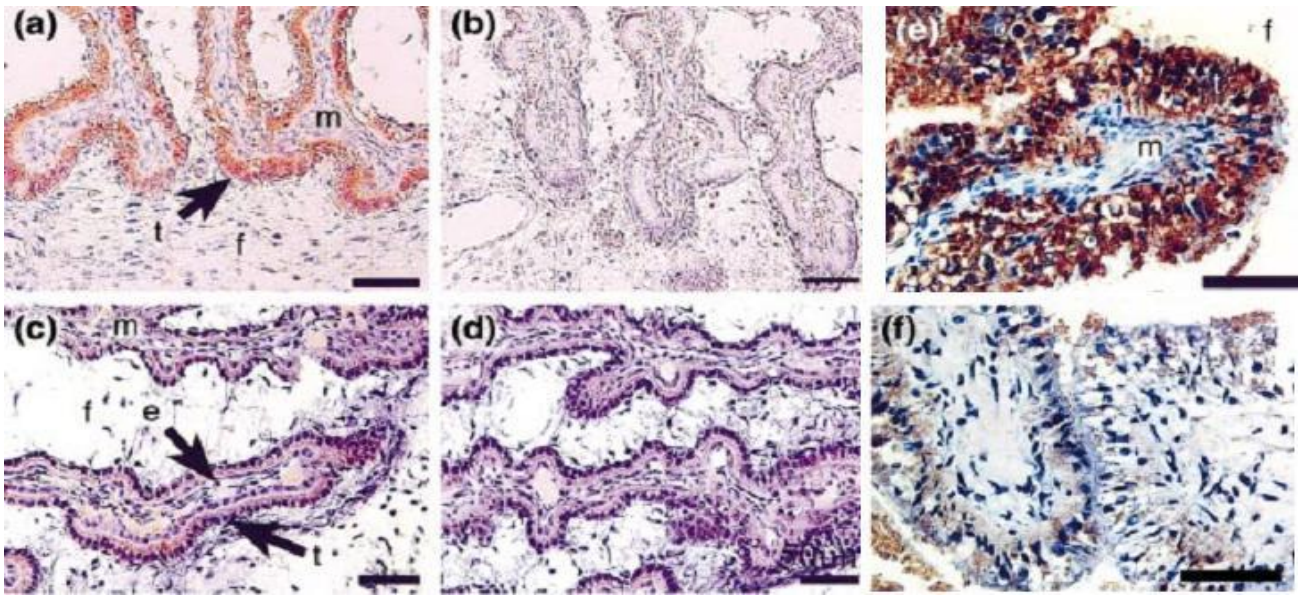


Figure19 : Immunolocalisation de la leptine et de son récepteur dans le placenta de porc au 100éme jour de gestation et de placenta ovin 128eme jour de gestation (CHERYL et al. 2000).

La leptine de porc (a : primaire ; b : Control d'IgG) et le récepteur de leptine (c: primaire ; d: La control d'IgG) ont été localisées dans les cellules du trophectoderme (t). De même,la leptine placentaire ovine (e: primaire ; f: La control d'IgG) a été localisée aux cellules de trophectoderme. e: cellules épithéliales; f: côté foetal; m: côté maternel

La leptine placentaire peut être un facteur important de croissance fœtale chez les humains et les rongeurs. De même, elle pourrait remplir des fonctions semblables dans les espèces commercialement importantes dont le poids à la naissance a un impact important non seulement sur la survie et le bien-être, mais également sur le futur indice de production **(Figure20)**. Des données préliminaires suggèrent que, chez les porcs, la leptine peut être plus abondante dans les placentas

fournissant des fœtus à croissance normale et des fœtus en retard de croissance occupant le même utérus. En outre, des récepteurs de la leptine ont été détectés dans le cœur, le rein, le foie, le poumon et le testicule fœtaux de porc. Bien que cette distribution soit semblable à celle dans les fœtus humains et murins, il est incertain que les récepteurs fœtaux soient des cibles pour la leptine fœtale ou placentaire (CHERYL et al. 2000).

Chez les bovins, le placenta ne produit que des quantités négligeables de leptine qui n'a pas d'effet sur la leptinémie maternelle (KAWAI et al. 1997. AMICO et al. 1998; KRONFELD-SCHOR et al., 2000; THOMAS et al, 2001; EHRHARDT et al. 2002, BISPHAM et al. 2003).

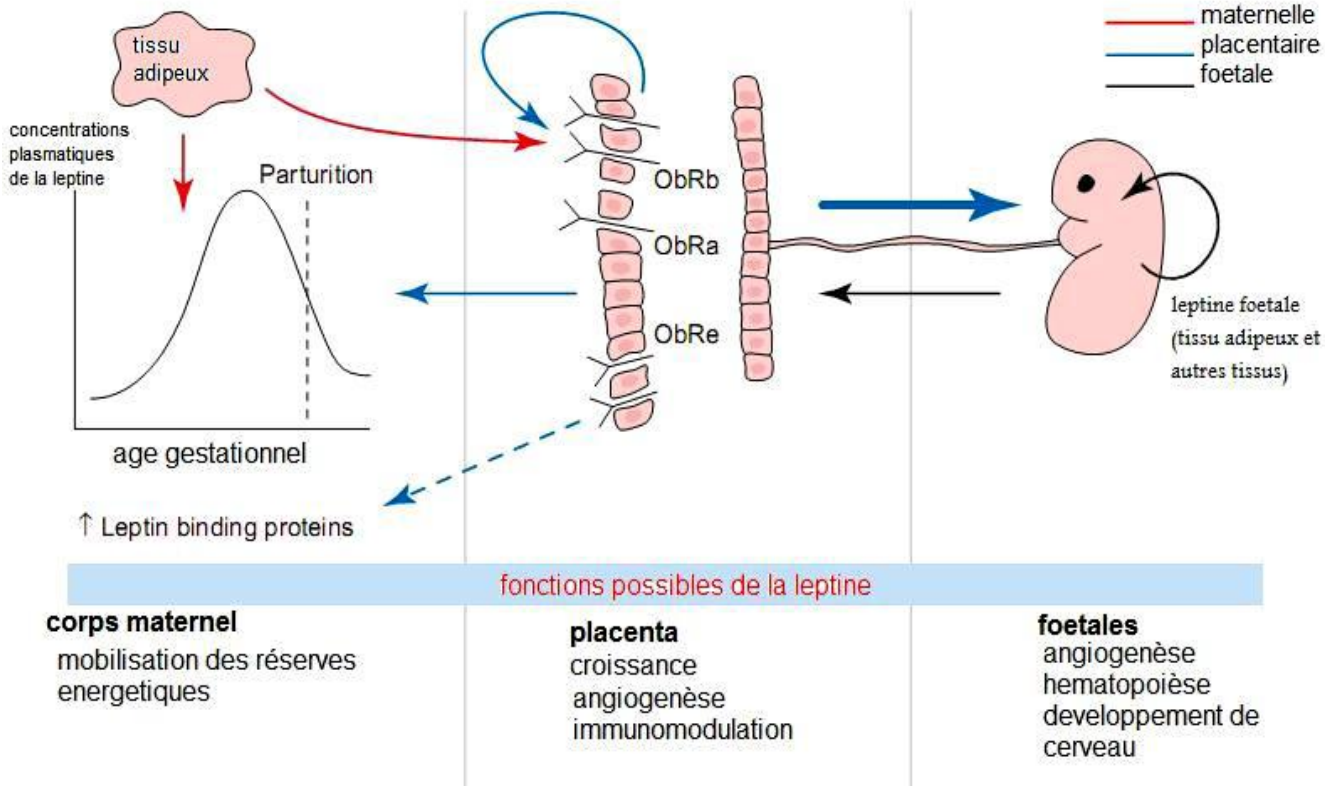


Figure20: Les rôles possibles de la leptine dans l'interface fœto-maternelle (CHERYL et al. 2000).

VII. LEPTINE ET PERIPARTUM

D'après la littérature, les concentrations de leptine dans le plasma sont élevées à la fin de gestation et diminuent à la parturition chez les vaches laitières (BLOCK et al. 2001; KADOKAWA et al. 2000). Plusieurs hypothèses ont été proposées pour expliquer cette baisse de leptinémie à la parturition.

Il a été proposé que les niveaux de leptine reflètent la balance énergétique de la vache. A la fin de gestation, la balance énergétique négative est due à une plus grande demande énergétique du foetus (HAYIRLI et al. 2002). En conséquence l'adiposité diminue, qui abaisse également l'expression de la leptine. D'autre chercheurs ont prouvé qu'il y avait une grande similitude entre la balance énergétique et les courbes de la leptine plasmatique en peripartum (BLOCK et al. 2001 ; SORENSEN et al. 2002). Ceci suggère qu'une explication possible de la diminution des niveaux de la leptine au moment de la parturition soit la mobilisation du tissu adipeux. Également l'inhibition de l'expression de la leptine par le tissu adipeux au début de lactation, pourrait être l'une des raisons des niveaux bas de la leptine pendant la lactation (SILVIA, 2004).

Une autre raison est le contrôle de l'expression de la leptine par l'insuline et l'hormone somatotrope (GH) (BLOCK et al. 2001). La balance énergétique négative autour de la parturition a été également associée à la diminution de l'insuline et à l'augmentation de GH dans le plasma, suggérant que les deux hormones pourraient expliquer une partie de l'effet de la balance énergétique sur la leptine plasmatique (AHIMA and FLIER, 2000). Chez la vache, l'administration d''insuline augmente la leptine dans la circulation à la fin de gestation (5 et 2 semaines avant la mise bas) et au début de lactation (1 et 5 semaines postpartum) tandis que le traitement de GH ne réduit pas la leptine plasmatique (PICKAVANCE et al, 1998; WOODSIDE et al. 2000, SORENSEN et al. 2002). Ces données suggèrent que la GH n'a aucun effet direct sur les concentrations de leptine au cours de la période peripartum. En outre, pendant la lactation, l'insuline régule la leptine plasmatique mais l'administration de GH n'a aucun effet sur la leptine plasmatique (VERNON et al. 2002; DENIS et al. 2003) (SILVIA. 2004).

VIII. LEPTINE ET REPRODUCTION POSTPARTUM

La relation entre la leptine, l'activité lutéale et l'expression de l'œstrus après mise bas a été le sujet de plusieurs études.

LIEFERS et ses collaborateurs (2002) et HOLTENIUS et ses collaborateurs (2002) rapportent que les concentrations de la leptine ne sont pas directement liées au début de l'activité lutéale, mais qu'ils peuvent être liés à l'expression de l'œstrus. Après mise-bas, l'état de résistance à la leptine diminue, car des récepteurs court et long de leptine supplémentaires sont exprimés dans l'hypothalamus. Il résulte alors une plus grande sensibilité à la leptine dans l'hypothalamus (LIEFERS et al. 2002 ; HOLTENIUS et al. 2002). Par ailleurs, la leptine stimule directement l'hypophyse (sécrétion de LH et FSH) et l'ovaire (stéroïdogenèse), suite aux changements de la sensibilité de ces organes à la leptine après le part résultant de l'expression des récepteurs de l'hormone (SILVIA, 2004).

KADOKAWA et ses collaborateurs (2000) montrent que les concentrations de leptine sont fortement corrélées avec la fréquence et l'amplitude des pulses de LH chez des vaches Holstein en post partum et pendant la période de bilan énergétique négatif avant la première ovulation. Donc, cette relation corrobore le rôle qui a été proposé pour la leptine en tant que signal reliant le statut métabolique et le système de l'activité neuroendocrine qui contrôle le statut reproductif (KADOKAWA et al. 2000).

IX. LEPTINE ET LACTATION

L'identification de la leptine dans le lait de plusieurs mammifères, y compris des humains, a mené plusieurs chercheurs à étudier sa présence et son effet de régulation dans la glande mammaire de vache en lactation. L'expression du récepteur de la leptine dans la culture de tissu de la glande mammaire a été augmentée approximativement de 25 fois par la prolactine, mais n'a eu aucun effet sur le tissu mammaire. L'expression de la leptine dans la culture de tissu des glandes mammaires des vaches allaitantes était augmentée 2.2 fois par la prolactine. Aucun effet de prolactine sur la leptine et l'expression du récepteur de la leptine n'a été trouvé dans la culture de tissu de glande

mammaire. La synthèse des acides gras est augmentée par la leptine en présence de la prolactine, mais n'a eu aucun effet sans présence de prolactine. Un modèle semblable a été trouvé dans l'expression de la α-caséine et β-lactoglobuline dans des glandes mammaires extrait d'une vache en lactation. Ces auteurs concluent que la leptine joue un rôle majeur dans la lactogenèse au niveau de la glande mammaire et que l'expression de leptine exige la présence de la prolactine. (FEUERMANN et al. 2004).

X. ROLES DE LA LEPTINE LORS DE MAMMITES ET DE METRITES

Des études chez les vaches laitières hautement productrices révèlent que la mammite post-partum et la métrite puerpérale aigue sont les deux maladies inflammatoires multi-étiologiques les plus importantes qui ont (en plus des facteurs microbiens) des éléments métaboliques et endocrines avec superposition d'intervention de la leptine dans leurs pathogénie (KULCSARET al. 2005).

Le rôle de la leptine dans la modulation de la réponse immune et inflammatoire a été récemment décrit dans de nombreuses études. Le fait que la production de leptine soit modifiée dans des modèles d'infection et d'inflammation suggère que la production de cette hormone est contrôlée par la cascade des cytokines impliquées dans la réponse immune. Comme d'autres membres de la famille de l'IL-6, la leptine peut activer des réponses cellulaires par la stimulation de signaux de la voie JAK/STAT (Janus Kinase/Signal transducer and activator of transcription). La leptine peut induire l'expression de SOCS-3 (Suppressor-Of-Cytokine Signaling 3) qui inhibe les signaux intracellulaires de STAT. La leptine peut également stimuler deux autres voies de signalisation intracellulaire : PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase) et MAPK (mitogen-activated protein kinase). L'activation de ces différentes voies de signalisation intracellulaires est caractéristique des effets des cytokines de la famille de l'IL-6. La leptine peut influencer les réponses inflammatoires en modulant la production de cytokines pro- ou anti-inflammatoires et en induisant des signaux inhibiteurs intracellulaires, tels que SOCS-3.

Des études *in vitro* ont permis de mettre en évidence l'expression de Ob-Rb à la surface des lymphocytes T et B, et des macrophages. Des effets directs de la leptine ont été démontrés sur ces différentes cellules *in vitro*. De plus, les lymphocytes T activés produisent eux-mêmes de la leptine, ce qui peut entretenir une activation autocrine (EIVA BERNOTIENE, 2005).

XI. LEPTINE ET ANOESTRUS SAISONNIER

La leptine semble être impliquée dans la reprise de l'activité ovarienne chez la jument. Différentes études vont dans ce sens. Il semble que les juments à activité ovarienne continue ont des leptinémies plus élevées que celles ayant un anoestrus hivernal **(Figure 21)** (FERREIRA, 2005).

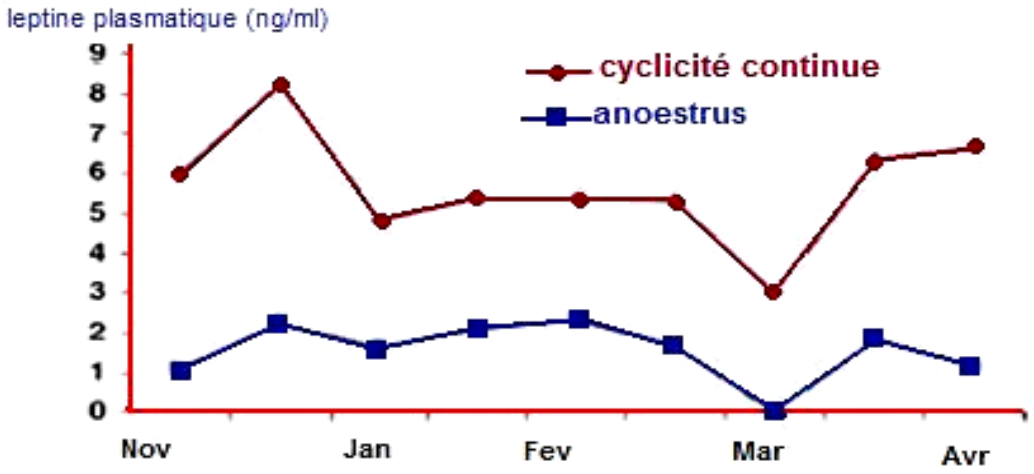


Figure 21: Comparaison entre les concentrations plasmatiques de leptine des juments à activité ovarienne continue par rapport à celles ayant un anoestrus hivernal (FERREIRA-DIAS, 2005).

Inversement, les juments plus âgées et plus grasses ont plus facilement des œstrus en hiver que les juments jeunes et maigres (FITZGERALD and MCMANUS, 2000). Or, la leptinémie est plus élevée chez les juments plus grasses et plus vieilles. Au printemps, la concentration plasmatique de leptine des juments est plus élevée quand les juments sont cyclées que lorsqu'elles sont en anoestrus (FERREIRA et al. 2005). Ce phénomène a également été observé pour d'autres espèces. La reprise de l'activité ovarienne semble nécessiter une valeur seuil de leptinémie. La leptine serait le signal pour le système neuroendocrinien qui inhiberait l'activité sexuelle en cas de manque de réserve. Chez le Mouton (ADAM et al. 2003) et le Hamster (DRAZEN, 2000), les mêmes conclusions ont été obtenues.

Conclusion

La découverte de la leptine, de son récepteur et de ses mécanismes d'action a ouvert de nouvelles perspectives inattendues quant à la physiopathologie de la reproduction.

Il est désormais bien connu que la leptine agit à différents niveaux de l'axe HHG, engageant différents tissus et de nombreuses cascades biochimiques.

Son rôle dans la reproduction semble être déterminé par différents seuils d'action dépendants de ses cibles anatomiques et de la régulation tissu-spécifique de l'expression de son récepteur, qui représente ainsi un degré supplémentaire de modulation de l'action de la leptine à différents niveaux anatomiques. On peut émettre l'hypothèse que la leptine exerce un effet double sur la reproduction et que le principal site anatomique d'action soit déterminé par ses taux circulants dans le sang. L'action stimulatrice de la leptine au niveau hypothalamo-hypophysaire pourrait être cruciale comme déclencheur de la puberté.

Elle pourrait aussi jouer un rôle pathogénique primaire dans le développement des troubles reproductifs observés dans des conditions comportant des taux trop faibles d'hormone circulante, notamment chez les patients avec des IMC anormalement réduits (patients anorexiques et dénutris). Au contraire, dans l'obésité, les récepteurs centraux de la leptine, qui sont sensibles à des concentrations faibles de ligand, sont protégés de l'hyperleptinémie par la saturation du transport de la barrière hémato-encéphalique, tandis que les récepteurs périphériques sont directement exposés à des concentrations très élevées de ligand, avec des conséquences négatives sur la stéroïdogenèse gonadique.

Notre hypothèse est que des taux de leptine compris dans une fourchette bien précise sont nécessaires pour soutenir une fonction reproductive normale, et que des concentrations inférieures ou supérieures peuvent interférer avec le fonctionnement correct de l'axe HHG

Liste des références

Liste des références

A

Adam CL., Archer ZA., Miller DW., 2003: Leptin actions on the reproductive neuroendocrine axis in sheep. Reprod Suppl. 2003, 61.

Ahima, R.S. and Flier, J.S. (2000). "Leptin." *Annual Review of Physiology* 62(1).

Ahima, R. S., J. Dushay., S. N. Flier., D. Prabakaran., et J. S. Flier., 1997: Leptin accelerates the onset of puberty in normal female mice. J Clin Invest 99.

Ahima, R. S., J. S. Flier. 2000: Leptin. Annu Rev Physiol 62.

Agarwal SK., Vogel K., Weitsman SR et al., 1999: Leptin antagonizes the insulin~like growth factor-I augmentation of steroidogenesis in granulosa and theca tells of the human ovary. J Clin Endocrinol Metab; 84.

Amico, J. A., A. Thomas, R. S. Crowley, et L. A. Burmeister. 1998: Concentrations of leptin in the serum of pregnant, lactating, and cyclir.g rats and of leptin messenger ribonucleic acid in rat placental tissue. Life Sci 63.

Anand, B. and Brobeck, J. (1951). "Localization of a "feeding center" in the hypothalamus of the rat." *Proc Soc Exp Biol Med* 77.

Angelo Cagnacci., Serenella Arangino., Simona Caretto., Vincenzo Mazza., Annibale Volpe., 2005: Sexual dimorphism in the levels of amniotic fluid leptin in pregnancies at 16 weeks of gestation Relation to fetal growth; European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology 124 (2006).

B

Bates, S.H. and Myers, J.M.G. (2003). "The role of leptin receptor signaling in feeding and neuroendocrine function." *Trends in Endocrinology and Metabolism* 14(10).

BAUDIN G. La leptine. Description, rôle physiologique Utilité diagnostique et thérapeutique Revue del'ACOMEN, 2000, vol.6, n°1.

Bazan, J.F. (1989). "A novel family of growth factor receptors: A common binding domain in the growth hormone, prolactin, erythropoietin and IL-6 receptors, and the p75 IL-2 receptor [beta]-chain." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 164(2).

Bagnasco, M., Kalra, P.S. and Kalra, S.P. (2002). "Ghrelin and Leptin Pulse Discharge in Fed and Fasted Rats." *Endocrinology* 143(2).

Banks WA, 2004 : The many lives of leptin, Peptides, 2004, 25(3).

Banks WA., McLay RN., Kastin AJ et al., 1999: Passage of leptin across the blood-testis barrier. Am JPhysiol 1999;276:E.

Belbachir chahrazed., 2007: leptine,metabolisme energétique et reproduction. Thèse de docteur vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire.

Bénédicte Faure., 2007: contribution à l'étude bibliographique de la leptine chez les carnivores domestiques. Thèse de docteur vétérinaire, Ecole national veterinaire de toulouse. Thèse: 03- TOU

Bispham, J., G. S. Gopalakrishnan, J. Dandrea, V. Wilson, H. Budge, D. H. Keisler, F. Broughton Pipkin, T. -Stephenson, et M. E. Symonds. 2003: Maternai endocrine adaptation throughout pregnancy to nutritional manipulation: consequences for maternai plasma leptin and cortisol and the programming of fetal adipose tissue development. Endocrinology 144.

Bjorbaek, C., Elmquist, J.K., Michl, P., Ahima, R.S., van Bueren, A., McCall, A.L. and Flier,

J.S. (1998). "Expression of Leptin Receptor Isoforms in Rat Brain Microvessels."

Endocrinology 139(8).

Block S. S., Butler .W. R., Ehrhardt .R. A., Bell .A. W., van Amburgh. M. E., et Boisclair .Y. R., 2001: Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance. J Endocrinol 171.

C

Caprio M., 2004: Metbolismes Hormones Diabètes et Natures :N24-5, Juillet/ Octobre2004,leptine et reproduction.

Casabiell X., Pineiro V., Tome MA., Peino R., Dieguez C., Casanueva FF., 1997: Presence of leptin in colostrum and/or breast milk from lactating mothers: a potential role in the regulation of neonatal food intake.J Clin Endocrinol Metab.;82(12).

Chehab FF, Lim ME, Lu R. Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin. Nat Genet 1996;12.

Chehab, FF., K. Mounzih., R. Lu., M. E. Lim., 1997: Early onset of reproductive function in normal female mice treated with leptin. Science 275.

Chen, H., Charlat, O., Tartaglia, L.A., Woolf, E.A., Weng, X., Ellis, S.J., Lakey, N.D., Culpepper, J., More, K.J., Breitbart, R.E., Duyk, G.M., Tepper, R.I. and Morgenstern, J.P. (1996). "Evidence That the Diabetes Gene Encodes the Leptin Receptor: Identification of a Mutation in the Leptin Receptor Gene in db/db Mice." *Cell* 84(3).

Cheryl J. Ashworth., Nigel Hoggard., Louise Thomas., Julian G. Mercer., Jacqueline M. Wallace et Richard G. Lea; 2000: Placental leptin ; © 2000 Journals of Reproduction and Fertility1359-6004/2000

Cheung, C.C., Donald K. Clifton., Robert A. Steiner., 1997: Proopiomelanocortin neurons are direct targets for leptin in the hypothalamus. Endocrinology 138.

Chilliard Y., Bocquier F., 1999. Direct effects of photoperiod on lipid metabolism, leptin synthesis and milk secretion in adult sheep. IXth Int. Symp. Ruminant Physiology (Pretoria, Afrique du Sud, October 1999).

Chilliard Y., bocquier F., delavaud C., faulconnier1 Y., bonnet1 M., guerre-millo M.,martin P., ferlay A., 1999: La leptine chez le ruminant. Facteurs de variation physiologiques et nutritionnels; INRA Prod. Anim.,, 12 (3).

Coleman, D. (1973). "Effects of parabiosis of obese with diabetes and normal mice." Diabetologia 9.

Cone, R.D., 1999: The central melanocortin system and energy homeostasis. Trends Endocrinol. Metab. 10.

Chua, J.S.C., Koutras, I.K., Han, L., Liu, S.-M., Kay, J., Young, S.J., Chung, W.K. and Leibel, R.L. (1997). "Fine Structure of the Murine Leptin Receptor Gene: Splice Site Suppression Is Required to Form Two Alternatively Spliced Transcripts." *Genomics* 45(2).

Cumin F., Baum Hp., De Gasparo M., Levens N., 1997: Removal of endogenous leptin from the circulation by the kidney, Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord., 1997, 21(6).

D

Dalit Barkan., Vladimir Hurgin., Nava Dekel., Abraham Amsterdam., et Menachem Rubinstein., 2005: Leptin induces ovulation in GnRH-deficient mice; 0892-6638/05/0019-0133 © FASEB; The FASEB Journal • FJ Express.

Denis, R. G., Williams .G, et Vernon. R. G. 2003: Regulation of serum leptin and its role in the hyperphagia of lactation in the rat. J Endocrinol 176.

Diaz-Torga, G. S., M. E. Mejia., A. Gonzalez-Iglesias., N. Formia., D. Becu-Villalobos., et I. M. Lacau-Mengido., 2001: Metabolic cues for puberty onset in free grazing Holstein heifers naturally infected with nematodes. Theriogenology 56.

Drazen DL., Kriegsfeld LJ., Schneider JE. Nelson RJ., 2000: Leptin, but not immune function, is linked to reproductive responsiveness to photoperiod. Am J. Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2000 Jun ; 278 (6).

Duggal PS, Van Der Hoek KH, Milner CR et al. The in vivo and in vitro effects of exogenous leptin on ovulation in the rat. Endocrinology 2000;141.

Dyer, C.J., Simmons, J.M., Matteri, R.L., et Keisler, D.H., 1997: "Leptin receptor mRNA is expressed in ewe anterior pituitary and adipose tissues and is differentially expressed in hypothalamic regions of well-fed and feed-restricted ewes." Domestic Animal Endocrinology 14(2).

E

Ehrhardt, R. A., R. M. Slepetis, A. W. Bell, and Y. R. Boisclair. 2001. Maternal leptin is elevated during pregnancy in sheep. Domest Anim Endocrinol 21:85-96.Ehrhardt, R. A., A. W. Bell, and Y. R. Boisclair. 2002. Spatial and developmental regulation of leptin in fetal sheep. Am J Physiol 282

Eiva bernotiene., 2005; Inflammation aiguë persistante en réponse à l'injection intra-articulaire de Zymosan chez les souris déficientes en leptine ou en son récepteur; Universite De Geneve Thèse N°/ 10428.

F

Ferreira-Dias G, Claudino F, Carvalho H, Agricola R, Alpoim-Moreira J, Robalo Silva J., 2005: Seasonal reproduction in the mare: possible role of plasma leptin, body weight and immune status. Domest Anim Endocrinol. 29(1).

Feuermann Y., S. J. Mabjeesh., et A. Shamay1., 2004: Leptin Affects Prolactin Action on Milk Protein and Fat Synthesis in the Bovine Mammary Gland; J. Dairy Sci. 87, American Dairy Science Association

Finn P D., Matthew J., Cunningham K.-Y., Francis PAU., Harold G., Donald K S., Clifton., Robert A., Steiner .,1998: The stimulatory effect of leptin on the neuroendocrine reproductive axis of the monkey. Endocrinology 139.

Fitzgerald BP, McManus CJ.,2000: Photoperiodic versus metabolic signals as determinants of seasonal anestrus in the mare. Biol Reprod. 2000 Jul;63(1).

Forhead, A. J., L. Thomas., J. Crabtree., N. Hoggard., D. S. Gardner., D. A. Giussani., et A. L. Fowden. 2002: Plasma leptin concentration in fetal sheep during late gestation: ontogeny and effect of glucocorticoids. Endocrinology 143.

Foster, D.L et Nagatani, S., 1999: Physiological perspectives on leptin as a regulator of reproduction: role in timing puberty. Biol. Reprod. 69.

G

Garcia, M. R., M. Amstalden., S. W. Williams., R. L. Stanko., C. D. Morrison., D. H. Keisler., S. E. Nizielski., et G. L. Williams., 2002: Serum leptin and its adipose gene expression during pubertal development, the estrous cycle, and different seasons in cattle. J Anim Sci 80.

Ghilardi, N., Ziegler, S., Wiestner, A., Stoffel, R., Heim, M.H. and Skoda, R.C. (1996). "Defective STAT signaling by the leptin receptor in diabetic mice." *PNAS* 93(13).

Ge, H., Huang, L., Pourbahrami, T. and Li, C. (2002). "Generation of Soluble Leptin Receptor by Ectodomain Shedding of Membrane-spanning Receptors in Vitro and in Vivo." *J. Biol. Chem.* 277(48).

Gruaz, N. M., M. Lalaoui., D. D. Pierroz., P. Englaro., P. C. Sizonenko., W. F. Blum., et M. L. Aubert., 1998: Chronic administration of leptin into the lateral ventricle induces sexual maturation in severely food-restricted female rats. J Neuroendocrinol 10.

H

Hayirli, A., Grummer R. R., Nordheim E. V., et Crump P. M.. 2002: Animal and dietary factors affecting feed intake during the prefresh transition period in Holsteins. J Dairy Sci 85.

He, Y., Chen, H., Quon, M.J., Reitman, M., 1995: The Mouse obese Gene. J. Biol.Chem. 270(48).

Hervey, G. (1959). "The effects of lesions in the hypothalamus in parabiotic rats." *J Physiol (Lond)* 145.

Hervey, G.R. (1969). "Regulation of Energy Balance." *Nature* 222(5194).

Hetherington, A. and Ranson, S. (1942). "The spontaneous activity and food intake of rats with hypothalamic lesions." *Am J Physiol* 136.

Hill Ra., Margetic S., Pegg Gg., Gazzola C., 1998: Leptin: its pharmacokinetics and tissue distribution, Inter. J. Obes. Relat. Metab. Disord., 1998, 22(8).

Hileman, S.M., Tornoe, J., Flier, J.S. and Bjorbak, C. (2000). "Transcellular Transport of Leptin by the Short Leptin Receptor Isoform ObRa in Madin-Darby Canine Kidney Cells." *Endocrinology* 141(6).

Hileman, S. M., D. D. Pierroz, H. Masuzaki, C. Bjorbaek, K. El-Haschimi, W. A. Banks, and J. S.Flier. 2002.Characterizaton of short isoforms of the leptin receptor in rat cerebral microvessels and of brain uptake of leptin in mouse models of obesity. Endocrinology 143.

Hoggard N, Mercer JG, Rayner DV, Moar K, Trayhurn P, Williams LM., 1999: Localization of leptin receptor A splice variants in murine peripheral tissues by RT-PCR and in situ h bridization. Biochem Biophys Res Commun 1997; 232.

Holtenius, K., S. Agenas, C. Delavaud, Y. Chilliard. 2001. Effect of dry period feed intake on plasma leptin in dairy cows. Biotechnology, Agronomy and Environment 5 (special issue).

Horlick, M. B., M. Rosenbaum., M. Nicolson., L. S. Levine., B. Fedun., J. Wang., R. N. Pierson., Jr., et R. L. -Leibel., 2000: Effect of puberty on the relationship between circulating leptin and body composition. J Clin Endocrinol Metab 85.

Houseknecht Kl., Mantzoros Cs., Kuliawat R., Hadro E., Flier Js., Kahn Bb., 1996: Evidence for leptin binding to proteins in serum of rodents and humans: modulation with obesity, Diabetes, 1996, 45(11).

Huff, R. (1950). "Nature of exchange in parabiotic rats." *Am J Physiol* 161.

I

Iqbal J, Pompolo S, Considine RV, Clarke IJ., 2000: Localization of leptin receptor-like immunoreactivity in the corticotropes, somatotropes and gonadotropes in the ovine anterior pituitary. Endocrinology 141.

Isse, N., Ogawa, Y., Tamura, N., Masuzaki, H., Mori, K., Okazaki, T., Satoh, N., Shigemoto, M., Yoshimasa, Y., Nishi, S., Hosoda, K., Inazawa, J. et Nakao, K., 1995: Structural Organization and Chromosomal Assignment of the Human obese Gene. J. Biol. Chem. 270(46).

J

Jin, L., Burguera, B.G., Couce, M.E., Scheithauer, B.W., Lamsan, J., Eberhardt, N.L., Kulig,

E. and Lloyd, R.V. (1999). "Leptin and Leptin Receptor Expression in Normal and Neoplastic Human Pituitary: Evidence of a Regulatory Role for Leptin on Pituitary Cell Proliferation." *J Clin Endocrinol Metab* 84(8).

Jin, L., Zhang, S., Burguera, B.G., Couce, M.E., Osamura, R.Y., Kulig, E. and Lloyd, R.V. (2000). "Leptin and Leptin Receptor Expression in Rat and Mouse Pituitary Cells." *Endocrinology* 141(1).

K

Kalra, S.P., Bagnasco, M., Otukonyong, E.E., Dube, M.G. and Kalra, P.S. (2003). "Rhythmic, reciprocal ghrelin and leptin signaling: new insight in the development of obesity." *Regulatory Peptides* 111(1-3).

Kadokawa, H., Blache D., Yamada Y., et Martin G. B., 2000: Relationships between changes in plasma concentrations of leptin before and after parturition and the timing of first post- partum ovulation in high-producing Holstein dairy cows. Reprod Fertil Dev 12.

Kawai, M., M. Yamaguchi, T. Murakami, K. Shima, Y. Murata, et K. Kishi. 1997: The placenta is not the main source of leptin production in pregnant rat: gestational profile of leptin in plasma and adipose tissues. Biochem Biophys Res Commun 240.

Kennedy, G. (1953). "The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat." *Proc R Soc London* 140.

Kishimoto, T., Taga, T. and Akira, S. (1994). "Cytokine signal transduction." *Cell* 76(2).

Köpp W, Blum WF, von Prittwitz S, Ziegler A, Lübbert H, Emons G, Herzog W, Herpertz S, Deter HC, Remschmidt H, Hebebrand J., 1997: Low leptin levels predict amenorrhea in underweight and eating disordered females. Mol. Psychiatry 2.

Korbonits, M., Trainer, P., Little, J., Edwards, R., Kopelman, P., Besser, G., Svec, F. and Grossman, A. (1997). "Leptin levels do not change acutely with food administration in normal or obese subjects, but are negatively correlated with pituitary-adrenal activity." *Clinical Endocrinology* 46.

Kristensen P, Judge ME, Thim L, Ribel U, Christjansen KN, Wulff BS, Clausen JT, Jensen PB, Madsen OD, Vrang N, Larsen PJ, Hastrup S., 1998: Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin. Nature 393.

Kronfeld-Schor, N., J. Zhao, Silvia, E. Bicer, P. T. Mathews, R. Urban, S. Zimmerman, T. H. Kunz, et E. -P. Widmaier. 2000: Steroid-dependent up-regulation of adipose leptin secretion in vitro during pregnancy in mice. Biol Reprod 63.

L

Landt M., 2000: Leptin binding and binding capacity in serum, Clin. Chem., 46(3).

Lania. L., Magello, B., De Luca, P., 1997: Transcriptional Regulation by the Sp Family Proteins. Int.J.Biochem.Cell Biol. 29(12).

Lebrethon MC, Vandersmissen E, Gérard A, Parent AS, Junien JL, Bourguignon JP., 2000: In vitro stimulation of the prepubertal rat gonadotropin-releasing hormone pulse generator by leptin and neuropeptide Y through distinct mechanisms. Endocrinology 141.

Lee, G.-H., Proenca, R., Montez, J.M., Carroll, K.M., Darvishzadeh, J.G., Lee, J.I. and Friedman, J.M. (1996). "Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice." *Nature* 379(6566).

Li, C., Ioffe, E., Fidahusein, N., Connolly, E. and Friedman, J.M. (1998). "Absence of Soluble Leptin Receptor in Plasma from dbPas/dbPas and Other db/db Mice." *J. Biol. Chem.* 273(16).

Licinio, J., Mantzoros, C., Negrão, A., Cizza, G., Wong, M., Bongiorno, P., Chrousos, G., Karp, B., Allen, C., Flier, J. and Gold, P. (1997). "Human leptin levels are pulsatile and inversely related to pituitary–adrenal function " *Nature Medecine* 3.

Liefers, S. C., M. F. W. te Pas, R. F. Veerkamp, and T. van der Lende.2002. Associations between leptin gene polymorphisms and production,liveweight, energy balance, feed intake and fertility in Holstein heifers. J.Dairy Sci. 85.

Loic, Roland, Georges Vallois., 2007: la leptinémie chez le cheval: étude expérimentale des principaux facteurs de variation; thèse : Ecole national vétérinaire de Nantes. .

M

Madej T., Mark S. Boguski, Stephen H., Bryant., 1995: Threading analysis suggests that obese gene product may be a helical cytokine. FEBS Lett.,73.

M. Maffei, M., Halaas, J., Ravussin, E., Pratley, R.E., Lee, G.H., Zhang, Y., Fei, H., Kim, S., Lallone, R., Ranganathan, S., Kern, P.A. and Friedman, J.M. (1995). "Leptin levels in human and rodent: Measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight- reduced subjects " *Nature Medecine*.

Magni P., Vettor R., Pagano CL., Calcagno AL., Beretta EL., Messi Elio., Zanisi M., Martini L., Motta M., 1999: Expression of a leptin receptor in immortalized gonadotropin-releasinghormone-secreting neurons. Endocrinology 140.

Mantzoros C, Flier JS, Lesem MD, Brewerton TD, Jimerson DC., 1997: Cerebrospinal fluid leptin in anorexia nervosa: correlation with nutritional status and potential role in resistance to weight gain. J Clin Endocrinol Metab.82(6).

Margetic, S., Gazzola, C., Pegg, G. and Hill, R. (2002). "Leptin: a review of its peripheral actions and interactions " *Int J Obes.* 26(11).

Massimiliano Caprio., Elisa Fabbrini., Andrea M. Isidori., Antonio Aversa et Andrea Fabbri., 2001: Leptin in reproduction; TRENDS in Endocrinology & Metabolism Vol.12 No.2 March 2001.

Matkovic, V., J. Z. Ilich., M. Skugor., N. E. Badenhop., P. Goel., A. Clairmont., D. Klisovic., R. W. Nahhas., et J. D. Landoll., 1997. Leptin is inversely related to age at menarche in human females. J Clin Endocrinol Metab 82.

Mizuno TM, Kleopoulos SP, Bergen HT, Roberts JL, Priest CA, Mobbs CV., 1998: Hypothalamic proopiomelanocortin mRNA is reduced by fasting in ob/ob and db/dbmice, but is stimulated by leptin. Diabetes 47.

Monnereau L., 2004: Cours polycopiés d'anatomie du système nerveux, Département des sciences biologiques et fonctionnelles, ENVT, 2004.

Mounzih K, Lu R, Chehab FE Leptin treatnent rescues the sterility of gene-tically obese ob/ob males.Endocrinology 1997.

Morash, B., Li, A., Murphy, P.R., Wilkinson, M. and Ur, E. (1999). "Leptin Gene Expression in the Brain and Pituitary Gland." *Endocrinology* 140(12).

Mukherjea, R., T. W. Castonguay., L. W. Douglass., et P. Moser-Veillon., 1999: Elevated leptin concentrations in pregnancy and lactation: possible role as a modulator of substrate utilization. Life Sci 65.

P

Phillips, M.S., Liu, Q., Hammond, H.A., Dugan, V., Hey, P.J., Caskey, C.T. and Hess, J.F. (1996). "Leptin receptor missense mutation in the fatty Zucker rat." *Nat Genet* 13(1).

Pickavance. L., Tadayyon .M., Williams .G., et Vernon .R. G., 1998: Lactation suppresses diurnal rhythm of serum leptin. Biochem Biophys Res Commun 248.

Poppitt, S.D., Leahy, F.E., Keogh, G.F., Wang, Y., Mulvey, T.B., Stojkovic, M., Chan, Y.K., Choong, Y.S., McArdle, B.H. and Cooper, G.J.S. (2005). "Effect of high-fat meals and fatty acid

R

Ryan NK, Van der Hoek KH, Robertson SA, Norman RJ., 2003: Leptin and leptin recep~tor expression in the rat ovary. Endocrinology 2003; 144.

S

saturation on postprandial levels of the hormones ghrelin and leptin in healthy men." *Eur J Clin Nutr* 60(1).

Saladin, R., De Vos, P., Guerre-Millot, M., Leturque, A., Girard, J., Staels, B. and Auwerx, J. (1995). "Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration." *Nature* 377(6549).

Schneider, J.E. et Zhou, D., 1999: Interactive effects of central leptin and peripheral fuel oxidation on estrous cyclicity. Am. J. Physiol. 277.

Schoeller, D.A., Cella, L.K., Sinha, M.K. and Caro, J.F. (1997). "Entrainment of the Diurnal Rhythm of Plasma Leptin to Meal Timing." *J. Clin. Invest.* 100(7).

Sébastien SMALL WOOD ., 2007: La leptine : rôle physiologique dans la fonction somatotrope, transduction du signal et mécanismes d'internalisation ; these d'universite claude bernard - lyon 1 ; N° d'ordre.

Seeber, R. M., J. T. Smith., et B. J. Waddell. 2002: Plasma leptin-binding activity and hypothalamic leptin receptor expression during pregnancy and lactation in the rat. Biol Reprod 66.

Shalini J., Hariom Yadav., 2001: biochemistry of leptin; Animal Biochemistry Division Natioanal Dairy Research Institute Karnal-132001 (Haryana), India.

Shimon I, Yan X, Magoffin DA, Friedman TC, Melmed S., 1998: Intact leptin receptor is selectively expressed in human fetal pituitary and pituitary adenomas and signals human fetal pituitary growth hormone secretion. J Clin Endocrinol Metab. 1998 Nov;83(11).

Silvia Liefers., 2004: physiology and genetics of leptin in periparturient dairy cows; Animal Breeding and Genetics, Wageningen University, Wageningen and Division of Animal Resources Development, Animal Sciences Group, Lelystad ISBN.

Sinha, M.K., Ohannesian, J.P., Heiman, M.L., Kriauciunas, A., Stephens, T.W., Magosin, S., Marco, C. and Caro, J.F. (1996). "Nocturnal Rise of Leptin in Lean, Obese, and Non- Insulin-dependent Diabetes Mellitus Subjects." *J. Clin. Invest.* 97(5).

Sorensen, A., Adam .C. L., Findlay .P. A., Marie .M., Thomas .L., Travers .M. T., et Vernon .R. G., 2002: Leptin secretion and hypothalamic neuropeptide and receptor gene expression in sheep. Am J Physiol 282..

Sorina Grisaru-Granovsky., Arnon Samueloff., Deborah Elstein., 2007: The role of leptin in fetal growth: A short review from conception to delivery; European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology 136 (2008).

Spicer L.J., Francisco c.c., 1998: Adipose obese gene product, leptin, inhibits bovine ovarian thecal cell steroidogenesis. Biol. Reprod,58..

Spicer LJ., Francisco Cc., 1997: The adipose obese gene product, leptin: evidence of a direct inhibitiry role in ovarian fonction. Endocrinology 1997; 138..

T

Tartaglia, L.A., Dembski, M., Weng, X., Deng, N., Culpepper, J., Devos, R., Richards, G.J., Campfield, L.A., Clark, F.T., Deeds, J., Muir, C., Sanker, S., Moriarty, A., Moore, K.J., Smutko, J.S., Mays, G.G., Wool, E.A., Monroe, C.A. and Tepper, R.I. (1995). "Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R." *Cell* 83(7): .

Tena-Sempere M.., M. L. Barreiro., 2002: Leptin in male reproduction: the testis paradigm; Molecular and Cellular Endocrinology Volume 188

.

Thomas, L., 1. M. Wallace, R. P. Aitken, J. G. Mercer, P. Trayhurn, et N. Hoggard. 200l:Circulating leptin during ovine pregnancy in relation to maternal nutrition,body composition and pregnancy out come. J Endocrinol 169.

Tomimatsu, T., M. Yamaguchi., T. Murakami, K. Ogura., M. Sakata., N. Mitsuda., T. Kanzaki., H. Kurachi., M. -Irahara., A. Miyake., K. Shima., T. Aono., et Y. Murata., 1997: Increase of mouse leptin production by adipose tissue after midpregnancy: gestational profile of serum leptin concentration. Biochem Biophys Res Commun 240.

V

Van Dielen, F.M.H., van 't Veer, C., Buurman, W.A. and Greve, J.W.M. (2002). "Leptin and Soluble Leptin Receptor Levels in Obese and Weight-Losing Individuals." *J Clin Endocrinol Metab* 87(4).

Vernon, R. G., Denis .R. G., Sorensen .A, et Williams .G., 2002: Leptin and the adaptations of lactation in rodents and ruminants. Horm Metab Res 34.

W

Wabisch M, Blum WF, Muche R, Braun M, Hube F, Rascher W, Heinze E, Teller W, Hauner H.

Contribution of androgens to the gender difference in leptin production in obese children and adolescents. J ClinInvest 1997; 100.

Wade GN, Lempicki RL, Panicker AK, Frisbee RM, Blaustein JD., 1997: Leptin facilitates and inhibits sexual behaviour in female hamsters. Am. J. Physiol. 272.

Wong SL., De paoli AM., Lee JH., Mantzoros CS,. 2004: Leptin hormonal kinetics in the fed state : effects of adiposity, age and gender on endogenous leptin production and clearance rates, J. Clin. Endocrinol. Metab., 2004, 89(6).

Woodside. B., Abizaid .A., et Walker .C., 2000: Changes in leptin levels during lactation:

implications for lactational hyperphagia and anovulation. Horm Behav 37.

Wu, Z., Bidlingmaier, M., Liu, C., De Souza, E.B., Tschop, M., Morrison, K.M. and Strasburger, C.J. (2002). "Quantification of the Soluble Leptin Receptor in Human Blood by Ligand-Mediated Immunofunctional Assay." *J Clin Endocrinol Metab* 87(6).

X

Xu, B., Kalra, P.S., Farmerie, W.G. and Kalra, S.P. (1999). "Daily Changes in Hypothalamic Gene Expression of Neuropeptide Y, Galanin, Proopiomelanocortin, and Adipocyte Leptin Gene Expression and Secretion: Effects of Food Restriction." *Endocrinology* 140(6).

Y

Yu w. H., Kimura M., Walczewska A., Karanth S.,Mccann M. S. 1997: Role of leptin in hypothalamic–pituitary function. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 94.

Z

Zachow RJ., Magoffm DA., 1997: Direct intraovarian affects of leptin: impairment 0 the synergistic action of insulin-like growth factor-Ion follicle-stimulating hormone-dependent.

estradiol-17 beta production by rat ovarian granulosa çells. Endocrinology 1997; 138.

Zamorano PL, Mahesh VB, De Sevilla LM, Chorich LP, Bhat GK, Brann DW., 1997: Expression and localization of the leptin receptor in endocrine and neuroendocrine tissues of the rat. Neuroendocrinology 65.

Zeng J, Bruce W., Patterson., Samuel Klein., Daniel R.,Martin., Samuel Dagogo-Jack., Wendy M., Kohrt., Steven B., Miller.,1997: Michael Landt: Whole body leptin kinetics and renal metabolism in vivo. Am. J. Physiol. 273.

Zhang, F., M. B. Basinski, J. M. Beals, S. L. Briggs, L. M. Churgay, D. K. Clawson, R. D DiMarchi, T. C.Furman, J. E. Hale, H. M. Hsiung, B. E. Schoner, D. P. Smith, X. Y. Zhang, J. P. Wery, and R. W. Schevitz. 1997. Crystal structure of the obese protein leptin-E100. Nature 387.

Zhang Y., Proenca R., Maffei M., Barone M., Leopold L., Friedman J.M., 1994. Positionnal cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature, 372.

Zlokovic BV., Jovanic S., Miao W., Samara S., Verma S., Farell CL., 2000: Differential regulation of leptin transport by the choroid plexus and blood-brain barrier and high affinity transport systems for entry into hypothalamus and across the blood cerebrospinal luid barrier, Endocrinology, 2000, 141(4).

Résumé

La leptine, une hormone multifonctionnelle découverte en 1994, synthétisée et sécrétée par le tissu adipeux qui a été démontrée pour réguler l'ingestion d'aliments chez plusieurs espèces d'animaux. Bien qu'il existe peu d'informations sur le rôle physiologique de la leptine chez les animaux, mais sa régulation et son action dans les aspects reproductifs des animaux domestiques est encore mal connus.

Des preuves émergentes chez plusieurs espèces indiquent que la leptine peut également affecter l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique, augmentant ainsi divers processus de reproduction .elle règle la sécrétion pulsatile de la LHRH (luteinizing hormone releasing hormone), dans l'hypophyse elle module la sécrétion des gonadotrophines; elle agirait aussi directement sur les gonades. Chez les femelles, elle contribue au contrôle de l'ovulation, informant l'axe hypothalamo-hypophysaire des réserves énergétiques qui sont une condition limitante pour mener à bien la fécondation, la gestation et la lactation.

A cet effet, une meilleure maitrise de la sécrétion de cette hormone, pourrait permettre un meilleur contrôle de la capacité d'ingestion, d'adiposité et de la reproduction.

Mots clefs : leptine, tissu adipeux, prise alimentaire, reproduction.

Abstract

Leptin, a multifunctional hormone was discovered in 1994, a protein synthesized and secreted by adipose tissue has been shown to regulate feed intake in several animal species.although there is little information on the physiological role of leptin in animals, but the regulation and action of leptin in the reproductive aspects of domestic animals is still naive.Emerging evidence in several species indicates that leptin can also affect the hypothalamic-pituitary-gonadal axis, thus increasing various reproductive processes. It regulates the pulsatile secretion of LHRH (luteinizing hormone releasing hormone), in the pituitary gland it modulates gonadotropin secretion; it would also act directly on the gonads. In females, it contributes to ovulation control, informing the hypothalamic-pituitary axis of the energy reserves that are a limiting condition for successful fertilization, gestation and lactation.

To this effect, a better control of the secretion of this hormone, could allow a better control of the capacity of ingestion, adiposity and reproduction.

Keywords: leptin, adipose tissue, food intake,reproduction

ملخص .

اللبتين, هرمون متعدد الوظائف تم اكتشافه عام1994 يصنع و يفرز على مستوى النسيج الدهني و قد تم اثبات دوره في عملية تنظيم الهضم عند العديد من انواع الحيوانات. على الرغم من وجود القليل من المعلومات حول الدور الفسيولوجي عند الحيوانات, الا ان تاثيره على التكاثر عند الحيوانات الاليفة لا يزال مبهم.

الأدلة الناشئة في العديد من الأنواع تشير إلى أن هرمون الليبتين قد تؤثر أيضا على محور تحت السرير المخ-االغدة النخامية,وذلك بتحفيز عدة وظائف التكاثر,فهو ينظم افراز هرمون LH , يؤثر ايضا مباشرة على الغدد التناسلية,عند الاناث فهو يعمل على التحكم في الاباضة وذلك بتنبيه محور تحت السرير المخ-االغدة النخامية على المخزنات الطاقوية والتي تمثل شروط حدية للسير الحسن لعملية التلقيح, الحمل و الرضاعة. لهذا الغرض ، التحكم في إفراز هذا الهرمون يسمح لنا بتحكم أفضل في القدرة على الابتلاع والسمنة والتكاثر.

الكلمات الدلاليّة : اللبتين، التكاثر، الحيوانات الثديّة، جينة اللبتين، مستقبل اللبتين.