

# CONTRIBUTION A L'ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA LEPTINE CHEZ LES CARNIVORES DOMESTIQUES

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement le 19 décembre 2007  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**Bénédicte FAURE**  
20 Février 1985, Carcassonne

---

Directeur de thèse : M. le Professeur Lydie BRET-BENNIS

---

## JURY

PRESIDENT :  
**M. CARON Philippe**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :  
**Mme. BRET-BENNIS Lydie**  
**Mme. PRIYMENKO Nathalie**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE  
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE(S) INVITES(S) :  
**M. VALET Philippe**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE



MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE  
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	: M.	<b>A. MILON</b>
Directeurs honoraires	M.	<b>G. VAN HAVERBEKE</b>
	M.	<b>P. DESNOYERS</b>
Professeurs honoraires	M.	<b>L. FALIU</b>
	M.	<b>C. LABIE</b>
	M.	<b>C. PAVAU</b>
	M.	<b>F. LESCURE</b>
	M.	<b>A. RICO</b>
	M.	<b>A. CAZIEUX</b>
	Mme	<b>V. BURGAT</b>
	M.	<b>J. CHANTAL</b>
	M.	<b>J.-F. GUELF</b>
	M.	<b>M. EECKHOUTTE</b>
	M.	<b>D. GRIESS</b>

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

---

- M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*  
M. **DORCHIES Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*  
M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*  
M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

**PROFESSEURS 1<sup>ère</sup> CLASSE**

---

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*  
M. **BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*  
M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires*  
M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*  
M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*  
M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*  
M. **MARTINEAU Guy-Pierre**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*  
M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*  
M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*  
M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*  
M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

**PROFESSEURS 2<sup>°</sup> CLASSE**

---

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*  
M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*  
M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*  
M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*  
M. **DUCOS de LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*  
Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*  
M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*  
Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*  
Mme **KOLF-CLAUW Martine**, *Pharmacie -Toxicologie*  
M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*  
M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*  
M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*  
M. **SANS Pierre**, *Productions animales*  
Mlle. **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores domestiques*

**INGENIEUR DE RECHERCHE**

---

- M. **TAMZALI Youssef**, *Responsable Clinique équine*

**PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE**

---

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*  
M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

**MAÎTRE DE CONFERENCES HORS CLASSE**

---

- M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

## MAÎTRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

---

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*  
M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*  
Mme **BENNIS-BRET, Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*  
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*  
M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*  
Mme **BOUCLAINVILLE –CAMUS, Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*  
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*  
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*  
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*  
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*  
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*  
Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
M. **DOSSIN Olivier, (DISPONIBILITE)** *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie du bétail*  
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé Avicoles et Cunicoles*  
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*  
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*  
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologie, Histologie*  
Mme **LETRON –RAYMOND, Isabelle**, *Anatomie pathologique*  
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*  
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*  
M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*  
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*  
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*  
M. **MONNEREAU Laurent**, *Anatomie, Embryologie*  
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*  
Mme **TROEGELER –MEYNADIER, Annabelle**, *Alimentation*  
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

## MAÎTRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS

---

- M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie du bétail*  
Mlle **GOSSOT Pauline**, *Pathologie Chirurgicale*  
M. **NOUVEL Laurent-Xavier**, *Pathologie de la reproduction*  
Mlle **RATTEZ Elise**, *Médecine*  
M. **REYNOLDS Brice**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*  
M. **VOLMER Romain**, *Infectiologie*

## ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

---

- Mlle **BIBBAL Delphine**, *H.I.D.A.O.A Sciences de l'Alimentation*  
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*  
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*  
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*  
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales*  
M. **TREVENNEC Karen**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*

## **REMERCIEMENTS**

**A notre président de thèse,**

**Monsieur le Professeur Phillippe CARON**

Professeur de Médecine à l'Université Paul Sabatier

*Unité pédagogique d'endocrinologie, diabète et maladies métaboliques*

**Qui nous a fait l'honneur de présider notre jury de thèse**

**Hommages respectueux**

**A notre jury de thèse,**

**Madame le Docteur Lydie BRET-BENNIS**

Maître de Conférence à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

*Unité pédagogique de physique et chimie biologiques et médicales*

**Qui m'a confié ce travail et m'a guidée dans son élaboration**

**Pour son aide, ses conseils et son soutien**

**Madame le Docteur Nathalie PRIYMENKO**

Maître de Conférence à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

*Unité pédagogique d'alimentation*

**Qui nous a fait l'honneur d'accepter de participer à notre jury de thèse**

**Sincères remerciements**

**A notre membre invité,**

**Monsieur le Professeur Phillippe VALET**

Professeur en Sciences et Vie de la Terre à l'Université Paul Sabatier

*Unité Pédagogique de Physiologie*

**Qui nous a éclairé dans ce travail**

**Qu'il veuille bien ici trouver l'expression de notre gratitude**



## DEDICACES

A ma famille,

A mes parents,

Pour vos conseils, votre soutien et votre amour. Merci de m'avoir toujours fait confiance, et de m'avoir accompagnée et soutenue jusque là. J'espère que je ferai aussi bien que vous.

A mes frères,

Vincent, à notre complicité toujours grandissante, merci d'être toujours là quand on a besoin de toi,

Pierre, mon petit homme, à tout l'amour et toute la bonne humeur que tu apportes dans notre petite famille avec tes idées farfelues et tes bons petits plats.

A Monique, la deuxième Maman de la famille,

A mes grands-parents, ma maraine, Jeanine, merci d'être toujours là pour moi.

A mes amis,

Séverine, Fabien et Robin, amis de toujours,

Audrey et Charlotte les amies véto incontournables,

Anaig, Bérengère et Céline, mes premières colloqs à St Martin,

Pierrou, Jon, Marion, Anne-Lyse, Nathalie, Cécile, Joannah et tous les autres avec qui j'ai partagé de bons moments pendant ces 5 années d'école.

Augustin, Marjorie, Verena, Laetitia et tous les autres expatriés au Québec,

Delphine, Edouard, Maxime et Sophian, les « vieux » amis de lycée,

Merci pour tous moments que nous avons partagés et tous les souvenirs que nous nous sommes fait. Même si la vie s'acharne à nous éloigner, j'espère vous croiser encore au détour d'un dîner et continuer à remplir mes albums photos, au fil des mariages et autres grandes occasions (Bravo Charlotte, tu as bien commencé !).

Et plus spécialement,

A Stéphane, François, Marielle, Camille, Laurent et Claudie,

Merci de m'avoir accueillie si chaleureusement dans votre équipe depuis mes débuts, de m'avoir toujours fait confiance et toujours poussé à me lancer (malgré mes gaffes !). Je vous dois mes premiers pas dans ce si beau métier, Merci !

A Lulu,

Sans qui l'école véto de Toulouse serait une école comme toutes les autres. Pour tout ce que tu apportes aux étudiants qui savent t'écouter.





## TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....17

### PARTIE I : ETUDE STRUCTURALE

I. Du gène à la protéine..... 21

A. Localisation et organisation du gène obèse (« *Ob* ») ..... 21

B. Séquence nucléotidique et polypeptidique chez le chien et le chat..... 25

C. Structure de la protéine mature ..... 25

1. Structure secondaire ..... 25

2. Structure tertiaire ..... 27

3. Domaines de liaison au récepteur..... 27

II. Comparaisons intra-spécifique et inter-spécifique ..... 28

A. Comparaison intra-spécifique : au sein de la famille des canidés..... 28

B. Comparaisons inter-spécifiques ..... 29

III. Méthodes de dosage ..... 33

A. Dosage par RIA : Multi-Species RIA Kit. .... 33

B. ELISA..... 35

C. Valeurs usuelles de la leptinémie chez le chat et le chien..... 36

### PARTIE II : ETUDE METABOLIQUE

I. Biosynthèse et sécrétion : localisation et modes de sécrétion ..... 41

A. Origine..... 41

B. Biosynthèse ..... 43

1. Sécrétion endocrine de l'adipocyte ..... 43

2. Sécrétion exocrine de la cellule principale de la muqueuse fundique..... 45

II. Régulation ..... 47

A. Variations physiologiques de la leptinémie ..... 47

B. Mécanismes de régulation de la leptinémie ..... 50

1. Mécanismes de régulation de la traduction ..... 50

2. Mécanismes de régulation de la transcription du gène *Ob*..... 54

a) C/EBP-box et C/EBP $\alpha$  ..... 54

b) E-Box et facteurs de régulation HbH ..... 54

c) CRE et dimère CREBP/CREM $\alpha$ ..... 55

d) AP-2 box et dimères myc/max ..... 57

e) NRE et dimère NF- $\kappa$ B ..... 57

f) GRE et glucocorticoïdes..... 59

g) Autres facteurs de régulation : les cytokines..... 63

3. Mécanismes de régulation de la sécrétion directe de leptine : cas des cellules principales de l'estomac ..... 67

III. Devenir ..... 69

A. Transport et distribution ..... 69

B. Catabolisme et voies d'élimination ..... 71

### PARTIE III : ETUDE FONCTIONNELLE

I. Mode d'action. .... 75

A. Organisation et répartition du récepteur *Ob* (*Ob-R*) ..... 75

1.	Organisation structurale et isoformes.....	75
2.	Répartition des différentes isoformes du récepteur.....	77
3.	Mécanisme d'interaction de la leptine avec son récepteur.....	79
B.	Activation intracellulaire et induction des effets biologiques.....	81
1.	La voie JAK/STAT (Janus Kinases / Signal Transducers and Activators of Transcription).....	81
2.	La voie MAPK/ERK (mitogen-actevated protein kinase/ Extracellular-signal-regulated kinase).....	83
3.	La voie PI <sub>3</sub> K/PDE3B/AMPC (phosphatidylinositol-3 Kinase/ phosphodiesterase 3B/AMPC).....	87
4.	La voie AMPK (5'-AMP-activated protein kinase).....	89
5.	Les voies de régulation intrinsèques du signal leptine.....	89
II.	Les rôles de la leptine.....	93
A.	Rôle dans le maintien de l'homéostasie énergétique.....	93
1.	Action centrale : régulation de la prise alimentaire.....	93
a)	L'hypothalamus : centre de régulation de l'homéostasie énergétique.....	93
b)	Peptides hypothalamiques.....	94
c)	Action directe de la leptine sur l'hypothalamus.....	97
2.	Rôles de la sécrétion stomacale de leptine : genèse du phénomène de satiété.....	101
a)	Rôle dans l'absorption des nutriments.....	101
b)	Contrôle des signaux sensitifs afférents (nerf vague, X).....	102
3.	Action périphérique : régulation du métabolisme glucidique et lipidique.....	103
4.	Régulation centrale de la dépense énergétique et adaptation au jeûne.....	107
a)	Rôle dans la régulation de l'activité du système nerveux sympathique.....	107
b)	Action sur l'axe thyroïdienne.....	109
c)	Action sur l'axe gonadotrope et la fonction de reproduction.....	111
d)	Action sur l'axe somatotrope.....	112
e)	Action sur l'axe corticotrope.....	113
B.	Actions périphériques de la leptine.....	117
1.	Rôles dans les réponses inflammatoire et immunitaire.....	117
2.	Rôles dans le déroulement de la gestation.....	119
3.	Rôle de la leptine dans la régulation de la pression artérielle physiologique, dans le système cardiovasculaire et dans l'angiogénèse.....	121
4.	Rôle dans la cancérogenèse.....	123
5.	Rôles dans le métabolisme osseux.....	125
III.	Applications médicales et perspectives.....	129
1.	Intérêt du dosage de la leptinémie.....	129
2.	Leptine et statut corporel.....	130
a)	Cas de déficits en leptine.....	130
b)	Situations de résistance à la leptine.....	132
3.	Leptine et immunité.....	135
4.	Leptine et reproduction.....	136
	CONCLUSION.....	139
	BIBLIOGRAPHIE.....	141

## TABLE DES ILLUSTRATIONS

### FIGURES

Figure 1 : Organisation schématique du gène <i>Obese</i> .....	20
Figure 2 : Organisation du promoteur du gène <i>Obese</i> chez l'homme.....	20
Figure 3 : Séquence nucléotidique de l'ADNc du gène <i>Obese</i> et polypeptidique de la leptine chez le chien .....	22
Figure 4 : Séquence nucléotidique de l'ADNc du gène <i>Obese</i> et polypeptidique de la leptine chez le chat .....	23
Figure 5 : Structure secondaire schématique de la leptine .....	24
Figure 6 : Structure tertiaire schématique de la leptine.....	24
Figure 7 : Localisation des sites impliqués dans la liaison de la leptine à son récepteur.....	26
Figure 8 : Comparaison interspécifique de la séquence amino-peptidique du gène <i>Obese</i> .	30
Figure 9 : Principe du dosage RIA de la leptine avec le kit Multi-species de Linco Research	32
Figure 10 : Principe du dosage de la leptine par ELISA de type Sandwich .....	34
Figure 11 : Représentation schématique d'un agrégat de cellules adipeuses .....	40
Figure 12 : Localisation de la leptine dans l'estomac chez l'homme et le rat .....	40
Figure 13 : L'adipocyte est une cellule sécrétrice : les produits de sécrétion de l'adipocytes en fonction de leur rôle principal .....	42
Figure 14 : schématisation de la voie de synthèse et de sécrétion de la leptine dans l'adipocyte : sécrétion constitutive .....	42
Figure 15 : Evolution de la synthèse et de la sécrétion de leptine par l'adipocyte en fonction du temps, en présence et en absence d'insuline .....	44
Figure 16 : Synthèse et sécrétion de leptine par l'adipocyte en présence et en absence de cycloheximide .....	44
Figure 17 : Immunomarquage à l'or de la leptine dans la cellule principale .....	44
Figure 18 : Influence du repas et des périodes de jeûne sur la leptinémie chez le chien. Influence du pic d'insuline post-prandial .....	48
Figure 19 : schématisation des voies d'amplification de la traduction par la voie mTOR et par l'insuline .....	52
Figure 20 : Stimulation de la traduction par phosphorylation de l'inhibiteur 4 E-BP .....	52
Figure 21 : Régulation transcriptionnelle du gène <i>Obese</i> par occupation d'un CRE .....	56
Figure 22 : schématisation du domaine de fixation à l'ADN du facteur NF- $\kappa$ B .....	56
Figure 23 : Mode d'action schématique des glucocorticoïdes .....	58
Figure 24 : Organisation générale d'un récepteur à ligand apolaire. ....	58
Figure 25 : Effet de l'injection de dexaméthasone sur la leptinémie sur le chien à jeun et nourri .....	60
Figure 26 : Effet de l'injection de methylprednisolone sur la leptinémie du chien en fonction de la dose injectée . ....	60
Figure 27 : Effet de l'ajout de TNF $\alpha$ (10 ng/ml) à une culture d'adipocytes humains en absence et en présence d'insuline (7 nm), de dexaméthasone (25 nm) et en présence d'insuline (7nm) et de dexaméthasone (25 nm) .....	62
Figure 28 : Effet de l'ajout de TNF $\alpha$ (10 ng/ml) sur l'activation de MAPK p38 dans une culture d'adipocytes humains .....	62
Figure 29 : Mode d'action des cytokines sur la transcription .....	62
Figure 30 : La régulation de la sécrétion de leptine par l'adipocyte .....	66
Figure 31 : Capacité de transport de la leptine chez l'homme en fonction de la leptinémie totale .....	68

Figure 32 : Pourcentage de saturation des transporteurs de la leptine en fonction de la leptinémie totale .....	68
Figure 33 : Les différentes isoformes du récepteur Ob (Ob-R) . .....	74
Figure 34 : Représentation schématique et rôle des sous-domaines du récepteur Ob-Rb .....	74
Figure 35 : Interaction de la leptine et du domaine CRH2 de Ob-R. ....	78
Figure 36 : Modèles d'interaction entre la leptine et son récepteur .....	78
Figure 37 : Schématisation de la cascade réactionnelle JAK / STAT .....	82
Figure 38 : Schématisation de la cascade réactionnelle MAPK / ERK .....	84
Figure 39 : Schématisation de la cascade réactionnelle PI3K .....	86
Figure 40 : régulation du signal leptine par les protéines SOCS . .....	88
Figure 41 : Internalisation des récepteurs activés : régulation par diminution du nombre de récepteurs membranaires .....	88
Figure 42 : Les noyaux hypothalamiques impliqués dans l'homéostasie énergétique .....	92
Figure 43 : Interactions entre les noyaux hypothalamiques impliqués dans la régulation de l'homéostasie énergétique .....	92
Figure 44.A et B : Mise en place des circuits orexigènes et anorexigènes hypothalamiques..	96
Figure 45 : Régulation par la leptine des circuits orexigènes et anorexigènes hypothalamiques.....	98
Figure 46 : Actions périphériques de la leptine stomacale dans la genèse de la satiété.....	100
Figure 47 : Effets de la leptine sur la régulation périphérique de l'homéostasie énergétique : actions sur les tissus musculaires et adipeux.....	104
Figure 48 : Régulation par la leptine de l'axe thyroïdienne.....	108
Figure 49 : Régulation par la leptine de l'axe gonadotrope. ....	110
Figure 50 : Rôle hypothétique de la leptine dans la régulation de l'axe corticotrope.....	114
Figure 51 : Rôle de la leptine dans la régulation de la réponse immunitaire et de la réponse inflammatoire .....	116
Figure 52 : Rôles de la leptine dans la gestation .....	120
Figure 53 : Rôle bivalent de la leptine dans la régulation centrale du métabolisme osseux..	124
Figure 54 : Bilan des rôles de la leptine dans le maintien de l'homéostasie énergétique .....	126

## **TABLEAUX**

Tableau 1 : Pourcentage d'homologies des séquences nucléotidiques et polypeptidiques des leptines canines et félines avec les autres espèces. ....	30
Tableau 2 : Variation de la leptinémie ( $\mu\text{g/L}$ ) chez le chien en fonction de la race, du sexe et du BCS (Body Condition Score). Etude sur 166 chiens. ....	48
Tableau 3 : Modalités de Régulation de la transcription du gène <i>Obese</i> par les adipocytes en fonction des facteurs de transcription et des signaux hormonaux identifiés.....	64

## **TABLE DES ABREVIATIONS**

ACC : acétyl-coA carboxylase  
ADN : acide desoxyribo-nucléique  
ADNc : ADN complémentaire  
AGNE : acides gras non estérifiés  
AgRP : agouti-related peptide  
AMP : adenosine monophosphate  
AMPc : adenosine monophosphate cyclique  
AMPK : 5'-AMP-activated protein kinase  
AP1 et AP2 : activating proteins 1 et 2  
ARN : acide ribo-nucléique  
ARNm : ARN messenger  
ATP : adenosine triphosphate  
BDNF : brain-derived neurotrophic factor  
BHE : barrière hémato-encéphalique  
CART : cocaïne and amphetamine related peptide  
CCK : cholécystokinine  
C/EBP $\alpha$  : CCAAT/enhancer-binding protein  
CIS : cytokine-inducible sequence  
CPT1 : carnitine-palmitoyl-transferase 1  
CRE : AMPc response element  
CREBP : CRE binding protein  
CREM $\alpha$  : CRE modulator  
CRH : corticotropine releasing hormone  
CRH1 et 2 : cytokine receptor homology 1 et 2  
CRH<sub>1</sub>R et CRH<sub>2</sub>R : récepteur de CRH type 1 et type 2  
CTP1 : carnitine palmitoyl-transferase 1  
DAG : diacylglycerol  
DMNX : noyau moteur dorsal du nerf vague (X)  
ERK : extracellular-signal-regulated kinase  
FNIII : Fibronectine III  
FSH : hormone folliculo-stimulante  
GABA : acide gamma-aminobutyrique  
GALP : galanine like peptide  
G-CSF : granulocyte stimulating factor  
GDP : guanosine diphosphate  
GH : hormone de croissance  
GHRH : GH releasing hormone  
GHRH-R : récepteur du GHRH  
Gi : G inhibiting  
GLUT 4 : transporteur du glucose 4  
GnRH : gonadotropine releasing hormone  
GR : glucocorticoid receptor  
GRE : glucocorticoid response element  
Gs : G stimulating  
GS3K : glycogène synthetase kinase  
GTP : guanosine triphosphate  
HbH : hélice-boucle-hélice

HCl : acide chloridrique  
 HCG : gonadotrophine chorionique humaine  
 HIF-1 $\alpha$  : hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  His : histidine  
 IGF-1 : insuline-like growth factor-1  
 IFN $\gamma$  : interferon  $\gamma$   
 IL-1 : interleukine 1  
 IP<sub>3</sub> : inositol diphosphate  
 IP<sub>4</sub> : inositol triphosphate  
 IRS1 et 2 : insulin receptor substrate 1 et 2  
 JAK : Janus kinases  
 JNK : c-JUN N-Terminal kinase  
 Kb : kilobase  
 LCS : liquide cérébro-spinal  
 LH : hypothalamus lateral  
 LH : hormone lutéinisante  
 LIF : leukemia inhibitory factor  
 LT4 : lymphocyte T CD4+ (auxiliaire)  
 LT<sub>NK</sub> : lymphocyte T natural killer  
 MAPK : mitogen-activated protein kinase  
 MAPKK (MEK) : mitogen-activated protein kinase kinase  
 MAPKKK (raf) : mitogen-activated protein kinase kinase kinase  
 MAPKKKK (mos) : mitogen-activated protein kinase kinase kinase kinase  
 MCH : melanine concentrating hormone  
 MCT1 : transporteur de monocarboxylates de type 1  
 mTOR : mamalian target of rapamycin  
 MSH $\alpha$  : melanocortine stimulating hormone  $\alpha$   
 NA : noyau arqué  
 NDM : noyau dorso-médian  
 NO : oxyde nitrique  
 NPV : noyau paraventriculaire  
 NRE : NF- $\kappa$ B response element  
 NTS : noyau du tractus solitaire  
 NVM : noyau ventro-médian  
 NPY : neuropeptide Y  
 PDE3B : phosphodiesterase 3B  
 PFK2 : phosphofructokinase 2  
 PI<sub>3</sub>K : phosphatidylinositol-3 Kinase  
 PiP<sub>2</sub> : phosphatidyl-Inositols diPhosphates  
 PKA : protéine kinase AMPc dépendante  
 PKB : protéine kinase B  
 PKC : protéine kinase C  
 PKD1 et 2 : kinases phosphoinositol dépendantes 1 et 2  
 PLC : phospholipase C  
 POMC : propiomélanocoïne  
 PP-1 : protéine phosphatase 1  
 PPAR $\gamma$  : peroxisome proliferator-activated receptor  
 PTB1 : protein tyrosine phosphatase 1B  
 RER : reticulum endoplasmique rugueux  
 SAPK : stress activated protein kinase  
 S6Ks : kinases S6

SCD 1 : steroyl CoA desaturase 1  
 SH2 : SRC-like homology 2  
 SHP-2 : SH2 domain-containing protein tyrosine phosphatase  
 SNA : système nerveux autonome  
 SNC : système nerveux central  
 SOCS : Suppressors of Cytokine Signalling  
 STAT : Signal Transducers and Activators of Transcription  
 STT (SIRF) : somatostatine  
 TNF $\alpha$  : tumor necrosis factor  $\alpha$   
 TRH : thyrotropine releasing hormone  
 TSH : thyroid stimulating hormone  
 UDP-NAcGlc : UDP-N-acétyl-glucosamine  
 VEGF : vascular endothelial growth factor  
 YR1 : récepteur du NPY 1

### ACIDES $\alpha$ AMINES

<b>Nom</b>	<b>Code à 1 lettre</b>	<b>Code à 3 lettres</b>	<b>Nom</b>	<b>Code à 1 lettre</b>	<b>Code à 3 lettres</b>
<u>Alanine</u>	A	Ala	<u>Leucine</u>	L	Leu
<u>Arginine</u>	R	Arg	<u>Lysine</u>	K	Lys
<u>Asparagine</u>	N	Asn	<u>Méthionine</u>	M	Met
<u>Aspartate</u>	D	Asp	<u>Phénylalanine</u>	F	Phe
<u>Cystéine</u>	C	Cys	<u>Proline</u>	P	Pro
<u>Glutamate</u>	E	Glu	<u>Sérine</u>	S	Ser
<u>Glutamine</u>	Q	Gln	<u>Thréonine</u>	T	Thr
<u>Glycine</u>	G	Gly	<u>Tryptophane</u>	W	Trp
<u>Histidine</u>	H	His	<u>Tyrosine</u>	Y	Tyr
<u>Isoleucine</u>	I	Ile	<u>Valine</u>	V	Val





## INTRODUCTION

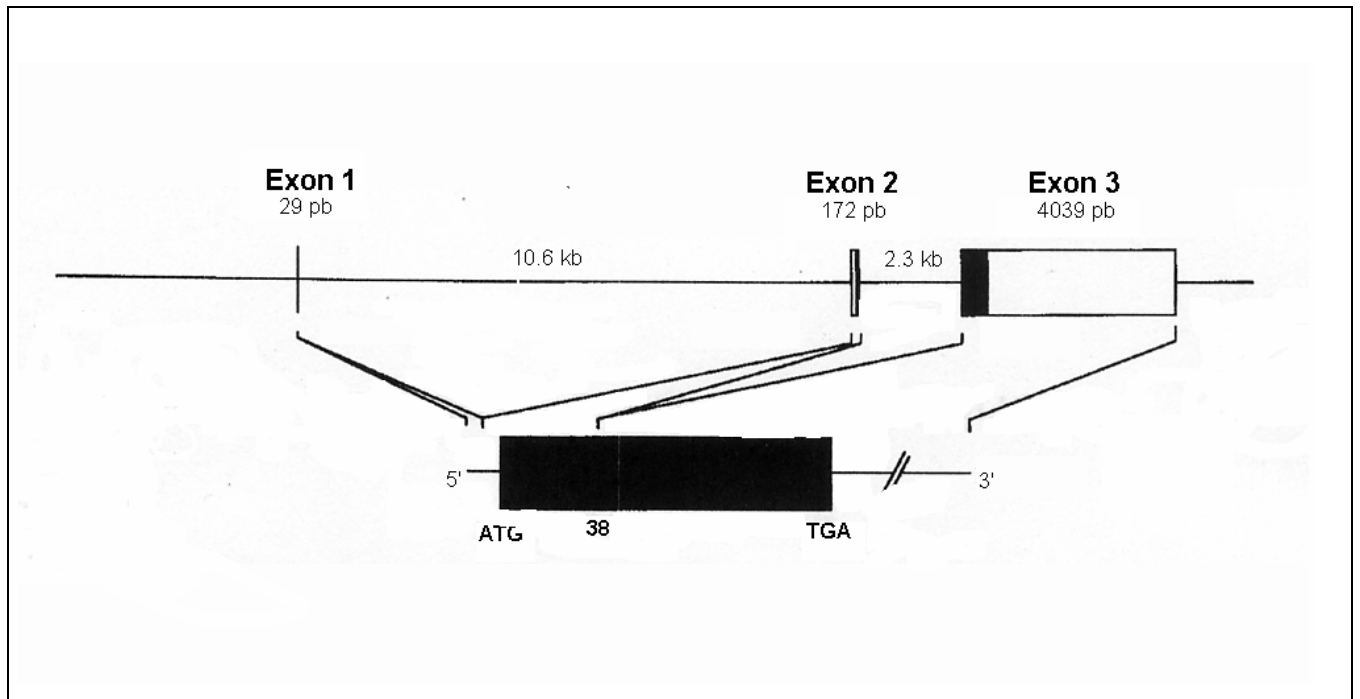
La leptine est une hormone polypeptidique polaire de 146 acides  $\alpha$  aminés, découverte en 1994 par Zhang *et al* (179). Elle est sécrétée principalement par les adipocytes et joue un rôle fondamental dans la régulation de la prise alimentaire et de la dépense énergétique, en agissant directement au niveau de l'hypothalamus et des tissus périphériques. Depuis sa découverte la leptine a fait l'objet de nombreuses études cherchant à éclaircir son rôle exact dans la régulation de la prise alimentaire et la physiopathologie de l'obésité, principalement chez l'homme mais aussi chez les carnivores domestiques. L'obésité est le désordre nutritionnel le plus courant en médecine vétérinaire, avec une prévalence de 20 à 35 % chez le chien et le chat. Elle s'accompagne de nombreux problèmes de santé et d'une diminution de l'espérance de vie, ce qui en fait un problème médical majeur.

Les modèles murins de déficience en leptine (souris ob/ob) et de déficience en son récepteur (souris db/db) présentent une obésité morbide, si bien que la leptine a d'abord été qualifiée d'hormone « anti-obésité », représentant un nouvel espoir thérapeutique pour la correction de ce désordre métabolique. Malheureusement, la recherche a rapidement montré que l'obésité commune n'est pas associée à une déficience en leptine mais à une résistance à l'action centrale de cette hormone, elle-même induite par l'augmentation de la leptinémie associée à l'augmentation du poids. La leptine apparaît aujourd'hui être le garant de l'équilibre entre les apports et les dépenses énergétiques dans les conditions physiologiques, protégeant ainsi l'organisme du jeûne et de l'obésité.

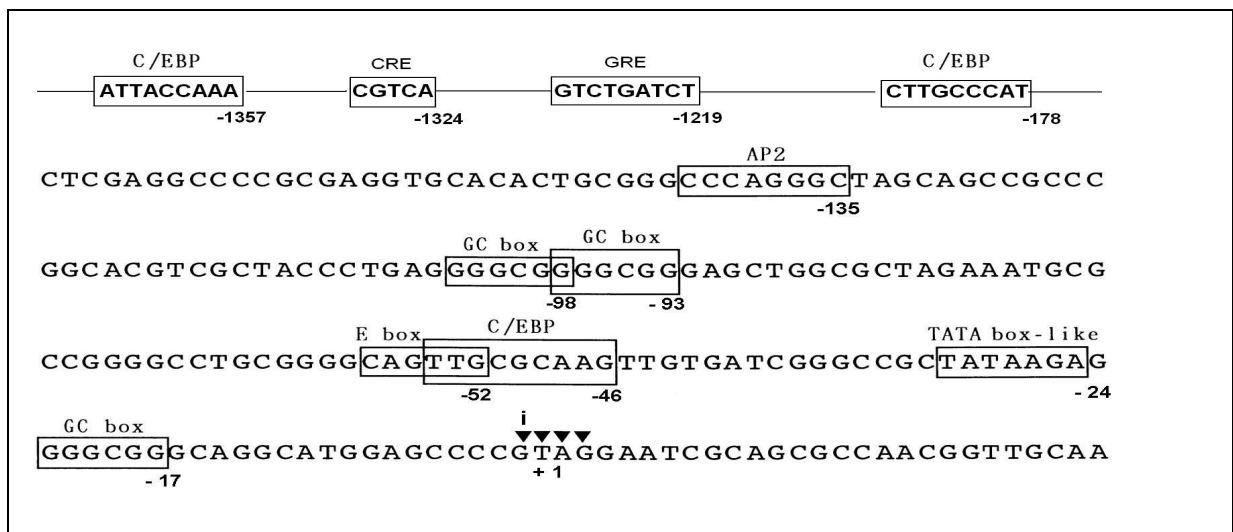
L'objectif de cette étude est de faire le point sur les connaissances actuellement disponibles sur la leptine chez les carnivores domestiques, afin de mieux comprendre ses implications dans le métabolisme de ces espèces. Lorsqu'aucune donnée n'est encore disponible spécifiquement, les données établies chez l'homme et les rongeurs de laboratoire ont été exploitées, en admettant qu'elles soient éventuellement extrapolables chez le chien et le chat. La première partie sera consacrée à l'étude structurale de la protéine chez les carnivores domestiques et aux comparaisons intra et interspécifiques ; la seconde partie regroupera les données métaboliques disponibles, concernant la synthèse, la sécrétion, la régulation et l'élimination de l'hormone; enfin la troisième partie s'intéressera à l'étude fonctionnelle, en décrivant tout d'abord les voies de signalisation impliquées dans les actions de la leptine avant d'envisager ses différents rôles et les applications médicales qui en découlent.



# **PARTIE I : ETUDE STRUCTURALE**



**Figure 1** : Organisation schématique du gène *Obese* (d'après 56,80)



**Figure 2** : Organisation du promoteur du gène *Obese* chez l'homme (d'après 65,80)

i : point d'initiation de la transcription ; C/EBP : CCAAT/enhancer -binding protein ; GC box : site de fixation pour activatrices à doigt de zinc de type Sp1 ; GRE : Glucocorticoid response element ; CRE : AMPc response element.

## I. Du gène à la protéine.

### A. Localisation et organisation du gène *obèse* (« *Ob* »)

Le gène « *obese* », codant pour la leptine, a été identifié pour la première fois en 1994 chez la souris, sur le chromosome 6 (179). Chez l'homme, il est localisé sur le bras long du chromosome 7 (7q32) (55). Il n'a pas été localisé précisément chez les carnivores domestiques.

Son organisation a été étudiée chez l'homme et la souris (65,80). Chez l'homme, il compte environ 20 kilobases (kb) (Figure 1), et est composé de 3 exons séparés par deux introns. Le premier exon donne le début de la séquence 5' non transcrite. Le deuxième exon code pour la fin de la séquence 5' non transcrite et les 48 premiers acides  $\alpha$  aminés. Le troisième exon donne le reste de la séquence codante (118 ou 119 acides  $\alpha$  aminés) et l'extrémité 3' non transcrite. Le premier intron mesure 10.6 kb et le deuxième 2.3 kb. On retrouve la même organisation chez la souris, seule la taille des introns diffère (7.5 kb et 1.7 kb respectivement).

L'analyse informatique de la région 5' flanquante du gène chez l'homme a permis d'identifier de nombreux sites permettant la liaison de facteurs de transcription (Figure 2). Entre -24 et -30 pb on reconnaît une boîte TATA, nécessaire à la constitution du complexe d'initiation de la transcription. On trouve ensuite 3 séquences consensus riches en GC permettant la fixation de protéines activatrices à doigt de zinc de type Sp1 (situées à -17, -93 et -98 pb). Le promoteur contient également un CRE (AMPC response element), un GRE (glucocorticoid response element), un site C/EBP (CCAAT/enhancer-binding protein), une E-box et un site AP-2 (56,80). Une organisation comparable du promoteur est également décrite chez la souris (65).

séquence 5' non traduite

1 START peptide signal gggccgagacgtacatcctgggaaggaaa

30 **atg** ctt tgt gga ccc ttg tgc cga ttc ctg tgg ett tgg ccc tat ctg tcc tat gtt gaa  
 1 Met Leu Cys Gly Pro Leu Cys Arg Phe Leu Trp Leu Trp Pro Tyr Leu Ser Tyr Val Glu

90 gct gtg cca atc cga aaa gtc cag gat gac acc aaa acc ctc atc aag acg att gtc acc  
 21 Ala Val Pro Ile Arg Lys Val Gln Asp Asp Thr Lys Thr Leu Ile Lys Thr Ile Val Thr  
 site d'épissage alternatif

150 agg atc aat gac att tca cac acg **cag** tct gtc tcc tcc aaa cag aga gtc gct ggt ctt  
 41 Arg Ile Asn Asp Ile Ser His Thr Gln Ser Val Ser Ser Lys Gln Arg Val Ala Gly Leu

210 gac ttc att cct ggg ctc cac cct gtc ctg agt ttg tcc aag atg gac cag aca ttg gcc  
 61 Asp Phe Ile Pro Gly Leu His Pro Val Leu Ser Leu Ser Lys Met Asp Gln Thr Leu Ala

270 atc tac caa cag atc ctc acc ggt ctg cct tct aga aac gtg gtc caa ata tct aat gac  
 81 Ile Tyr Gln Gln Ile Leu Thr Gly Leu Pro Ser Arg Asn Val Val Gln Ile Ser Asn Asp

330 cta gag aac ctc cgg gac ctt ctc cac ctg ctg gct tcc tcc aag aac tgt ccc ttg ccc  
 101 Leu Glu Asn Leu Arg Asp Leu Leu His Leu Leu Ala Ser Ser Lys Asn Cys Pro Leu Pro

390 cgg gcc agg ggc ctg gag acc ctc gag agc ctg ggc ggt gcc ctg gaa gcc tca ctc tac  
 121 Arg Ala Arg Gly Leu Glu Thr Leu Glu Ser Leu Gly Gly Ala Leu Glu Ala Ser Leu Tyr

450 tcc acg gag gtg gtg gcc ctg agc agg ctg cag gct tct cta cag gac atg ctt tgg cgg  
 141 Ser Thr Glu Val Val Ala Leu Ser Arg Leu Gln Ala Ser Leu Gln Asp Met Leu Trp Arg

STOP

510 ctg gac ctc agc cct ggg tgc **tga** ggcctggaagacctctcgtcccaaagtcgaggagagaacccatggc  
 161 Leu Asp Leu Ser Pro Gly Cys \*\*\*

séquence 3' non traduite

580 tcccagggtgtcttcagcagagagcctgtgtgggtgtcctttatccaggccccaggccattagtctctcacacctttgagc  
 660 cactcttccaaaggcataagccttcaaggcacgaaaccaaagatagaatgcatgatctctgtgctcaccgggaaggagac  
 740 ccaccgggcaatgaaccggacctgaggatctcacaaaagccttctctctgtgccacctccctctcaccgcatgcttca  
 820 gcgtgacctggggtgatttcaggaggcaccgctgagcctttggaccatcaagcaggttctgtctgagaattctgagaa  
 900 caccatgacggttacatccacatagctgcaaacctccaagcaacacattatttctgctgtttatcctggatggatcc  
 980 gaagcaaacacgacgttttccaggctctttggggccagccaggctagggatgctgcttccagccccgctggtggcct  
 1060 ggctaaggcaaacccatttctatgtgacttgagggtctcaagttagttctttggtaactggtttgtttctaccgtgac  
 1140 tgatgtgaaattacagtgtttgcaatggcattgocctgagcagatctccaaggaccagggttcttccaaaaagaagatgaa  
 1220 ttttgtcaagtgtgatataatagatgtgtgcacctggaggtgggggaacctgttagtgggaaggggaaggatcagaatgta  
 1300 ttttctgaattacatttgtgtgatggcctcttcggatggggtggagtcattttctcatctctgcagccacttagtgggt  
 1380 tttctggaaaaatacaaggagatgactcctttgggaggggggggtgtggggtttggcagccacctatggaggggaggc  
 1460 tggggactgtctattgggacagtgtgagctctggccttctccaattgcgagagagaggtctttctatcaggggagtgag  
 1540 gatccctcactggagaccatgatcccagagcaggggtccttggaaatggcccttggaaatggtctggggatgatcccacac  
 1620 tggatttattacatggcagtagccctacttgggatttgcagcacaatttgggttctcatcagactggcccacccaaagc  
 1700 atgaccatgttctcaccatttgggtgtggatttttatccagtggaaggtctgtgggcttggcgggtggtcccaaaa  
 1780 cttgggcccagcaatgctgagtgccaggactcccggccgggctgcccaggagcgccttcccactagaggatcatggttgg  
 1860 gggatgaatgaaacaaggaggcttgggttttccaccgtctgccactgttatgaggccatcagctgacccgggggtggtct  
 1940 gtccaaggaaaattcgaatcaaagctatcaacgttcagactgagcaccctacttcgctcagccctgatgggtgctatggg  
 2020 ctagagaagctcaccagtaaacgttaaaatccagctctgcccctcagggaaccttgcattcccgatggtaaaaactttaca  
 2100 cagcagcgtcaaggctggcctttccacctggttaaccaagctgctaaaagagcagctcctgagcaggtgggaaatgctgg  
 2180 ggggagggtggcagctcctcaggggcccactggctaacctgcttgcacttggtagcatttttcttctcaggggcccggca  
 2260 gcatttaattaccgtgtagccacatccctttgaagcagcttggctgacaatttataaaatgagaacatgcttgagaccataa  
 2340 cagctgataggtagctgggccaagactagagctcaggtcctctggctcccagagtgctcccgcagccaggtcgtgctcc  
 2420 ccggaggtacaaaataggcactgggcaaggagaccaggagtgattgctgggagcagggagctggaggcaactttgcagga  
 2500 ggtgagggtatgaaatgcttggagggtggaggtgttttggctggcgtgagacaccagggtgaaggcaagtgcagccag  
 2580 ttacaaagaaagcagacaaaaggacagacgaggggaaagggaacacatggaaagagcccttctgcccgaagaagttgat  
 2660 atcgaagggttaagagtgaagttccagagcagagcagattcatgagatggacagagtaaggcccttctggagaatac  
 2740 gacctagataatcactaccaccagtcaggctgggatcttttaagccttctcattcaccaaaacccggcactgtgcttat  
 2820 tctcagagtgtaaaagttctaaaatgtaaatgatgtctttttttgtaacttcaaaaaatttttttgggtgttaaaaa  
 2900 aaaaaaaaaatccaagataaataactttgcccctg

**Figure 3** : Séquence nucléotidique de l'ADNc du gène Obese et polypeptidique de la leptine chez le chien (d'après 82)

séquence 5' non traduite

-31 GAGGCCCAACAAGCACAGCCGGGGAAGGAAA

START peptide signal

1 **ATG**CGTTGTGGACCTCTGTGCCGATTCCCTGTGGCTTTGGCCCTATCTGTCCTGTGTTGAA  
**MetArgCysGlyProLeuCysArgPheLeuTrpLeuTrpProTyrLeuSerCysValGlu**

21 GCTGTGCCAATCCGAAAAGTCCAGGATGACACCAAACCCCTCATCAAGACGATTGTCCGCC  
**AlaValProIleArgLysValGlnAspAspThrLysThrLeuIleLysThrIleValAla**

41 AGGATCAATGACATTTACACACAG**CAG**TCTGTCTCCTCCAAACAGAGGGTCGCTGGTCTG  
site d'épissage alternatif  
**ArgIleAsnAspIleSerHisThrGlnSerValSerSerLysGlnArgValAlaGlyLeu**

61 GACTTCATTCCCTGGGCTCCAACCAGTCCTGAGTTTGTCCAGGATGGACCAGACGTTGGCC  
**AspPheIleProGlyLeuGlnProValLeuSerLeuSerArgMetAspGlnThrLeuAla**

81 ATCTACCAACAGATCCTCAACAGTCTGCATTCCAGAAATGTGGTCCAAATATCTAATGAC  
**IleThyGlnGlnIleLeuAsnSerLeuHisSerArgAsnValValGlnIleSerAsnAsp**

101 CTGGAGAACCTCCGGGACCTTCTCCACCTGCTGGCCTCCTCCAAGAGCTGCCCTTGCCC  
**LeuGluAsnLeuArgAspLeuLeuHisLeuLeuAlaSerSerLysSerCysProLeuPro**

121 CGGGCCAGGGGCTGGAGACCTTTGAGAGCCTGGGCGGCGTCCTGGAAGCCTCACTCTAC  
**ArgAlaArgGlyLeuGluThrPheGluSerLeuGlyGlyValLeuGluAlaSerLeuThy**

141 TCCACAGAGGTGGTGGCTCTGAACAGACTGCAGGCGGCCCTCCAGGACATGCTTCGGCGG  
**SerThrGluValValAlaLeuAsnArgLeuGlnAlaAlaLeuGlnAspMetLeuArgArg**

161 CTGGACCTCAGCCCTGGGTGC<sup>STOP</sup>**TGA**GACCTCGAAGGCTTCTCTTCCCAAGTCGAGGAGAG  
**LeuAspLeuSerProGlyCys \***

séquence 3' non traduite

181 AACCTGGGCTCCCAGGTGTCTCCAGGAAAGAGACCGTATGGGTGTCCTTTATCCTGGCCC

201 CTAGCCGTTTCTCTCTCACACCACAGAGCCACTCTTCCAAAGGCATAAGCCTCCACGGCA

221 CAAAACCAAAGATAAGAATGCAGGATTCCATGCTCACCGGGAAGGGGGACCCACCTGGCA

241 AACAGTGACCTGCATCTGGGGTTCTCACAAAAGGCTTCTTCTGTGCCACCTCCCCCT

261 CACTGCATGCTTCAGCGTGACCTGGGGTGATGTCAGGAGGCACCCGCTGAGCCTTTGGAC

281 CATCAAGCAAGGTTCTGTCTGAAAATTCTGGGAGCACCATGAAAGCTACATCCACATA//

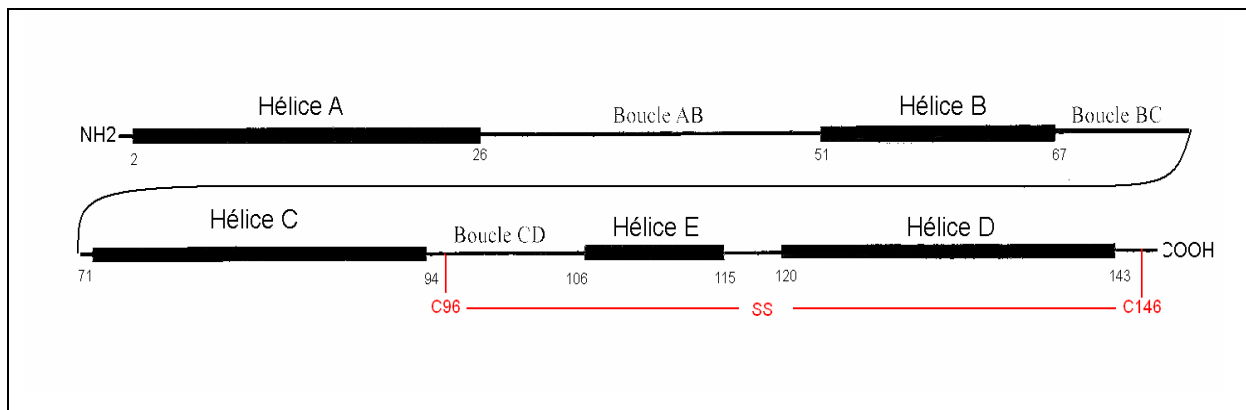
900 GAGTATGACCTAGATAATCATTACCACCCAGCCAGGCTGGGATCTTTTAAAGCCTTTCCTACT

920 TACCCAAACCTGGCACCATGGCTCATTCTCAGAGTGTGAAAGTTCTAAAATGTAAATGAA

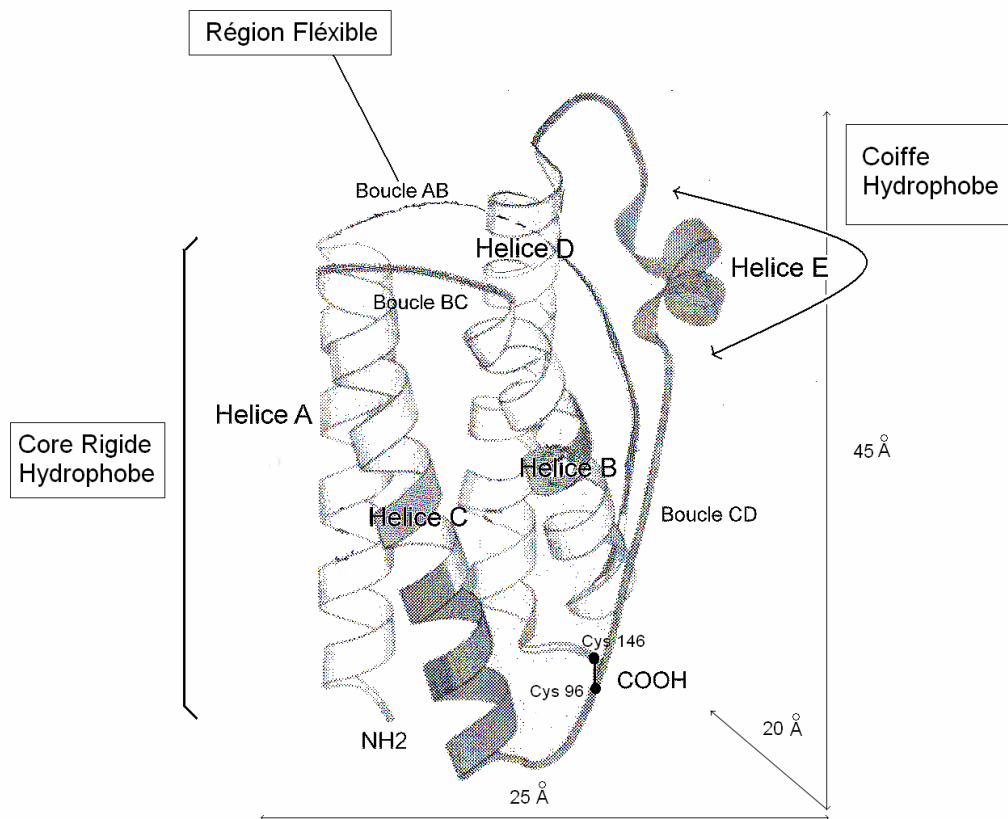
940 TGTCTTTTTTTGTAACCTAAAAAATTTTTTTTCTTGTTAAAAAAGTCAAATAAA

960 TTAACCTTGCCCCC

**Figure 4 : Séquence nucléotidique de l'ADNc du gène *Obese* et polypeptidique de la leptine chez le chat (d'après 141)**



**Figure 5 : Structure secondaire schématique de la leptine (d'après 180)**



**Figure 6 : Structure tertiaire schématique de la leptine (d'après 54)**



## **B. Séquence nucléotidique et polypeptidique chez le chien et le chat**

Le gène a été séquencé chez le chien en 2000 (82) et chez le chat en 2001 (141). Les séquences sont enregistrées dans la GenBank-DDBJ-EMBL, respectivement sous les numéros AB020986 et AB041360.

Chez ces deux espèces l'ADNc (ADN complémentaire) identifié compte environ 3000 paires de bases (2936 chez le chat et 2925 chez le chien) organisées de la manière suivante (Figures 3 et 4). :

- une extrémité 5' non traduite de 31 paires de bases chez le chien et 29 paires de bases chez le chat.
- une région codante de 501 paires de bases
- une extrémité 3' non traduite de 2393 paires de bases chez le chien et 2406 chez le chat.

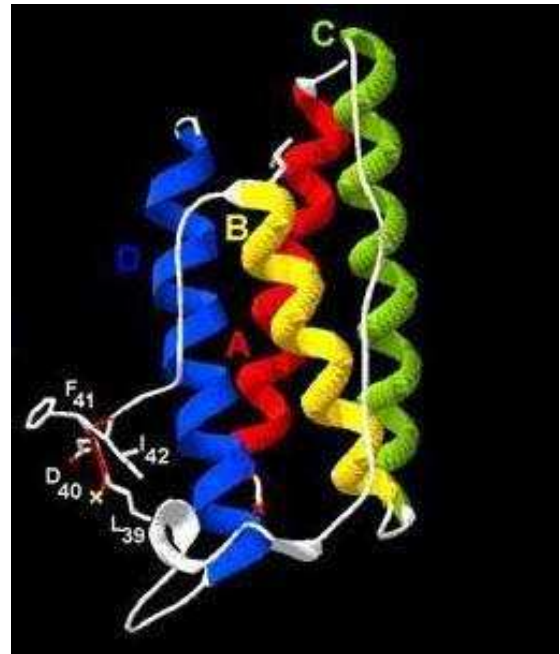
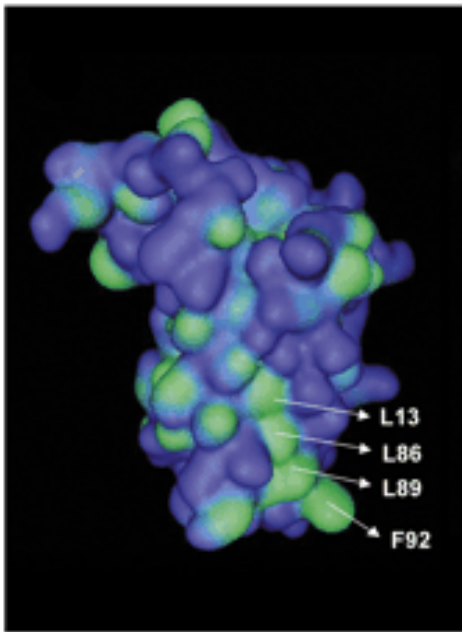
Cette séquence correspond à un peptide, la proleptine, de 167 acides  $\alpha$  aminés. Il se compose d'un peptide signal de 21 acides  $\alpha$  aminés éliminé ultérieurement dans les citernes du réticulum suivi des 146 acides  $\alpha$  aminés de la leptine qui subira comme seule modification post traductionnelle la formation des ponts dissulfures.

Il a été identifié un site d'épissage alternatif localisé au codon n°49 (CAG). Il en résulte un peptide de 166 acides  $\alpha$  aminés, la glutamine 49 étant absente. Cette délétion ne semble pas affecter l'activité biologique de la leptine et bien qu'elle ne soit pas rare on ignore si ce phénomène d'épissage alternatif est spécifique d'un tissu donné.

## **C. Structure de la protéine mature**

### **1. Structure secondaire**

Les 146 acides  $\alpha$  aminés de la leptine mature sont agencés de la manière suivante : quatre hélices  $\alpha$  (A, B, C et D) reliées par 3 boucles (AB, BC et CD), la boucle CD contenant une petite hélice E (180) (Figure 5).



**Figure 7 : Localisation des sites impliqués dans la liaison de la leptine à son récepteur (d'après 115,119)**

A : Représentation de la leptine en 3D et localisation du domaine de liaison au récepteur (site II) Les surfaces hydrophiles apparaissent en bleu et les surfaces hydrophobes apparaissent en vert. Les acides aminés impliqués dans la liaison au récepteur sont localisés par les flèches. B : Localisation du site III : acides aminés 39 à 42.

## 2. Structure tertiaire

La leptine est une protéine monomérique, allongée, aux dimensions approximatives de 20 Å x 25 Å x 45 Å. (Figure 6) (180).

Les quatre hélices sont disposées de manière anti-parallèle et forment un cylindre hydrophobe rigide. Les séquences amino-peptidiques fortement conservées se font face les unes aux autres au cœur de cette région ce qui indique son importance dans le maintien de l'intégrité structurale de la leptine (Figure 6).

Les deux cystéines Cys 96 et Cys 146 forment un pont dissulfure reliant l'extrémité terminale de la protéine au début de la boucle CD (Figures 5 et 6).

La première partie de la longue boucle AB (de Thr 27 à Gly 38) est une région très flexible. Les résidus Leu 106 à Gly 115 forment la petite hélice E de deux tours, située au milieu de la boucle CD qui forme une coiffe hydrophobe pour les résidus lipophiles des hélices B et D.

La structure de la leptine est assimilable à celle des protéines de la famille des cytokines à hélices, notamment de la GH (Growth Hormone), du LIF (Leukemia Inhibiting Factor) et du G-CSF (Granulocyte Colony Stimulating Factor), bien qu'il y ait peu de similitudes entre leurs séquences (180). Cette analogie s'étend à la structure de leur récepteur spécifique ce qui suggère un même mode d'interaction ligand-récepteur (cf. *infra*).

## 3. Domaines de liaison au récepteur.

Le système de liaison de la leptine à son récepteur montre une étroite homologie avec celui des cytokines à hélices, notamment l'interleukine 6 et G-CSF (118). Ces cytokines interagissent avec leur récepteur par l'intermédiaire de 3 sites différents, appelés sites I, II et III, le site II étant essentiel à la liaison au récepteur alors que les deux autres participent aux phénomènes de transduction.

Le site II (Figure 7.A) fait intervenir les hélices A et C, et met en jeu des interactions hydrophobes entre la Leu 13 (hélice A), la Leu 86 (hélice C) et la Leu 504 du récepteur (119). Une mutation de ces acides  $\alpha$  aminés abolit totalement la capacité de liaison du ligand à son récepteur.

Le site I est situé à l'extrémité C terminale de l'hélice D. Une mutation de ce site n'affecte pas la capacité de liaison de la leptine à son récepteur et n'affecte que faiblement la transduction du signal. Le site III est représenté par un domaine hydrophobe situé dans la boucle de connexion AB (acides  $\alpha$  aminés 39-42 ; Figure 7.B). Une mutation de ces acides  $\alpha$  aminés supprime la transduction du signal sans affecter la liaison. Ces mutants de la leptine se comportent donc comme des antagonistes (115).

## II. Comparaisons intra-spécifiques et inter-spécifiques

### A. Comparaison intra-spécifique : au sein de la famille des canidés

Le polymorphisme du gène a été étudié au sein de la famille des canidés, notamment en comparant les profils de migration des exons 2 et 3 du chien (*Canis familiaris*), du chien viverin (*Nyctereutes procyonoides procyonoides*), du renard (*Vulpes vulpes*) et du renard polaire (*Alopex lagopus*) (33). Les quatre espèces présentent 98% d'homologie dans leur séquence nucléotidique et 97% dans leur séquence amino-peptidique.

Aucune différence n'a été trouvée entre les exons 2 des quatre espèces. L'exon 2 code pour les 48 premiers acides aminés de la protéine mature, ce qui inclut l'hélice A et la boucle AB, deux sites nécessaires respectivement à la liaison au récepteur et à la transduction du signal.

Une variabilité relative a été identifiée sur l'exon 3. Le séquençage de cet exon a révélé l'existence de 4 substitutions dans la séquence codante dont 3 entraînent une substitution effective d'un acide  $\alpha$  aminé. Les deux premières substitutions ont lieu respectivement dans les codons 74, chez le renard et le renard polaire, et 87, chez le chien viverin, le renard et le renard polaire, ce qui correspond à l'hélice B de la protéine mature (acide  $\alpha$  aminé 53 et acide  $\alpha$  aminé 66). Néanmoins les acides  $\alpha$  aminés substitués présentent les mêmes propriétés chimiques que les acides aminés originaux, la structure de l'hélice n'est donc pas affectée. La troisième substitution se situe au codon 121, chez le renard uniquement, et se traduit par le remplacement d'une arginine par une proline chez le renard. Bien que ces acides  $\alpha$  aminés aient des propriétés chimiques différentes, cette substitution qui a lieu dans la boucle CD de la

protéine mature (acide  $\alpha$  aminé 100) ne joue pas de rôle majeur dans le maintien de l'organisation structurale et fonctionnelle de la protéine.

Malgré l'apparition de quelques mutations l'intégrité structurale et fonctionnelle de la leptine est fortement conservée au sein de la famille des canidés, ce qui suggère l'importance métabolique de cette protéine.

Cette étude a aussi eu pour objectif de rechercher un éventuel polymorphisme dans la séquence génique canine (comparaison des séquences de 8 chiens), mais aucun polymorphisme n'a pas été mis en évidence. Cependant Iwase *et al* (82) décrit l'existence d'une mutation de A vers G au codon 148 qui aboutit à la substitution d'une asparagine par une sérine, ces deux acides aminés ayant des propriétés chimiques équivalentes.

## **B. Comparaison inter-spécifique**

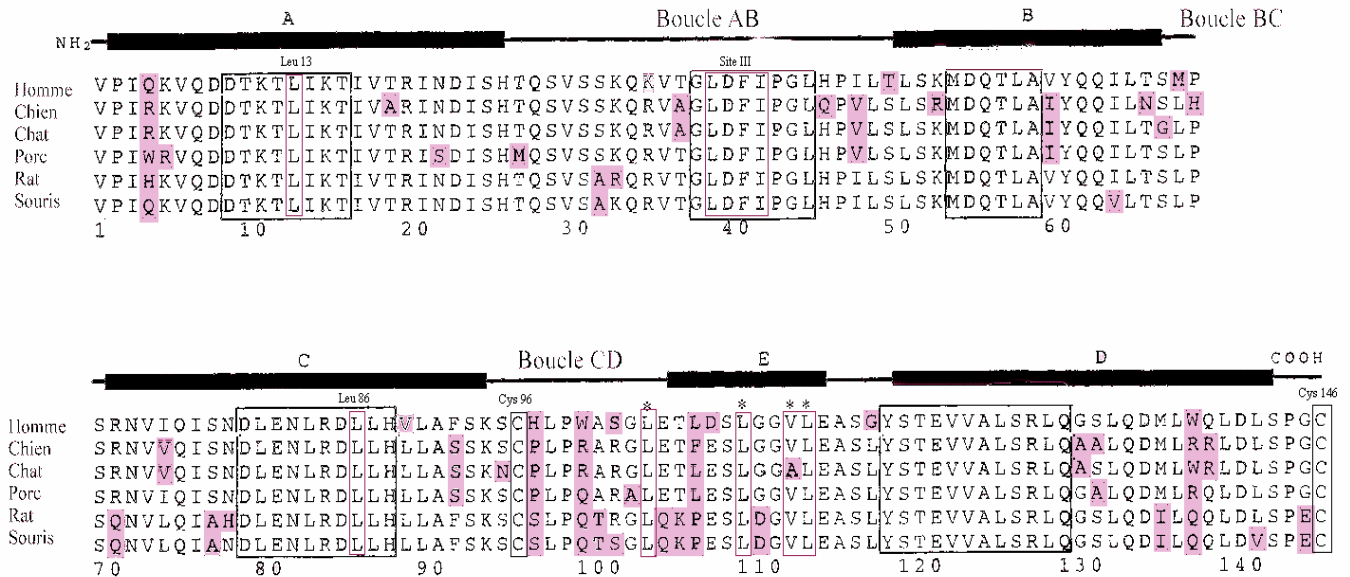
La comparaison des séquences nucléotidiques et amino-peptidiques des leptines canine et féline avec les leptines des autres espèces est illustrée par le tableau I et montre que les séquences nucléotidique et polypeptidique sont très bien conservées au cours de l'évolution, le pourcentage d'homologie le plus faible étant obtenu entre les séquences peptidiques de la leptine canine et celles des rongeurs (rat, souris).

Une étude plus fine des séquences polypeptidiques permet d'identifier 5 régions particulièrement conservées. Ces 5 régions sont identiques chez toutes les espèces étudiées à ce jour (Figure 8) (180), et se localisent dans chaque hélice (une région conservée par hélice) et dans la boucle AB.

Les 4 séquences fortement conservées des hélices se font face les unes aux autres au cœur de la protéine et forment un core cylindrique hydrophobe parallèle à l'axe du faisceau d'hélices. Les interactions entre les résidus de ces quatre régions semblent être nécessaires au maintien de l'intégrité structurale de la protéine ce qui explique leur conservation au cours de l'évolution. On observe aussi que les résidus Leu 13 et Leu 86 impliqués dans la liaison spécifique de la leptine à son récepteur sont situés dans ces régions. La dernière région conservée est située dans la boucle AB et correspond au site III d'interaction avec le récepteur.

	Chien	Chat	Homme	Souris	Rat	Porc	Bovin
<b>Chien</b>							
Séquence nucléotidique	100	93.5	88	84	83	92	89
Séquence polypeptidique	100	91.8	82	79	79	88	88
<b>Chat</b>							
Séquence nucléotidique	93.5	100	88.1	82.7	83.3	91.1	89.3
Séquence polypeptidique	91.8	100	86.3	81.5	82.2	90.1	89.7

**Tableau I :** Pourcentage d'homologie des séquences nucléotidiques et polypeptidiques des leptines canines et félines avec les autres espèces (d'après 82,141).



**Figure 8 :** Comparaison interspécifique de la séquence amino-peptidique du gène *Obese* (d'après 180)

Les séquences des leptines de l'homme, du chien, du chat, du porc, du rat et de la souris sont comparées. Les cinq régions fortement conservées entre les espèces et impliquées dans l'intégrité structurale et fonctionnelle de la protéine sont encadrées. Les variations spécifiques dans les séquences sont représentées sur fond gris. Les acides α aminés importants sont représentés : Leu 13 et Leu 86 (site II), site III, Cys 96 et Cys 146. Les acides α aminés essentiels à la formation de la coiffe hydrophobe sont représentés par des \*.

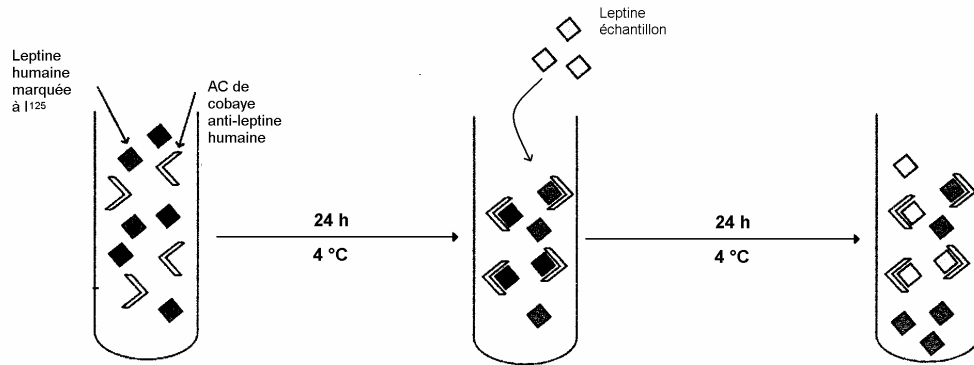
Les deux cystéines Cys 96 et Cys 146 sont également présentes chez toutes les espèces. Cependant il a été démontré que le pont dissulfure n'est pas nécessaire à la conservation de la structure ou à l'activité biologique de la protéine (75).

La région allant de l'acide  $\alpha$  aminé 97 à l'acide  $\alpha$  aminé 106 est la moins bien conservée. Cette région représente la boucle CD et le début de l'hélice E. Néanmoins les quatre résidus hydrophobes (Leu 104, Leu 110, Val 113 et Leu 114) impliqués dans la constitution de la coiffe hydrophobe, importante pour le maintien de la structure de la leptine, sont constants dans toutes les espèces. Il faut néanmoins noter que chez le chat la valine 113 est remplacée par une alanine, qui fait également partie du groupe des acides  $\alpha$  aminés hydrophobes apolaires.

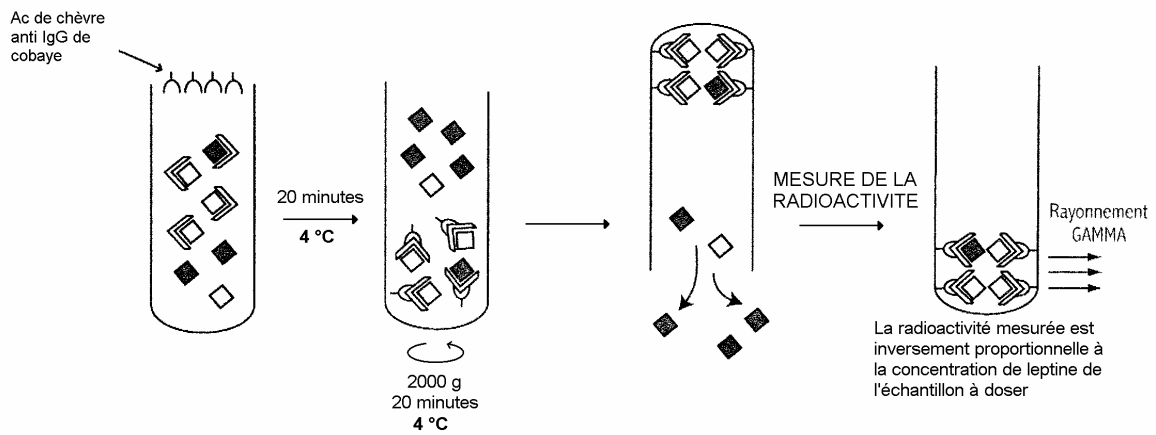
Le polymorphisme qui existe entre les différentes espèces n'affecte ni la structure de la protéine, ni ses capacités de liaison à son récepteur, ni sa capacité à induire la transduction d'un signal. Cependant malgré cette identité dans la structure on constate de fortes différences d'immunogénicité entre les espèces. Par exemple, les anticorps anti-leptine canine ne présentent qu'une faible affinité pour les leptines humaines et murines (81).

En observant les séquences de la leptine telle qu'elles sont figurées sur la figure 7 on se rend compte que la plupart des acides  $\alpha$  aminés sont conservés entre les espèces. Les variations dans la séquence sont dans la majorité des cas spécifiques d'une espèce. Par exemple, chez le chien il y a substitution de 5 acides aminés par ailleurs conservés dans la séquence des autres espèces : Arg 32, Gln 46, Arg 53, Asn 66, His 69. De même chez la souris et le rat les acides  $\alpha$  aminés 32, 77, 105, 136 et 145 sont substitués alors qu'il sont parfaitement conservés entre les autres espèces. Cette constatation pourrait expliquer les fortes différences d'immunogénicité existant entre ces espèces malgré la forte homologie structurale des leptines.

## 1. Formation des complexes immuns Ac-Leptine



## 2. Détection des complexes immuns



**Figure 9 : Principe du dosage RIA de la leptine avec le kit Multi-species de Linco Research (d'après 69,99)**



### III. Méthodes de dosage

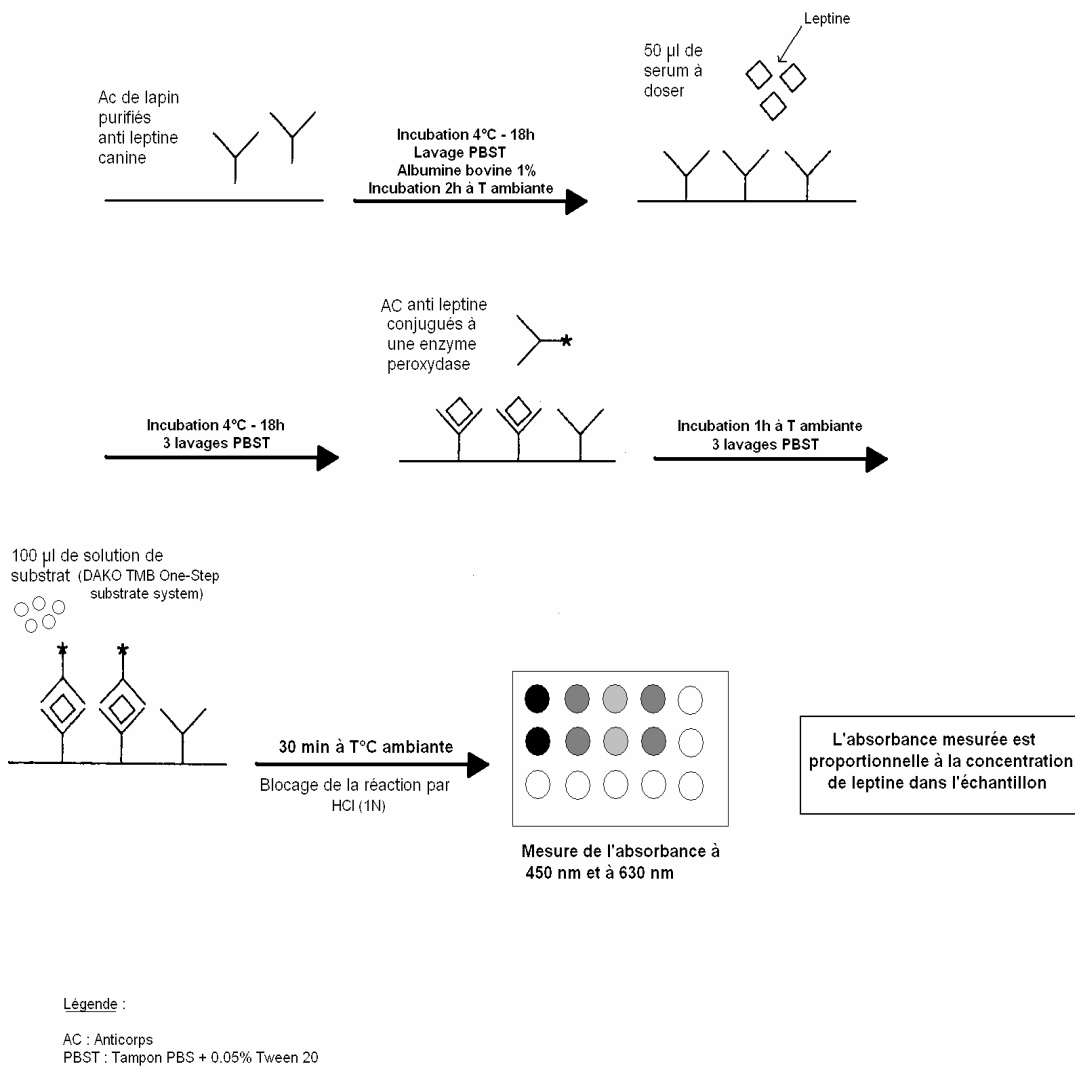
L'existence de fortes différences d'immunogénicité entre les différentes espèces d'importance médicale, ne permettent pas d'extrapoler les méthodes de dosages développées chez l'homme et la souris chez les autres espèces animales, notamment le chien et le chat. Des essais avec des anticorps polyclonaux dirigés contre un peptide de 15 acides  $\alpha$  aminés dérivé de la séquence de la boucle AB (séquence conservée chez toutes les espèces) ont été réalisés mais n'ont pas encore eu d'applications (131).

#### A. Dosage par RIA : « Multi-Species RIA Kit ».

Le kit de dosage de la leptine par radioimmunologie a été développé par Linco research en 2000. Plusieurs kits sont sur le marché : Human leptin RIA Kit, Mouse Leptin RIA Kit, Primate Leptin RIA Kit et Rat Leptin RIA Kit indiqués respectivement pour les dosages chez l'homme, la souris, les primates, et le rat. Multi-species RIA Kit est indiqué, selon le fabricant, pour les dosages chez le porc, le bovin, le mouton, le cheval et le chat. Cette méthode est basée sur l'utilisation d'anticorps de cobaye dirigés contre la leptine humaine et présentant une bonne affinité pour les leptines des autres espèces (99).

Une concentration connue d'antigène marqué à  $I^{125}$  (antigène traceur, leptine humaine marquée à l'iode 125) est incubée avec une dilution connue d'antisérum de manière à ce que les sites de liaison à l'anticorps soient limitants. Lorsqu'on ajoute de la leptine non marquée (froide) il y a compétition avec le traceur sur les sites de liaison des anticorps. Par conséquent la quantité de leptine marquée liée aux anticorps va décroître en fonction de la concentration de leptine apportée par l'échantillon. La leptine liée est séparée de la leptine libre par centrifugation après ajout d'anticorps de chèvre anti IgG de cobaye (agent précipitant). La concentration de leptine de l'échantillon est déterminée par référence à une courbe de calibration établie en parallèle. Cette méthode prend trois jours au total et n'est utilisable, selon le fabricant, que dans le cadre de la recherche (Figure 9).

La sensibilité, définie comme la plus petite valeur décelable, est de 1 ng/ml. La limite supérieure de quantification est de 50  $\mu$ g/l. Pour des valeurs de leptinémie supérieures le fabricant conseille de faire une dilution. La répétabilité est évaluée à 3.2 % (n = 20) et la reproductibilité à 7.8 % (n = 4). La spécificité est fonction de l'espèce. Elle est de 100 % pour



**Figure 10** : Principe du dosage de la leptine par ELISA de type Sandwich (d'après 81,147)

la mesure de la leptinémie chez l'homme. Elle descend à 67 % chez le porc et 73 % chez la souris. La valeur chez le chat n'est pas fournie par le fabricant.

Cette méthode a été validée chez le chat en 2000 (5). La leptinémie a été mesurée chez 19 chats. Les valeurs trouvées se répartissaient dans un intervalle allant de 1.6 à 4.9 µg/l, ce qui est comparable aux valeurs trouvées chez les autres espèces animales avec ce kit. La répétabilité est évaluée à 12.3 % pour les faibles valeurs de leptinémie et à 3.9 % pour les valeurs moyennes. La reproductibilité est évaluée à 11.3 % pour les valeurs faibles et à 6.3 % pour les valeurs moyennes.

Cette méthode n'a pas été validée chez le chien. D'après le fabricant sa spécificité n'est que de 3% quand elle est utilisée dans cette espèce. Néanmoins un intervalle de référence a été établi avec ce kit en 2002 (69). La moyenne obtenue : 3.2 µg/l était comparable aux valeurs établies dans les autres espèces malgré le faible taux de réaction croisée existant entre les anticorps anti-leptine humaine et la leptine canine.

## **B. ELISA**

La méthode de dosage par ELISA de la leptinémie a été développée en 2000 chez le chien (81). C'est une méthode de dosage par immunométrie classique (Figure 10). Dans un premier temps, les anticorps polyclonaux de lapin anti-leptine canine en excès sont adsorbés sur les parois des puits et les sites éventuellement vacants sont saturés par de l'albumine bovine (1%). Après ajout de sérum pur (50 µl), les molécules de leptine éventuellement présentes sont complexées par les anticorps spécifiques présents sur les parois des puits. Les complexes immuns sont ensuite révélés par ajout d'anticorps monoclonaux de lapin, dirigés spécifiquement contre un autre épitope de la leptine, marqués par la peroxydase de raifort en excès. Après lavage et incubation pendant 5 minutes avec le substrat de l'enzyme (DAKO TMB One-Step Substrate system) puis blocage de la réaction avec HCl (1N), la quantité de chromogène formée est proportionnelle à la quantité de leptine prise en sandwich entre les deux monoclonaux et est déterminée par lecture de l'absorbance à 450 et 630 nm.

Cette méthode utilise des anticorps anti-leptine canine de lapin produits en utilisant une leptine canine recombinante produite chez *E. Coli*. Ces anticorps présentent une forte affinité pour la leptine canine. Comme prévu, d'après les données précédemment établies, ils

réagissent aussi avec les leptines humaines et murines mais avec une très faible affinité. La méthode est donc spécifique et utilisable seulement chez le chien. Elle permet de mesurer des leptinémies comprises entre 0.5 µg/l et 32 µg/l. La répétabilité est évaluée à 3.6 % ± 0.5 % (n = 12) et la reproductibilité à 3.9 % ± 2.5 % (n = 4). Il n'y a pas de données concernant la sensibilité et l'exactitude de la méthode.

La même méthode a été développée en 2003 chez le chat (147). Elle utilise des anticorps de lapin produits en utilisant une leptine recombinante de chat comme antigène. Comme chez le chien l'affinité de ces anticorps est supérieure pour la leptine féline que pour les leptines humaine et murine (réactivité croisée respectivement 30.7 % et 66.6 %). Cette méthode permet de mesurer des leptinémies allant de 0.2 à 12.8 µg/l. La répétabilité est évaluée à 3.9 % ± 1.4 % (n = 12) et la reproductibilité à 3.3 ± 0.9 % (n = 12). Il n'y a pas de donnée concernant la sensibilité et l'exactitude de la méthode.

### **C. Valeurs usuelles de la leptinémie chez le chat et le chien.**

L'apparition de ces méthodes spécifiques de dosage a permis d'établir les valeurs usuelles de la leptinémie chez le chien et le chat.

Chez le chien en bonne santé, de poids normal, les valeurs mesurées s'étalent entre 1.4 et 5.6 µg/l, ce qui est comparable aux valeurs mesurées chez la souris (81).

Chez le chat les valeurs mesurées par ELISA sur un échantillon de chats en bonne santé dont le poids variait de 1.9 à 6.8 kg vont de 0.3 à 29.7 µg/l et montrent une corrélation positive avec le poids (cf. *infra*). La moyenne obtenue est 4.5 µg/l (147) ce qui est comparable aux intervalles établis par RIA : 0.92 – 11.9 µg/l avec une moyenne de 6.41 µg/l (3) et 1.6 – 4.9 µg/l avec une moyenne de 2.9 µg/l (5).

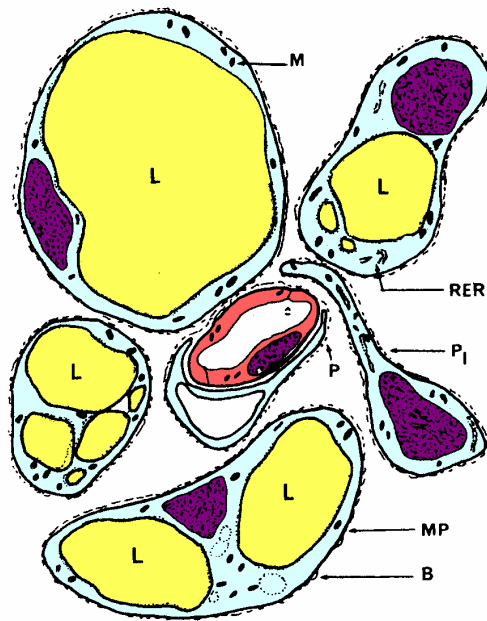
Les méthodes développées actuellement permettent le dosage de la leptine plasmatique chez les carnivores domestiques. Néanmoins, ce dosage ne peut être effectué qu'en laboratoire spécialisé, nécessite des réactifs spécifiques et prend trois jours, quelque soit la méthode utilisée. Pour le moment ce dosage n'est encore effectué que dans le cadre de la recherche et n'a pas d'application médicale quotidienne.

La leptine est une protéine monomérique de 146 acides  $\alpha$  aminés codée par le gène *Obese (Ob)*. Elle se compose de 4 hélices  $\alpha$  (A, B, C et D) antiparallèles, formant un cylindre hydrophobe rigide, reliées par trois boucles (AB, BC et CD) flexibles, la boucle CD contenant une petite hélice E. Elle comporte trois sites d'interaction avec son récepteur (I, II et III), le site II étant essentiel à la liaison alors que les deux autres participent aux phénomènes de transduction. De part sa structure et son système d'interaction avec le récepteur, la leptine est un membre de la famille des cytokines à hélices, bien qu'elle partage peu de similitudes dans sa séquence primaire avec les autres protéines de cette famille.

Les séquences nucléotidique et peptidique de la leptine sont très bien conservées au cours de l'évolution si bien que l'organisation structurale de cette protéine est identique chez toutes les espèces. Par contre l'immunogénicité de la leptine est spécifique d'espèce ce qui implique la mise au point de méthodes de dosage homologues. Ces méthodes de dosage sont au point depuis 2000 chez le chien et 2003 chez le chat mais leur utilisation est encore réduite à la recherche scientifique et n'a pas d'application médicale quotidienne.

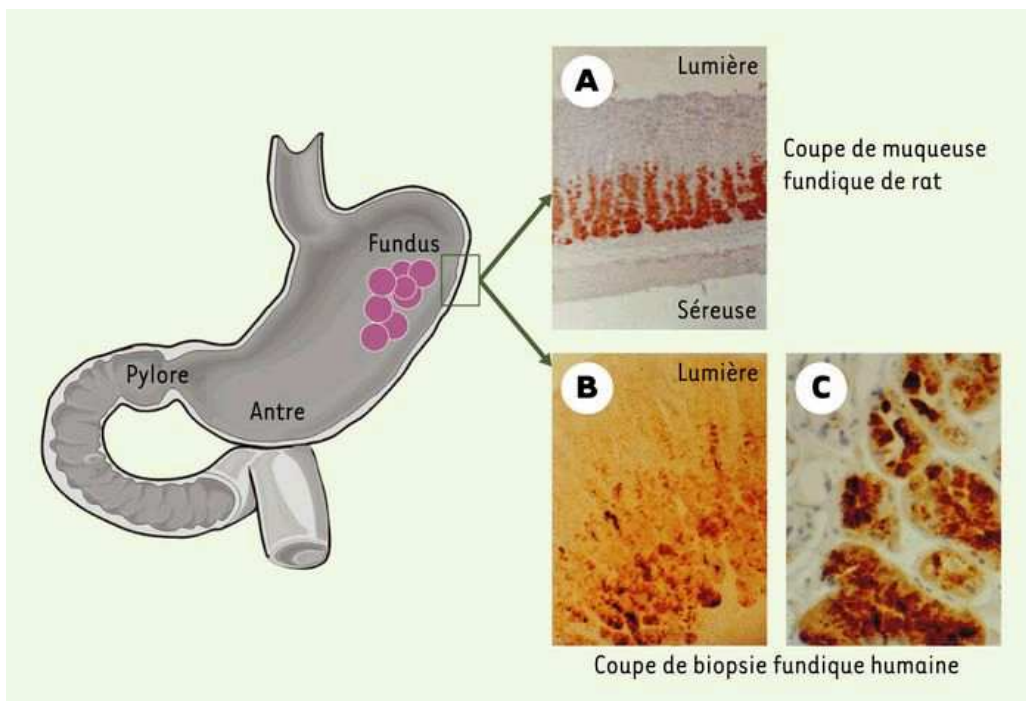


## **PARTIE II : ETUDE METABOLIQUE**



**Figure 11 : Représentation schématique d'un agrégat de cellules adipeuses (d'après 59)**

Quatre adipocytes sont disposés autour d'un capillaire sanguin pourvu d'un pépricyte (P). On distingue un préadipocyte (P1), qui ne contient pas de vacuole lipidique. Les noyaux des cellules sont représentés en violet, les vacuoles lipidiques en jaune. MP : membrane plasmique ; B : basale ; M : mitochondrie ; RER : reticulum endoplasmique rugueux.



**Figure 12 : Localisation de la leptine dans l'estomac chez l'homme et le rat (d'après 23)**

A. Réaction immunohistochimique dans la muqueuse fundique de rat avec un anticorps polyclonal anti-leptine de souris, la localisation correspond aux cellules principales. B. Réaction immunohistochimique dans la muqueuse fundique humaine (faible grossissement) avec un anticorps polyclonal anti-leptine humaine. C. Idem à fort grossissement



La leptine est une hormone peptidique de la famille des cytokines à hélice. Même si sa découverte date aujourd'hui de plus de 10 ans, son métabolisme n'a été que partiellement étudié. Cette partie présente une synthèse des connaissances actuelles chez l'homme et les rongeurs de laboratoire, éventuellement extrapolables aux carnivores domestiques vu la forte conservation de la fonction de cette protéine au sein des espèces.

## **I. Biosynthèse et sécrétion : localisation et modes de sécrétion**

### **A. Origine**

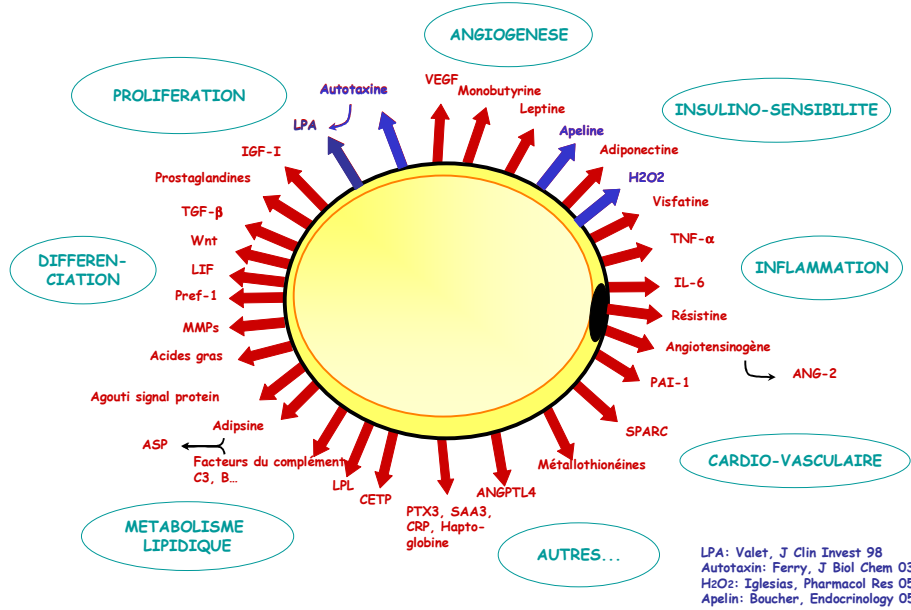
L'ARNm de la leptine est exprimé principalement dans tous les tissus adipeux blancs (périnéal, omental, péritonéal, mésentérique et sous-cutané) chez le chat et le chien, comme chez les autres espèces, et aussi dans le tissu adipeux brun chez les rongeurs (82,141). Il n'est détecté ni dans le cœur, les poumons, le foie, les reins, la rate, ni dans le pancréas. Le tissu adipeux est le site majeur de la sécrétion de la leptine et l'adipocyte en est la cellule sécrétrice (Figure 11).

Plus récemment, la sécrétion de leptine a été mise en évidence dans le muscle squelettique (166) et dans l'estomac (dans les glandes de la muqueuse fundique) (6,155 - Figure 12). Deux populations de cellules sécrétant la leptine y ont été identifiées : les cellules principales qui sécrètent la leptine de manière exocrine et une population de petites cellules éparpillées dans les cryptes fundiques qui sécrètent la leptine de manière endocrine (cellules argentaffines) (25).

Les cellules trophoblastiques du placenta et les cellules amniotiques sont également capables de sécréter la leptine chez la femme (106), ainsi que les cellules de l'immunité dans le cadre de la réponse inflammatoire (44,139).

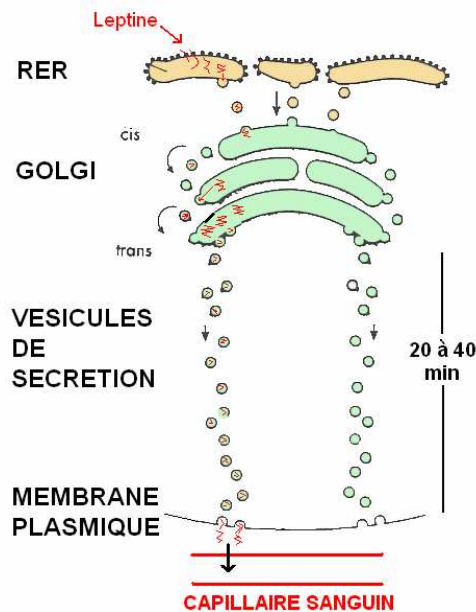
Le dernier site possible de sécrétion de la leptine correspondrait aux cellules à TSH de l'antéhypophyse chez le rat mais cette donnée reste encore très peu documentée (84).

## L'adipocyte est une cellule endo/para-crine



**Figure 13 : L'adipocyte est une cellule sécrétrice : les produits de sécrétion de l'adipocytes en fonction de leur rôle principal (d'après 164)**

TNF $\alpha$  : Tumor necrosis factor  $\alpha$  ; IL-6 : Interleukine 6 ; ANG-2 : angiotensine 2 ; PAI-2 : plasminogen activator inhibitor-1 ; SPARC : secreted protein acidic and rich in cysteine ; ANGPTL4 : angiopoietin-like protein 4 ; PTX3 : pentraxine 3 ; SAA3 : serum amyloid A 3 ; CRP : protéine C réactive ; CETP : cholesteryl ester transfer protein ; LPL : lipoprotéine lipase ; ASP : ; MMPs : metalloprotéinases de la matrice ; Pref-1 : preadipocyte factor 1 ; LIF : Leukemia inhibitory factor ; Wnt : protéines Wnt ; TGF- $\beta$  : Transforming growth factor- $\beta$  ; IGF-1 : inhibiting growth factor 1 ; LPA : acide 1-oleoyl-lyso-phosphatidique ; VEGF : vascular endothelial growth factor.



**Figure 14 : schématisation de la voie de synthèse et de sécrétion de la leptine dans l'adipocyte : sécrétion constitutive (d'après 19)**

## **B. Biosynthèse**

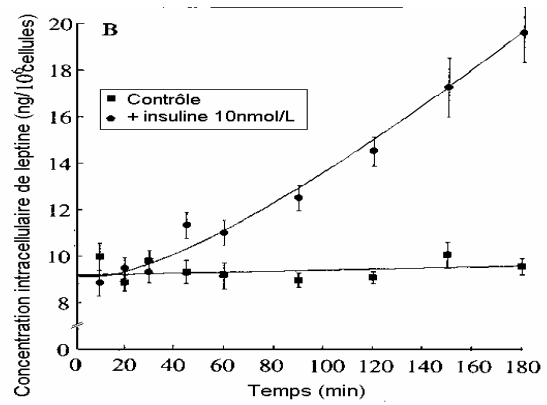
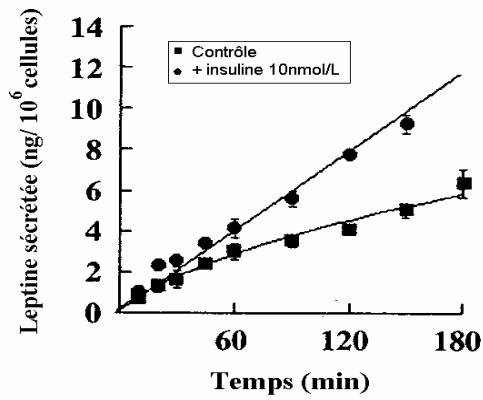
Les différents tissus présentés secrètent la leptine, principalement de manière endocrine mais aussi de manière exocrine dans l'estomac. Les adipocytes assurent 95 % de la sécrétion endocrine, cette proportion restant indéterminée dans les autres cellules. En revanche les cellules principales de la muqueuse fundique libèrent essentiellement la leptine selon un mode exocrine.

### **1. Sécrétion endocrine de l'adipocyte**

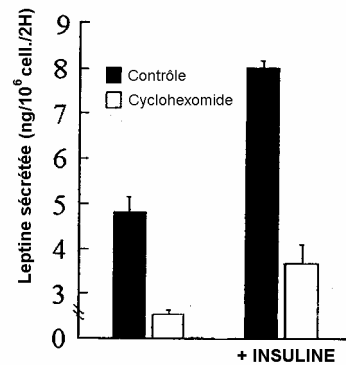
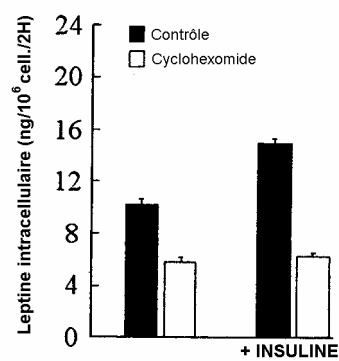
Le tissu adipeux a longtemps été considéré comme un simple tissu de stockage passif des lipides, constitué d'un agrégat de cellules dotées de faibles activités métaboliques. L'adipocyte est considéré comme une cellule sécrétrice à part entière depuis seulement une quinzaine d'années. La leptine est la première adipokine découverte. Depuis la famille des adipokines s'est agrandie et de nombreux autres produits de sécrétion de l'adipocyte ont été découverts (Figure 13). Malgré ce nouveau rôle de cellule sécrétrice, les voies de synthèse et de sécrétion dans cette cellule ont été peu étudiées. Néanmoins, deux équipes ont travaillé sur les voies de biosynthèse de la leptine ces dernières années et ont permis de mieux appréhender le métabolisme de cette nouvelle cellule sécrétrice (18,27).

Les études de Camisotto *et al* (27), par immunohistochimie en microscopie électronique ont permis de mettre en évidence le passage de la leptine par différents compartiments : la leptine est présente dans le réticulum endoplasmique rugueux (RER), dans le Golgi et dans de nombreuses vésicules localisées le long de la membrane plasmique. La biosynthèse de la leptine suit donc la voie classique de synthèse des protéines de sécrétion. La protéine est intégrée pendant sa traduction dans la citerne du RER grâce à sa séquence signal, puis elle transite dans les citernes du RER où elle acquiert sa conformation définitive. Elle est ensuite exportée vers le Golgi où elle ne subit qu'un bref passage du fait de son absence de glycosylation (Figure 14).

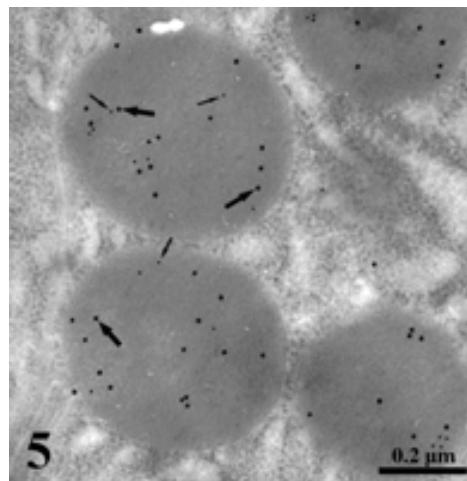
*In vitro*, en l'absence de stimulation, les adipocytes secrètent la leptine de manière continue et la quantité intracellulaire de leptine ne varie pas (Figure 15). L'ajout d'un inhibiteur de la synthèse protéique (cyclohexomide) inhibe presque totalement la sécrétion



**Figure 15** : Evolution de la synthèse et de la sécrétion de leptine par l'adipocyte en fonction du temps, en présence ou en absence d'insuline (d'après 27)



**Figure 16** : Synthèse et sécrétion de leptine par l'adipocyte en présence ou en absence de cycloheximide (d'après 27)



**Figure 17** : Immunomarquage à l'or de la leptine dans la cellule principale (d'après 25)

Double marquage de la leptine (petites flèches) et du pepsinogène (grandes flèches) dans les granules de sécrétion de la cellule principale

(Figure 16). Il y a donc un équilibre constant entre la néosynthèse et la sécrétion, caractéristique d'un mode de sécrétion par la voie constitutive non régulé (18,27).

En présence d'un agent amplificateur comme l'insuline la sécrétion augmente lentement, en parallèle à la synthèse *de novo* pour atteindre deux fois le niveau de sécrétion basale au bout de deux heures (Figure 15). L'ajout de cycloheximide inhibe presque totalement la sécrétion (Figure 16). L'insuline n'agit donc pas sur la sécrétion, elle agit en amont, sur la synthèse protéique. La sécrétion de leptine en présence d'insuline suit également la voie de sécrétion constitutive.

## **2. Sécrétion exocrine de la cellule principale de la muqueuse fundique**

La cellule principale est la seule à sécréter la leptine de manière exocrine, directement dans l'estomac. L'immunohistochimie a révélé que la leptine était contenue dans les granules de sécrétion de la cellule principale qui contiennent également le pepsinogène (25,34 - Figure 17). Comme le pepsinogène, la sécrétion de leptine dans l'estomac suit une voie contrôlée. Un rapide pic d'excrétion est observé juste après le repas, puis la leptine non dégradée par l'acidité gastrique quitte l'estomac pour rejoindre l'intestin.

**Par opposition à la sécrétion exocrine de leptine dans l'estomac qui est contrôlée, la sécrétion endocrine de cette hormone dans l'adipocyte dépend de la voie de sécrétion constitutive. Ces deux modalités différentes de sécrétion laissent également entrevoir des rôles différents pour ces deux stocks de leptine.**



## II. Régulation

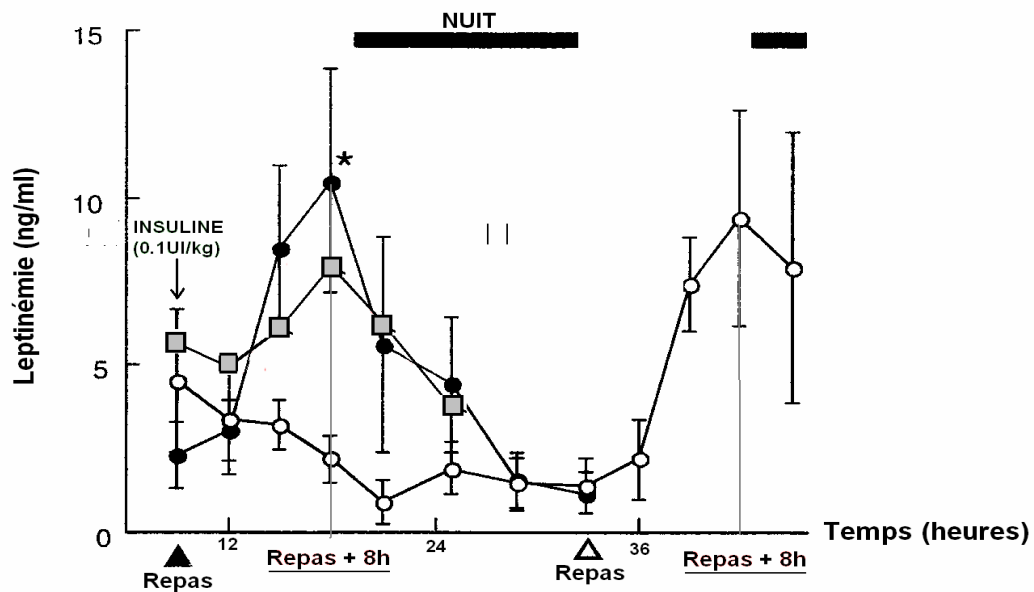
La régulation de la synthèse de la leptine est principalement étudiée dans l'adipocyte et la sécrétion de leptine est étroitement corrélée à l'état des réserves adipeuses ainsi qu'aux apports et aux dépenses caloriques de l'organisme. L'objectif de ce chapitre est d'envisager la nature et les modalités d'action de ces paramètres sur la synthèse et la sécrétion de la leptine.

### A. Variations physiologiques de la leptinémie

De nombreuses études chez l'homme et la souris ont montré l'existence d'une étroite corrélation entre la leptinémie et l'état des réserves adipeuses (77,83,135). Cette corrélation a aussi été étudiée chez le chien.

La mesure de la leptinémie d'un échantillon de 20 beagles femelles d'âge identique ayant un pourcentage de masse grasse allant de 9 à 60 % a montré une forte corrélation positive de ce paramètre avec la leptinémie ( $r = 0.87$ ,  $p < 0.001$ ) (135).

Pour confirmer la variation de la leptinémie avec la variation de l'adiposité un échantillon de cinq beagles a reçu une alimentation hyper énergétique pendant trois semaines (77). Le poids, le pourcentage de masse grasse et la leptinémie ont été mesurés au début et à la fin de l'expérience. Le poids moyen est passé de 12.5 kg à 14.3 kg ce qui correspond à une élévation du pourcentage de masse grasse de 15.7 % à 31.8 %. La leptinémie a augmenté de 2.4  $\mu\text{g/l}$  à 4.9  $\mu\text{g/l}$  montrant une étroite corrélation de ce paramètre avec la prise de poids et l'augmentation de la masse grasse. L'expérience inverse, consistant à suivre la leptinémie chez des chiens obèses pendant leur perte de poids a montré une corrélation identique entre la leptinémie et la masse graisseuse et/ou le poids vif. La normalisation du poids s'accompagne d'une normalisation de la leptinémie qui se maintient tant que le poids reste stable (83). D'autre part, une privation calorique de 2-3 jours se traduit par une diminution rapide de la leptine circulante, qui se stabilise à environ 20 % de la valeur basale. Ces changements surviennent avant toute diminution du poids et de la masse adipeuse. C'est l'état de balance



**Figure 18 : Influence du repas et des périodes de jeûne sur la leptinémie chez le chien. Influence du pic d'insuline post-prandial (d'après 78)**

La leptinémie de quatre chiens habitués à être nourri une fois par jour à 10h est suivie pendant 2 jours.

Cercles pleins : animaux nourris le premier jour à 10h ; cercles vides : animaux à jeûn le premier jour et nourris le deuxième jour à 10h ; carrés : animaux à jeûn et remplacement du repas par une injection d'insuline (0,1UI/kg)

BCS	3 : Idéal	4 : Lourd	5 : Obèse
<b>Leptinémie Moyenne</b> ( $\mu\text{g/L}$ )	3.0	8.6	12.8
<b>Leptinémie en fonct° de la race</b> ( $\mu\text{g/L}$ )			
Shihtzu	2.8	8.2	14.8
Shetland	5.0	15.5	21.0
Golden Retriever	4.4	12.5	15.4
Labrador Retriever	3.1	7.9	13.4
Races croisées variées	2.6	10.1	13.0
<b>Leptinémie en fonct° du sexe</b> ( $\mu\text{g/L}$ )			
Mâle	3.0	8.7	12.7
Mâle castré	1.3	12.5	16.0
Femelle	2.6	7.3	12.1
Femelle castrée	4.8	8.7	12.9

**Tableau II : Variation de la leptinémie ( $\mu\text{g/L}$ ) chez le chien en fonction de la race, du sexe et du BCS (Body Condition Score). Etude sur 166 chiens (d'après 79).**

Le BCS est une évaluation chiffrée de l'état corporel basée sur l'utilisation de silhouettes définies en fonction de données cliniques. La note va de 1 à 5 (de Emacé à Obèse). Les données cliniques prises en compte sont : la quantité de graisse de couverture, la présence ou l'absence d'une « taille » marquée en arrière des côtes, la présentation de la ligne de l'abdomen.

D'après cette étude il n'y a pas de différence significative entre les sexes et les races. Par contre les différences sont significatives entre les trois catégories de BCS.



énergétique négative qui induit une diminution rapide de la leptinémie. De même, une exposition au froid prolongée (supérieure à 2 heures), correspondant à une balance énergétique négative, provoque également un effondrement de la leptinémie (162). Le retour à une température normale (24 °C) restaure la leptinémie basale en 2 heures. La leptinémie est donc une réponse rapide aux changements de la balance énergétique. Enfin de façon analogue un exercice d'endurance induit aussi une diminution de la leptinémie (126). Si cet exercice est pratiqué régulièrement l'état de balance énergétique négative chronique induit un état d'hypoleptinémie permanent (126). Cette situation est observée chez les marathoniens, les sportifs de haut niveau mais aussi chez les jogger réguliers.

Les variations circadiennes de la leptinémie ont été étudiées chez des beagles mâles habitués à être nourri une fois par jour, à 10h (78). La leptinémie la plus basse est mesurée avant le repas (2.3 µg/l) et la plus haute 8 heures après le repas (10.5 µg/l). Le jeûne fait disparaître ces variations (Figure 18), alors que l'injection d'insuline à la place du repas rétablit ces variations, même si elles sont de moindre ampleur. Ces résultats indiquent que la leptinémie varie au cours de la journée en fonction de l'apport alimentaire et que cette modulation de la leptinémie est due en partie à l'action de l'insuline.

La leptinémie est multipliée par un facteur 4 au cours de la journée, en fonction de l'apport alimentaire. Pour mesurer la leptinémie il est donc impératif de réaliser les prélèvements sur un sujet à jeun depuis au moins 24 heures.

L'âge, la race et le sexe n'ont pas d'influence significative sur la leptinémie chez le chien (79 - Tableau II), bien que certaines études montrent une augmentation de la leptinémie en fonction de l'âge chez le rat (95).

On peut noter que, contrairement à l'animal on observe une différence significative de la leptinémie entre l'homme et la femme. On ne sait pas si cette différence est simplement due à la différence d'adiposité existant entre les deux sexes ou si elle dépend d'autres facteurs tels que le statut hormonal (134).

**La sécrétion de leptine est un marqueur de l'état de la balance énergétique. Une leptinémie basale basse traduit un état de carence énergétique chronique alors qu'une leptinémie anormalement élevée s'accompagne d'un excès de masse grasse qui traduit un excès d'apport énergétique chronique.**

**Les variations ponctuelles de la disponibilité énergétique se traduisent par des variations rapides de la leptinémie. Ainsi celle-ci est basse avant le repas et augmente après la prise alimentaire. Plus généralement tous les facteurs qui induisent un déficit énergétique ponctuel induisent un effondrement de la leptinémie ponctuel qui est corrigé dès que la disponibilité énergétique redevient normale.**

**La leptine apparaît donc comme un témoin de l'état permanent de la balance énergétique et de ses variations ponctuelles.**

## **B. Mécanismes de régulation de la leptinémie**

La leptine est synthétisée et sécrétée en réponse à une augmentation du stockage d'énergie dans les adipocytes et cette sécrétion est rapidement inhibée par une carence énergétique ponctuelle. Le mécanisme par lequel l'augmentation de l'énergie disponible est traduite par une augmentation de la sécrétion de leptine n'est pas connu. Certaines voies cellulaires jouent un rôle informateur sur l'état des réserves énergétique dans la cellule, comme par exemple la voie des hexosamines, ou la voie mTOR (mammalian Target of Rapamycin) activée par certains acides  $\alpha$  aminés comme la leucine. Ces signaux endogènes conduisent à réguler la production de leptine en agissant sur l'intensité de la transcription du gène ou de la traduction de l'ARNm.

### **1. Mécanismes de régulation de la traduction**

Les adipocytes cultivés dans un milieu sans substrat voient leur sécrétion basale de leptine divisée par deux par rapport aux adipocytes fraîchement isolés (26). L'ajout de glucose à la culture rétablit une sécrétion basale normale. Par contre l'ajout d'une quantité plus importante de glucose ne provoque aucune augmentation de la sécrétion. Le remplacement du glucose par du pyruvate ou par un acide  $\alpha$  aminé glucoformateur à condition qu'il puisse être efficacement converti en glucose par l'adipocyte donne les mêmes résultats. Ainsi, bien que glucoformateur en général, l'histidine, l'arginine et la glutamine ne permettent pas de rétablir la sécrétion de leptine.

La présence de substrats glycolytiques est essentielle au maintien de la sécrétion basale de leptine. Cependant une augmentation de la concentration intracellulaire de ces

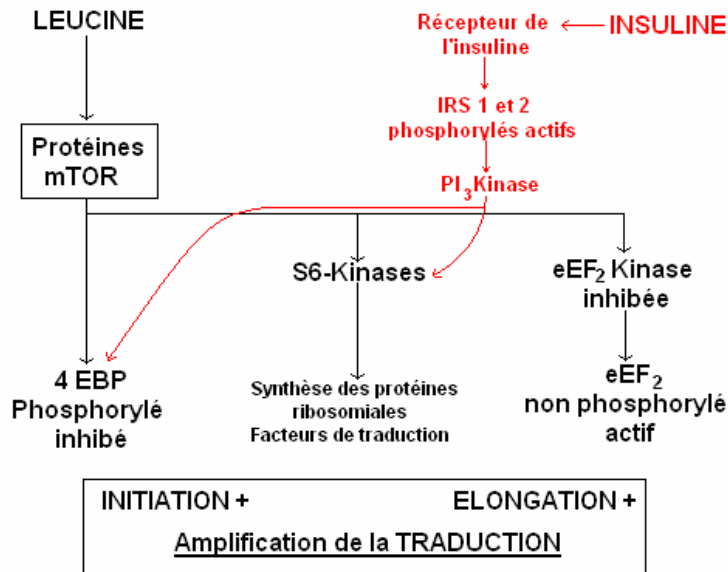
substrats ne provoque pas une augmentation de la sécrétion. La disponibilité en glucose, ou autres intermédiaires de la glycolyse n'est pas un lien direct entre la sécrétion de leptine et la disponibilité énergétique ; par contre c'est un facteur limitant de la sécrétion probablement en induisant un déficit énergétique intracellulaire préjudiciable pour la synthèse protéique.

Le cas des acides  $\alpha$  aminés glucoformateurs est à part. L'augmentation de la concentration cellulaire d'aspartate, de valine, de méthionine ou de phenylalanine se traduit par une augmentation de la sécrétion de leptine, alors que l'augmentation de la concentration d'alanine ou de glycine n'a aucun effet. Les mécanismes par lesquels ces acides  $\alpha$  aminés agissent sur la sécrétion de leptine ne sont pas élucidés à ce jour. Il est possible que leur action amplificatrice soit simplement due à l'effet limitant de la disponibilité des acides  $\alpha$  aminés pour la synthèse protéique de la leptine.

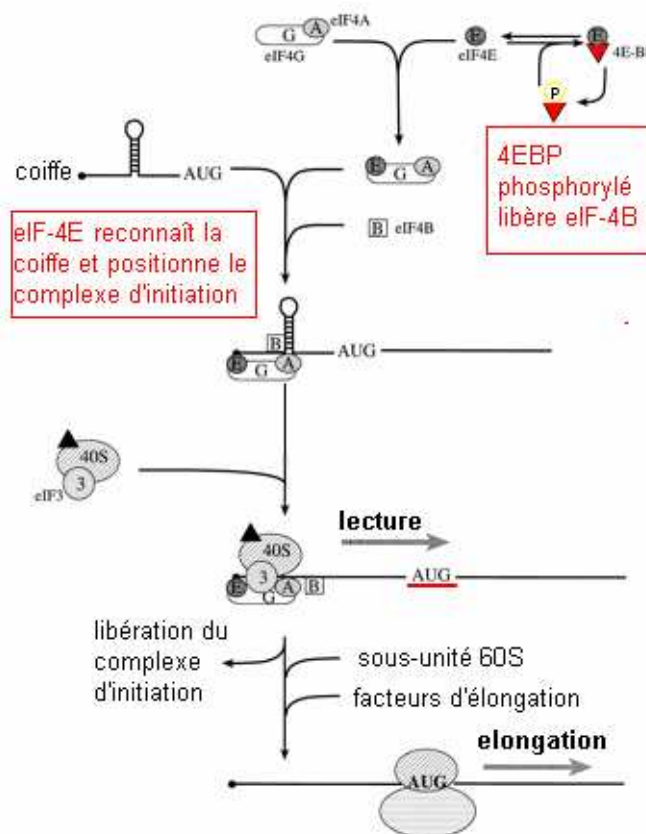
Le glutamate double la sécrétion basale de leptine en présence et en l'absence de substrat énergétique (26-27). Cet effet n'est pas affecté par le blocage de la transcription. Cet acide  $\alpha$  aminé est connu pour être un messenger central dans la régulation de la sécrétion d'insuline par la cellule  $\beta$  du pancréas. Il est aussi impliqué dans plusieurs procédés métaboliques et notamment dans la régulation de la synthèse protéique. Il est donc possible que, comme dans le pancréas, le glutamate joue un rôle important dans le métabolisme adipocytaire, cependant le mécanisme impliqué reste encore à élucider.

L'ajout de leucine à des adipocytes isolés augmente significativement le niveau de sécrétion de leptine (26,132). L'augmentation post-prandiale de la leptinémie pourrait donc partiellement dépendre de la richesse de la ration en leucine. Les effets de la leucine ne sont pas affectés par les inhibiteurs de la transcription comme l'actinomycine D. Par contre ils sont inhibés par la rapamycine. L'hypothèse émise est en faveur d'une amplification post-transcriptionnelle de la synthèse de leptine faisant intervenir la voie de signalisation mTOR. La voie de signalisation mTOR est activée par l'abondance des nutriments dans la cellule, notamment par les acides  $\alpha$  aminés libres et plus particulièrement par la leucine (133) et le signal mTOR a pour rôle de coordonner l'activité cellulaire à la disponibilité des nutriments. Les mécanismes moléculaires impliqués dans l'activation des protéines mTOR par les acides  $\alpha$  aminés ne sont pas connus avec certitude mais pourraient dépendre de l'aminoacylation des ARNt impliqués dans la traduction de ces protéines (133).

Les protéines mTOR font partie de la famille des phosphatidylinositol kinase related kinase (PIKKs) (129) et régulent, entre autres, la traduction des protéines. Cette régulation se



**Figure 19** : schématisation des voies d'amplification de la traduction par la voie mTOR et par l'insuline (d'après 129)



**Figure 20** : Stimulation de la traduction par phosphorylation de l'inhibiteur 4 E-BP (d'après 129)

La protéine eIF4E, dont le rôle est la reconnaissance de la coiffe 5' de l'ARNm, est inhibée par la liaison de 4E-BP. Lorsque la voie mTOR est activée 4E-BP est phosphorylé et ne peut donc plus se lier à eIF4E. eIF4E peut alors interagir avec eIF4G et reconnaître la coiffe de l'ARN. eIF4A (hélicase ARN) et eIF4B (cofacteur d'initiation) s'ajoutent à ces facteurs pour former le complexe d'initiation actif. Ceci permet le recrutement de la petite sous-unité ribosomale et son facteur associé eIF3 qui se fixent par interaction avec eIF4G. La petite sous-unité commence à lire l'ARN jusqu'à rencontrer un codon AUG. A ce moment le complexe d'initiation se détache et la grande sous-unité ribosomale vient se fixer, accompagnée des facteurs d'élongation eEF1 et eEF2.

fait par l'intermédiaire de trois cibles (129,133 - Figure 19). Premièrement, l'activation des kinases S6 (S6Ks) permet la phosphorylation des protéines ribosomales S6. Ceci facilite la traduction d'un groupe d'ARNm contenant une extrémité 5' polypyrimidine. Ces ARNm codent pour les protéines nécessaires à la traduction comme les protéines ribosomales, les facteurs de traduction et d'élongation et les protéines contrôlant la croissance cellulaire. Deuxièmement la voie mTOR inhibe le facteur de répression de la traduction 4EBP. Le facteur 4EBP se lie et inhibe le facteur d'initiation de la traduction eIF-4 E, dont le rôle est de reconnaître la coiffe de l'ARNm ce qui permet la fixation du complexe d'initiation de la traduction et du ribosome à l'extrémité 5' de l'ARNm. La phosphorylation de 4EBP empêche sa liaison à eIF-4 E et lève l'inhibition de la traduction (Figure 20). Troisièmement, la voie mTOR inhibe la phosphorylation du facteur d'élongation eEF2, certainement par inhibition de la kinase spécifique de ce facteur. L'eEF2 non phosphorylé peut alors interagir avec le complexe de traduction ce qui amplifie l'élongation.

L'insuline agit principalement comme facteur hypoglycémiant dans la régulation de la glycémie mais elle est aussi impliquée dans la régulation de la prise alimentaire et de la balance énergétique, tout comme la leptine (11). L'insulinémie basale est corrélée à la masse adipeuse et les variations de la balance énergétique sont rapidement traduites par des variations de l'insulinémie. Elle apparaît donc être un candidat intéressant permettant d'expliquer la corrélation entre la leptinémie et les variations de la balance énergétique. L'injection IV d'insuline, mimant son pic post-prandial entraîne une augmentation de la leptinémie sur l'animal à jeun (78, Figure 18). Cependant cette augmentation est moins importante que celle suivant un vrai repas. L'action de l'insuline ne suffit pas à expliquer les variations post-prandiales de la leptinémie, cependant elle y participe.

Les mécanismes par lesquels l'insuline module la sécrétion de leptine ont été partiellement élucidés. La culture d'adipocytes en présence d'insuline double la quantité de leptine sécrétée en 2 heures. Par contre elle n'a aucun effet sur la quantité d'ARNm correspondant et n'est pas inhibée par la présence d'actinomycine D (18). L'insuline n'agit donc pas directement sur la transcription. Par contre les effets de l'insuline sont inhibés en présence de rapamycine, d'inhibiteurs de la PI<sub>3</sub>K (phosphatidylinositol 3 Kinase) et d'inhibiteurs de la MAPK (mitogen-activated protein kinase). Ces résultats suggèrent que l'insuline agit sur la synthèse de leptine par un mécanisme post-transcriptionnel faisant intervenir la voie de signalisation PI<sub>3</sub>K. La fixation de l'insuline à son récepteur entraîne la phosphorylation de IRS1 et IRS2 (Insulin Receptor Substrate 1 et 2). Ces protéines

interagissent alors avec la PI<sub>3</sub>K qui active à son tour les S6 kinases et qui serait aussi responsable de la phosphorylation et de l'inhibition du facteur 4EBPs (Figure 19). Ces mécanismes communs avec la voie mTOR conduisent à l'amplification de la traduction.

## 2. Mécanismes de régulation de la transcription du gène *Ob*

Comme nous l'avons vu dans la première partie le promoteur du gène *Ob* permet la liaison de nombreux facteurs de transcription : site de liaison pour C/EBP (CCAAT/enhancer-binding protein), E-box, site AP-2 (Activating Proteins 2), GRE (glucocorticoid response element), CRE (AMPC response element), et NRE (NF-κB response element) (cf. *supra*, Figure 2). Dans cette partie la régulation de la transcription du gène par occupation de ces séquences régulatrices est analysée.

### a) C/EBP-box et C/EBPα

Le C/EBPα est un facteur de transcription adipocytaire induit spécifiquement pendant la différenciation de l'adipocyte et maintenu dans l'adipocyte mature, qui est capable d'amplifier considérablement la transcription du gène *Ob* (110). La mutation du son site de liaison dans le promoteur induit une diminution importante de la sécrétion basale de leptine dans l'adipocyte. Son action marquée sur l'amplification de la transcription et son expression tissulaire réduite aux adipocytes expliquent, au moins en partie, l'importante différence de niveau de sécrétion qui existe entre l'adipocyte et les autres cellules capables de sécréter la leptine. Il est probable que, chez les individus obèses, l'augmentation de l'expression de C/EBPα liée à l'hyperplasie des adipocytes induise une élévation considérable de la leptinémie.

### b) E-Box et facteurs de régulation HbH

La séquence E-Box est un élément de réponse à plusieurs facteurs de transcription tissulaires possédant un domaine de liaison à l'ADN de type hélice-boucle-hélice (HbH) (94). Ces facteurs sont répartis au sein de deux familles. Les facteurs de classe A, notés E12 à E47, sont présents dans tous les tissus, tandis que les facteurs de classe B sont exprimés

spécifiquement dans certains tissus. Les plus connus sont les facteurs MyoD et Myf 5 exprimés spécifiquement par le tissu musculaire mais il n'a pas été identifié à ce jour de facteur de classe B spécifique à l'adipocyte.

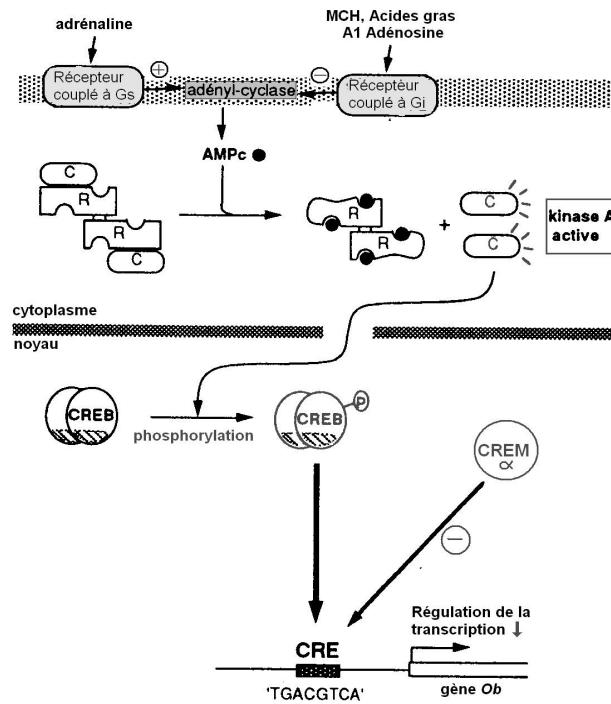
### c) CRE et dimère CREBP/CREM $\alpha$

L'augmentation d'AMPc dans le cytosol a un effet inhibiteur sur la sécrétion de leptine (152). Lorsque le rapport ATP/AMPc diminue (ce qui traduit une carence énergétique), la sécrétion de leptine se trouve inhibée, par inhibition de la transcription. Par conséquent, tous les facteurs agissant sur la concentration intracellulaire de l'AMPc jouent un rôle dans les variations de la leptinémie.

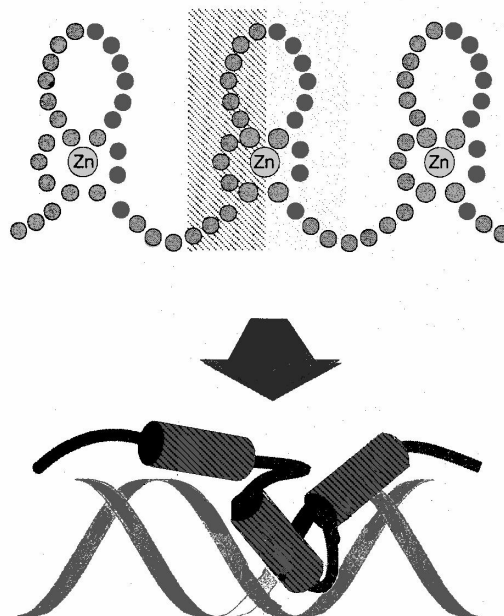
L'augmentation de la concentration intracellulaire d'AMPc permet l'activation allostérique de la PKA (protéine kinase AMPc dépendante). La PKA activée phosphoryle alors les facteurs de transcription CREBP (CRE-Binding Protein) et CREM (CRE-Modulator) sur des résidus serine / thréonine. Les facteurs CREB et CREM phosphorylés se dimérisent et se lient à l'ADN sur la séquence CRE du promoteur grâce à des hélices  $\alpha$  riches en leucine (« leucine-zipper »). Dans le cas de la leptine l'occupation du CRE par le dimère CREB/CREM $\alpha$  a un effet inhibiteur sur la transcription du gène Ob, CREM $\alpha$  étant responsable d'une déstabilisation du complexe d'initiation de la transcription (21 – Figure 21).

Ainsi les signaux chimiques exogènes conduisant à l'augmentation de l'AMPc sont responsables d'une diminution de la synthèse de leptine. C'est en particuliers le cas des  $\beta$ -agonistes (isoprostenol, agonistes non sélectifs - dobutamine, agoniste  $\beta$  sélectif – fénoténol, agoniste  $\beta_2$  sélectif, Trecadrine® - agoniste  $\beta_3$  sélectif) qui, par combinaison avec les récepteurs adrénergiques de type  $\beta$  ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$  ou  $\beta_3$ ) provoquent l'activation de protéines Gs (G stimulating) dont les sous-unités  $\alpha_s$  stimulent l'adénylate cyclase, engendrant ainsi une augmentation de l'AMPc (45,87,96,112).

Les facteurs stimulant dans l'adipocyte une voie Gi (G inhibiting) ont au contraire une action amplificatrice sur la synthèse de leptine. L'activation de la voie Gi inhibe l'adénylate cyclase et provoque donc une diminution de la concentration intracellulaire d'AMPc. C'est le cas de l'A1-adénosine, par l'intermédiaire de son récepteur A1AR (130), et des acides gras à courte chaîne par l'intermédiaire de leur récepteur GPR41 (171). Par contre le rôle des  $\alpha_2$  agonistes n'est pas documenté. De même, le MCH (Melanin-concentrating hormone)



**Figure 21** : Régulation transcriptionnelle du gène *Obese* par occupation d'un CRE (d'après 38)  
 Gi : Protéine G inhibiting ; Gs : protéine G stimulating ; CREB : CRE binding protein ; CREM $\alpha$  : CRE Modulator  $\alpha$  ; CRE : AMPc response element ; MCH : Melanin-concentrating hormone



**Figure 22** : schématisation du domaine de fixation à l'ADN du facteur NF- $\kappa$ B (d'après 94)  
 En noir, sur le schéma du haut, les acides  $\alpha$  aminés impliqués dans la fixation à l'ADN



amplifierait aussi la synthèse de leptine par l'intermédiaire de l'activation d'une voie Gi. La MCH est un peptide orexigène sécrété dans l'hypothalamus latéral, qui intervient dans la régulation de la satiété. Son action amplificatrice sur la synthèse de leptine a été démontrée *in vivo* et *in vitro* et le récepteur du MCH (SLC1 ou MCHR1) a été identifié à la surface des adipocytes (17). Ce récepteur transmembranaire est couplé à plusieurs protéines G : Gi, Go et Gq (160). Par conséquent la liaison de MCH à son récepteur entraîne l'activation de plusieurs voies dans la cellule. La voie impliquée dans l'adipocyte n'a pas été précisément identifiée, cependant par analogie avec les autres facteurs amplificateurs on peut penser que la voie Gi joue au moins un rôle partiel dans l'amplification de la synthèse de la leptine par le MCH.

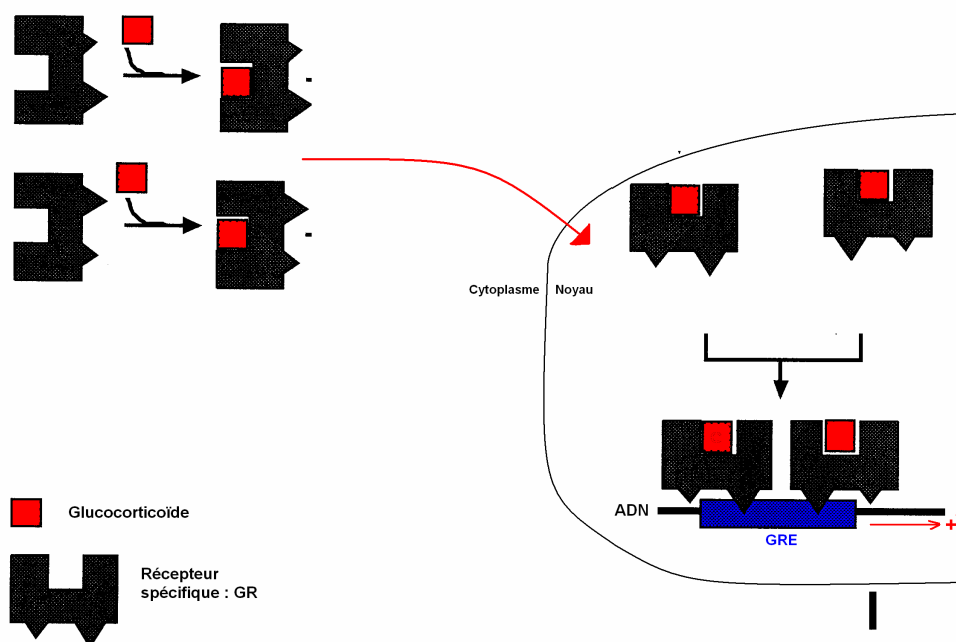
#### d) AP-2 box et dimères myc/max

Le promoteur de la leptine contient une séquence de réponse aux facteurs de transcriptions AP-2 (de type myc et max). Ces facteurs s'associent après activation par phosphorylation des résidus serine / thréonine par la PKC (protéine kinase C) ou des résidus tyrosines par une tyrosine kinase sous forme de dimère, le plus souvent d'hétérodimère (myc/max) pour se lier à l'ADN. L'occupation du site AP2 est activatrice.

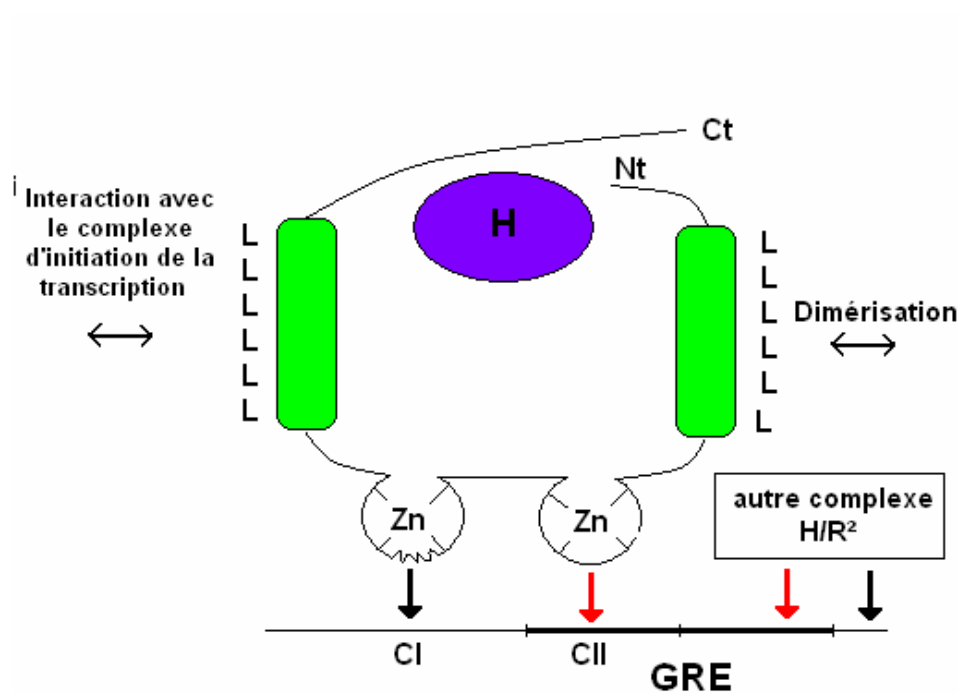
Les facteurs qui activent la PKC ont, à l'issue par exemple de l'activation d'une protéine Gq, une action amplificatrice potentielle sur la transcription du gène *Ob*. C'est le cas, en particuliers du MCH (cf. *supra*). Il en va de même pour les facteurs couplés à un récepteur tyrosine kinase, comme l'insuline, l'IGF-1 et l'hormone de croissance. On peut donc ici poser la question de l'existence d'un effet amplificateur direct de ces hormones sur la transcription, bien que les expériences réalisées à ce jour n'en fassent pas état (73,105,127).

#### e) NRE et dimère NF-κB

NF-κB est un facteur de transcription qui se lie à des séquences GGGGCGGGG de l'ADN grâce à un domaine à trois doigts de zinc (94 - Figure 22). C'est un dimère de deux protéines, NF1 et κB. Ce dimère est confiné dans le cytoplasme par la présence d'un inhibiteur qui se lie à κB, l'I-κB. La phosphorylation de l'inhibiteur autorise la translocation nucléaire du dimère NF-κB. Celui-ci peut alors se lier à son site de réponse sur l'ADN ce qui amplifie la transcription. La phosphorylation de l'inhibiteur est catalysée par la PKC. Les facteurs qui activent la PKC dans la cellule ont donc là aussi un rôle amplificateur potentiel sur la transcription du gène *Ob*.



**Figure 23 : Mode d'action schématique des glucocorticoïdes (d'après 21)**



**Figure 24 : Organisation générale d'un récepteur à ligand apolaire (d'après 21).**

Domaine Ct : reconnaissance spécifique du ligand ; H : hormone apolaire ; LLLLLL : domaine leucine zipper ; CI : site d'interaction spécifique avec la demi séquence nucléotidique palindromique du GRE ; CII : site d'interaction non spécifique à l'ADN ; complexe H/R<sup>2</sup> : complexe hormone récepteur

La voie des hexosamines est activée par une hyperlipémie ou une hyperglycémie (178). La stimulation de cette voie et plus particulièrement l'augmentation tissulaire de son produit final, l'UDP-N-acétyl-glucosamine (UDP-NAcGlc) entraîne une rapide augmentation de la sécrétion de leptine et de l'expression de son ARNm dans le muscle squelettique et dans le tissu adipeux. Il en résulte une augmentation de la leptinémie (166). L'UDP-NAcGlc est le principal substrat utilisé dans la cellule pour la glycosylation des protéines, notamment celle du facteur de transcription NF- $\kappa$ B qui participe à la régulation du gène *Ob*. En augmentant la glycosylation et donc l'état d'activation de ce facteur de régulation de la transcription la voie des hexosamines amplifie la synthèse de l'ARNm de la leptine et constitue ainsi une voie de couplage de la sécrétion de leptine à la disponibilité énergétique.

#### f) GRE et glucocorticoïdes

De nombreuses études rapportent un effet amplificateur des glucocorticoïdes sur la sécrétion de leptine chez toutes les espèces étudiées. Chez le chien à jeun, l'injection de dexaméthasone à la dose de 0.10 à 0.15 mg/kg fait augmenter la leptinémie de manière progressive et continue d'un facteur 3 à 4 en 24 heures (76,113). L'incubation d'adipocyte de rat en présence de 100 nmol/l de dexaméthasone multiplie par 4 la concentration intracellulaire de l'ARNm du gène *Ob* et par 2 la sécrétion de leptine en 2 heures (18). Si on bloque la transcription par ajout d'actinomycine D dans la culture on supprime cette amplification.

L'amplification de la transcription par les glucocorticoïdes résulte de l'activation de récepteurs intracellulaires spécifiques, les GR (Glucocorticoïd Receptor) qui jouent le rôle d'activateur de la transcription (Figures 23 et 24). Ces récepteurs possèdent 2 domaines dit « en doigt de zinc » qui leur permettent de se lier à l'ADN en présence de l'hormone, de type  $C_2H_2$  (2 liaisons de coordinance établies entre  $Zn^{2+}$  et l'atome de S des cystéines, 2 liaisons de coordinance établies entre  $Zn^{2+}$  et 1 atome de N des histidines) (Figure 24). La conformation du récepteur est modifiée par la présence du glucocorticoïde ce qui se traduit par une dévagination des deux doigts de zinc CI et CII. Comme les boucles constituées d'acides  $\alpha$  aminés de ces structures remarquables ne sont pas équivalentes, leur fixation à l'ADN n'est pas identique : le doigt CI assure une fixation spécifique sur la moitié de la séquence nucléotidique palindromique (directe ou indirecte) du GRE, tandis que le doigt CII se fixe non

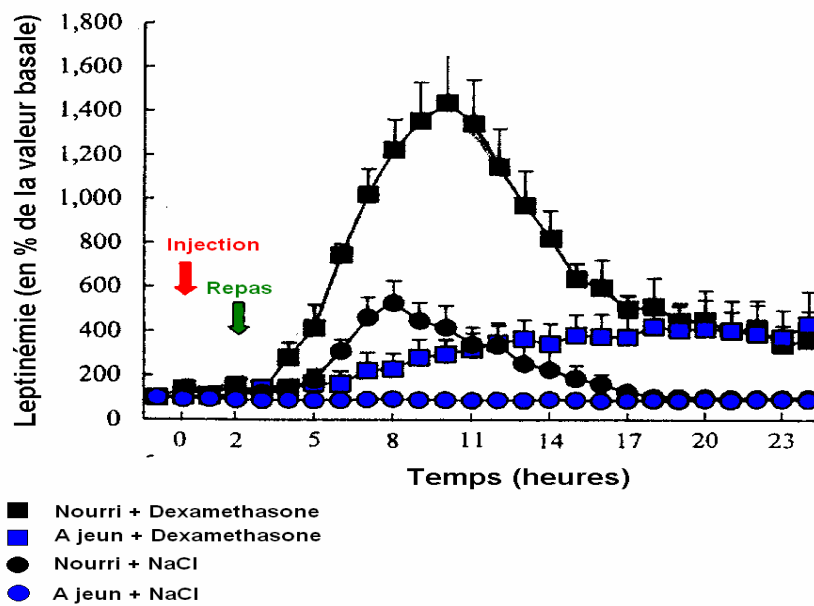


Figure 25 : Effet de l'injection de dexaméthasone sur la leptinémie sur le chien à jeun et nourri (d'après 113)

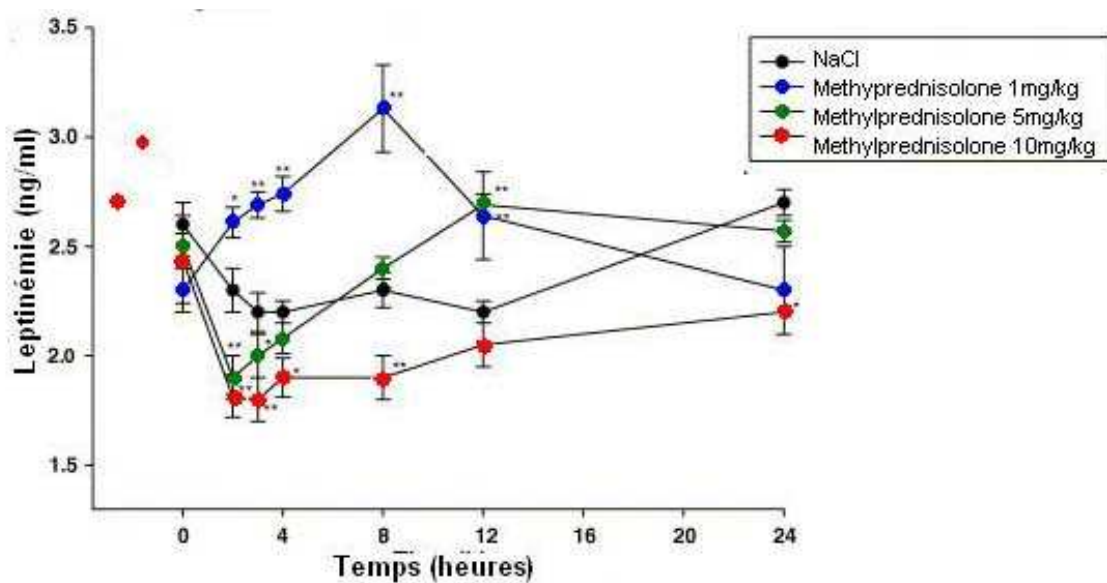
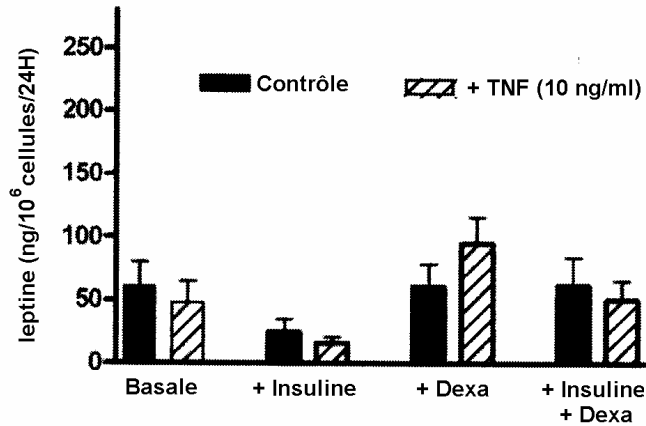


Figure 26 : Effet de l'injection de methylprednisolone sur la leptinémie du chien en fonction de la dose injectée (d'après 173).

spécifiquement à l'ADN, à l'extérieur du GRE. L'occupation totale, et donc l'activation du GRE, requiert par conséquent l'intervention de deux complexes hormone-récepteur qui se positionnent de façon symétrique sur la séquence GRE. La stabilité de cet édifice moléculaire est assurée par le dimérisation des deux complexes par les domaines « leucine zipper » N terminaux et par l'existence de 4 sites d'ancrage (2 fois 2 doigts de Zn) sur l'ADN. Les deux autres domaines « leucine zipper » C terminaux peuvent alors interagir directement avec les facteurs généraux de régulation de la transcription associés à l'ARN polymérase (complexe d'initiation de la transcription) après repliement éventuel de la structure chromatinienne. L'occupation de la séquence GRE a un effet amplificateur considérable sur la transcription (19,21). Ce mode de régulation implique un délai de mise en place ce qui est concordant avec les données obtenues *in vivo* montrant que l'effet maximum est obtenu 24 h après l'administration de dexaméthasone.

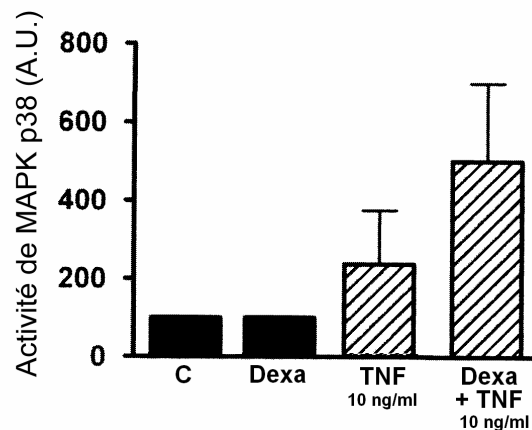
Dans le cadre de la prise alimentaire, l'administration de dexaméthasone par voie IV 2 heures avant le repas provoque également des variations significatives de la leptinémie mais les paramètres cinétiques observés diffèrent nettement du cas précédent (animal à jeun) (76 - Figure 25). En effet, dans ce cas, la leptinémie augmente précocement dès 2 heures après le repas et devient maximale (augmentation d'un facteur 10 environ) 8 heures après l'injection, soit 6 heures après le repas. En parallèle, le pic post-prandial d'insulinémie a été multiplié par 4. En absence de dexaméthasone, un pic de plus faible amplitude (multiplication par un facteur 4 au lieu de 10) de leptinémie est également observé 6 heures après le repas. Du fait de son action hyperglycémiant, la dexaméthasone amplifie directement la sécrétion d'insuline par les cellules  $\beta$  du pancréas. En présence de glucocorticoïde et d'insuline la sécrétion de leptine est stimulée de façon synergique au niveau de la transcription (glucocorticoïde) ainsi qu'au niveau de la traduction (insuline).

Chez le chien, les effets des glucocorticoïdes sur la leptinémie dépendent de la dose injectée (173 – Figure 26). Une injection de méthylprednisolone à 1mg/kg est suivie d'une augmentation de la sécrétion alors qu'une dose de 10 mg/kg est suivie d'une chute de la leptinémie. Des résultats similaires ont été obtenus chez l'homme. Les mécanismes de cette régulation dose-dépendante ne sont pas connus à ce jour, néanmoins il est possible que la diminution de la sécrétion de leptine observée en réponse à une forte dose de glucocorticoïde soit une conséquence des modifications hormonales rapidement induites, notamment de l'effet permissif induit sur les catécholamines, inhibiteurs de la transcription du gène *Ob* (cf.



**Figure 27 :** Effet de l'ajout de TNF $\alpha$  (10 ng/ml) à une culture d'adipocytes humains en absence et en présence d'insuline (7 nm), de dexaméthasone (25 nm) et en présence d'insuline (7nm) et de dexaméthasone (25 nm) sur la traduction de la leptine (d'après 163).

TNF $\alpha$  n'a pas d'effet significatif sur la sécrétion de leptine en l'absence d'autres hormones et en présence d'insuline. Par contre il a une action amplificatrice significative en présence de dexaméthasone ( $p < 0,005$ ).



**Figure 28 :** Effet de l'ajout de TNF $\alpha$  (10 ng/ml) sur l'activation de MAPK p38 dans une culture d'adipocytes humains (d'après 163).

TNF $\alpha$  amplifie l'activité MAPK p38 d'un facteur 2 sans dexaméthasone et par 5 en présence dexaméthasone.



**Figure 29 :** Mode d'action des cytokines sur la transcription (d'après 38)

1. Mode d'action classique : liaison du dimère c-jun/c-fos à la séquence AP1 : effet amplificateur
2. Interaction possible entre GR et c-jun sur une séquence AP1 ; effet amplificateur. La possibilité de la même interaction sur un GRE n'a pas été démontrée.
3. Blocage de l'effet amplificateur du dimère c-jun/c-fos par GR

*supra*) et de l'inhibition de la sécrétion des cytokines, amplificateurs de la transcription du gène *Ob* (cf. *infra*).

D'autres hormones stéroïdes jouent un rôle dans la régulation transcriptionnelle de la sécrétion de leptine ; notamment les oestrogènes comme le 17- $\beta$  oestradiol qui a aussi un rôle amplificateur (98,103,159). Par contre la testostérone et l'aldostérone ne semblent pas modifier la sécrétion (152) bien que certaines études rapportent un effet freinateur de la testostérone (103). Néanmoins il n'a pas été identifié de site spécifique de réponse à ces hormones sur le promoteur du gène *Ob*. Les mécanismes impliqués dans cette régulation restent donc à éclaircir.

### g) Autres facteurs de régulation : les cytokines

L' IL-1, le TNF $\alpha$  et dans une moindre mesure le LIF (Leukemia Inhibitor Factor) entraînent une augmentation dose-dépendante de la quantité d'ARNm du gène *Ob* dans les adipocytes et de la leptinémie (140). Ceci pourrait en partie expliquer l'anorexie induite par ces cytokines lors de l'inflammation aigüe ou chronique.

De récentes expériences semblent montrer que le TNF $\alpha$  seul n'a pas d'action amplificatrice sur la sécrétion de leptine (163 – Figure 27). Par contre, en présence de dexaméthasone les effets amplificateurs du TNF $\alpha$  sont observés : l'ajout du TNF $\alpha$  et de dexaméthasone à une culture d'adipocytes humains provenant d'un individu de poids normal augmente la sécrétion par un facteur 1.5 par rapport à la culture en présence de dexaméthasone seule. Les effets de TNF $\alpha$  semblent dépendre du contexte hormonal et notamment de la concentration locale en glucocorticoïdes. Le TNF $\alpha$  seul ou présence de dexaméthasone entraîne l'activation des kinases MAPKp38 et le degré d'activation est majoré par la présence de glucocorticoïdes (Figure 28). L'activation des protéines MAPKp38 induit la phosphorylation du facteur de transcription c-jun qui forme un hétérodimère avec le facteur de transcription c-fos et se lie sur une séquence du promoteur de type AP1 (AP1-box). Cette interaction a en général un effet activateur (21). Néanmoins, ce modèle n'explique pas les effets potentialisateurs du TNF $\alpha$  par les corticoïdes. La possibilité d'hétérodimérisation du complexe glucocorticoïde/récepteur avec c-jun sur une séquence du promoteur de type AP1-box a également été décrite (38, Figure 29) et pourrait expliquer les effets coopératifs du TNF $\alpha$  et de la dexaméthasone. Il a également été décrit des interactions entre les complexes glucocorticoïde/récepteur et le dimère c-jun/c-fos sur les dites AP1 (Figure 29) qui

Hormones	Facteurs de transcription	Séquence promoteur	Expression du gène <i>Ob</i>
-	C/EBP $\alpha$	C/EPB E	Constitutive
-	Facteurs tissulaires classe A classe B	E-Box	Constitutive
Facteurs de croissance	AP2	AP2 Box	Induction
Insuline - IGF1 - cytokines	NF- $\kappa$ B	NRE	Induction
Cathécolamines	CREBP/CREM $\alpha$	CRE	Répression
Glucocorticoïdes	Recepteur des glucocorticoïdes	GRE	Induction
Testostérone	?	?	Répression
Oestradiol	?	?	Induction

**Tableau III** : Modalités de Régulation de la transcription du gène *Obese* par les adipocytes en fonction des facteurs de transcription et des signaux hormonaux identifiés



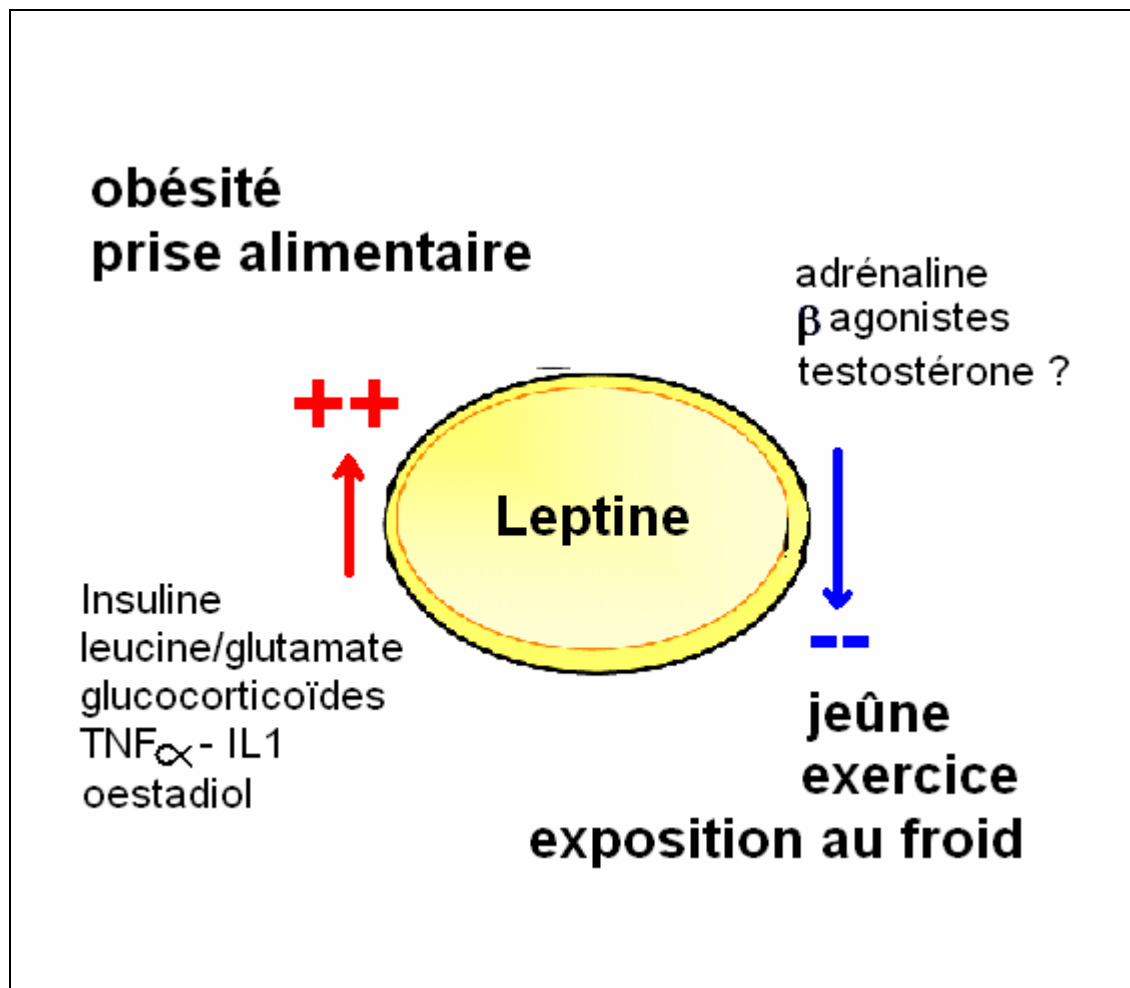
conduisent, en général, à l'abolition des effets inducteurs des AP1 sur la transcription et pas l'inverse. Cependant, ces différents modèles n'apparaissent pas pertinents dans le cadre de la régulation de l'expression de la leptine puisqu'aucun site AP1 n'a été identifié au sein du promoteur de gène *Ob*. Une dernière modalité de régulation de la transcription du gène *Ob* constituerait dans l'hétérodimérisation du complexe hormone/récepteur et c-jun sur le site GRE (et non pas sur le site AP1). Là encore, ce modèle est peu satisfaisant dans la mesure où ce type d'interactions sur la séquence GRE n'a jamais été décrite et où il n'explique pas les effets positifs du TNF $\alpha$  seul.

Par conséquent, la coopération observée entre les cytokines inflammatoires (TNF $\alpha$ ) et les glucocorticoïdes sur l'induction de la leptine est originale et est probablement médiée par une régulation indirecte de la transcription du gène. Il est en effet possible que différents gènes codant pour des facteurs en trans de régulation positive du gène comportent des sites AP1 dans les séquences promotrices correspondantes. Dans ce cas, l'association TNF $\alpha$ /glucocorticoïde induirait indirectement l'expression de la leptine en agissant préalablement sur la synthèse d'un ou plusieurs facteurs de transcription spécifiquement inducteurs. D'autre part, les protéines MAPK activées catalysent l'activation de protéines stabilisatrices des ARNm et permettent donc la stabilisation des ARNm de la leptine qui sont particulièrement instables du fait de leur richesse en séquences AU. La nature de ces protéines est inconnue à ce jour (163).

Bien que les modalités d'action des cytokines sur la régulation de l'expression de la leptine ne soient pas à ce jour complètement élucidées, ces médiateurs de l'inflammation contribuent fortement *in vivo* aux variations de la leptinémie et instaurent une anorexie transitoire lors d'une affection d'origine infectieuse.

De même, il a été montré qu'une hyperprolactinémie est associée à une augmentation de la sécrétion de leptine (58), bien qu'un très faible nombre de récepteurs ait été identifié à la surface des adipocytes et que les essais *in vitro* n'engendrent pas d'effet. Comme la prolactine stimule la production de TNF $\alpha$ , on peut donc envisager que la prolactine, en augmentant la synthèse des cytokines telles TNF $\alpha$ , module indirectement la sécrétion de leptine.

Au total (Tableau III), la régulation de la transcription du gène *Ob* dans les adipocytes fait intervenir des facteurs constitutifs (C/EBP $\alpha$ , facteurs tissulaires) et inductibles/activables en fonction de l'environnement hormonal principalement activateurs (AP2, NF- $\kappa$ B, complexe glucocorticoïde/récepteur) et plus rarement inhibiteur (CREM $\alpha$ ). Ce processus complexe



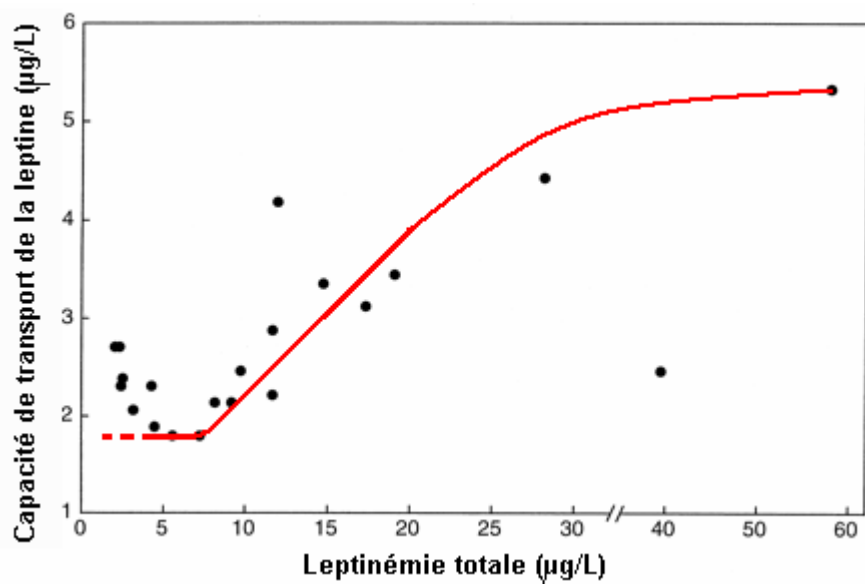
**Figure 30** : La régulation de la sécrétion de leptine par l'adipocyte (d'après 164)

assure une production constitutive de la leptine par les adipocytes ainsi qu'une adaptation de cette production directe ou indirecte en fonction des signaux hormonaux reçus.

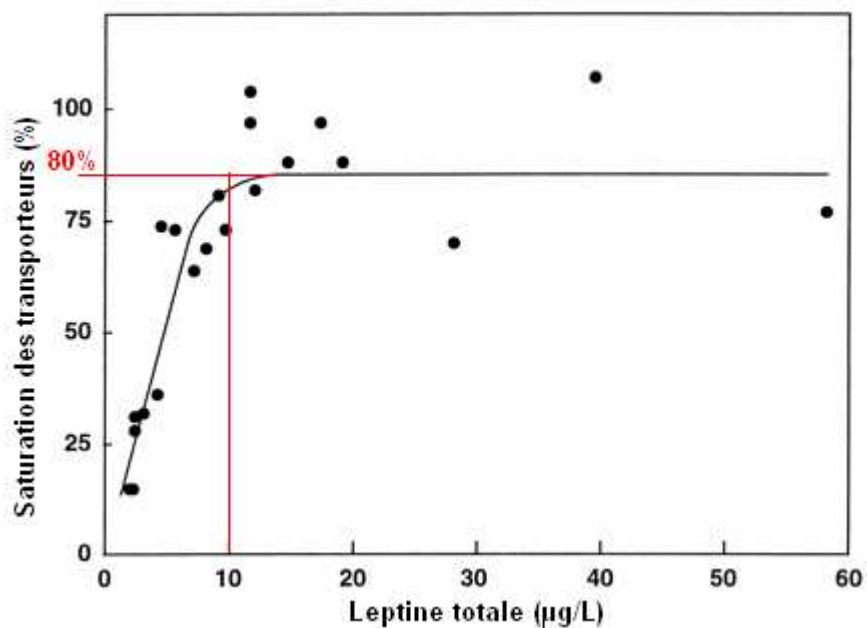
### **3. Mécanismes de régulation de la sécrétion directe de leptine : cas des cellules principales de l'estomac**

Les cellules principales de l'estomac assurent une sécrétion exocrine rapide de leptine (cf. *supra*) et sont essentiellement sensibles aux stimuli intervenant directement et rapidement dans les mécanismes d'exocytose. L'exocytose des granules contenant la leptine est rapidement stimulée par la prise alimentaire, la sécrétine, la cholécystokinine (CCK) et la gastrine (6,155,156). Elle est également libérée rapidement après une stimulation vagale (156). La sécrétion de leptine semble donc suivre le même schéma de régulation que la sécrétion du pepsinogène. La sécrétion du pepsinogène commence pendant la phase céphalique de la sécrétion gastrique, pendant laquelle les cellules principales sont stimulées par les terminaisons du nerf vague. Ceci représente environ 20 % de la sécrétion totale qui accompagne le repas. La suite de la sécrétion a lieu pendant la phase gastrique : les cellules principales sont alors stimulées par la présence d'HCl dans l'estomac, par la gastrine, la sécrétine et la CCK et par la libération d'acétylcholine par les terminaisons du plexus gastro-entérique.

**La sécrétion de la leptine par les adipocytes s'intègre au centre de l'organisme, et constitue un témoin de l'état de la balance énergétique et de ses variations. En situation de déficit énergétique (jeûne, exercice, froid), la leptinémie diminue et elle augmente avec l'apport d'énergie (prise alimentaire). Les facteurs qui orchestrent ces variations ne sont pas encore tous connus, mais les principaux sont l'insuline, la leucine, les glucocorticoïdes et les catécholamines (Figure 30) qui interviennent au niveau de la transcription et/ou de la traduction, et peu au niveau de la sécrétion. En revanche, dans l'estomac la leptine s'intègre à la sécrétion gastrique et suit le même schéma de régulation que le pepsinogène. Les différences fondamentales qui existent entre ces deux modes de sécrétion, endocrine (adipocytes) et exocrine (cellules principales de l'estomac), permettent d'envisager des rôles différents de la même hormone.**



**Figure 31** : Capacité de transport de la leptine chez l'homme en fonction de la leptinémie totale (d'après 89)



**Figure 32** : Pourcentage de saturation des transporteurs de la leptine en fonction de la leptinémie totale (d'après 89)

### III. Devenir

#### A. Transport et distribution

Chez l'homme et la souris, la leptine circule dans le sang sous formes libre et liée (72,150). Plusieurs complexes transporteur-leptine ont été identifiés, de poids moléculaires allant de 80 kDa à 450 kDa selon les auteurs (72,89,150). Une partie du transport est assurée par la forme soluble du récepteur et par l' $\alpha 2$  macroglobuline (89,150). 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 (89). Elle est constante, de l'ordre de 2  $\mu\text{g/l}$ , pour les leptinémies physiologiques (entre 2  $\mu\text{g/l}$  et 10  $\mu\text{g/l}$ ). Elle augmente ensuite progressivement avec la leptinémie pour atteindre un maximum de 5.5  $\mu\text{g/l}$  pour une leptinémie de l'ordre de 60  $\mu\text{g/l}$  (Figure 31). Lorsque la leptinémie varie de 2 à 10  $\mu\text{g/l}$  le pourcentage de saturation augmente de manière linéaire pour atteindre un plateau à 80% quand la leptinémie dépasse 10  $\mu\text{g/l}$  (Figure 32).

Pour les leptinémies physiologiques (comprise entre 2 et 10  $\mu\text{g/l}$ ), 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 (43). Au-delà de 10  $\mu\text{g/l}$  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 (72,89).

Les paramètres pharmacocinétiques propres à la leptine ont été déterminés chez l'homme et le rat (71,170). Chez l'homme, dans les conditions physiologiques, le temps de demi-vie plasmatique est 3.4 heures, la vitesse d'élimination est 1.3 ml/kg/min et le volume de distribution est 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 (170).

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 6.16 ml/kg/min (71). 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, notamment des hormones (111). La leptine est filtrée au niveau des plexus choroïdes et se retrouve dans le liquide cérébro-rachidien (LCR). Le mécanisme de transport de la leptine à travers la BHE et la toile choroïdienne n'est pas encore connu avec certitude (7). Ce transport est rapide et spécifique de l'hypothalamus, puisque dans le reste du SNC, la leptine ne traverse pas la BHE (182). 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 LCS. Etant donné que la forme courte du récepteur Ob-Ra (cf. *infra*) 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 *in vitro* que Ob-Ra permettait le transport spécifique de la leptine à travers des cellules polarisées, du pôle apical vers le pôle basal (70). 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 soit métabolisée.

## **B. Catabolisme et voies d'élimination**

La voie d'élimination principale de la leptine est la voie rénale (41-43). La leptine n'est pas métabolisée en amont du rein, elle est filtrée sous forme active par le glomérule. Néanmoins on retrouve très peu de leptine active dans l'urine ce qui suggère que celle-ci est catabolisée par les tubules rénaux (42,43). Aucune information n'est disponible concernant les mécanismes impliqués dans la dégradation de l'hormone.

La fraction d'extraction plasmatique à chaque passage par le rein est de 18 % (91,177). Elle ne varie ni avec la leptinémie, ni avec la proportion de leptine liée. Les fractions libres et liées sont réduites de manière égale après passage par le rein et la capacité de transport n'est pas modifiée. L'hormone se détache de son transporteur pour être filtrée par le glomérule. De retour dans la circulation sanguine la proportion leptine liée / leptine libre n'est pas modifiée du fait de l'existence d'un équilibre dynamique entre les deux fractions de l'hormone dans les conditions physiologiques.

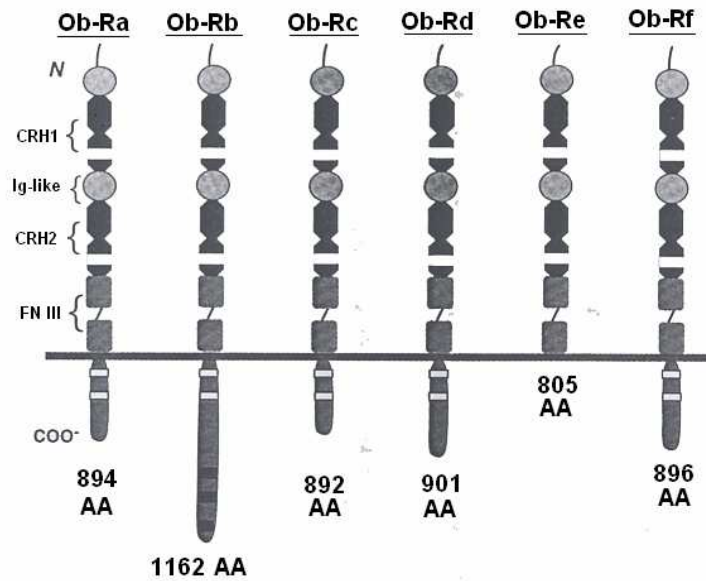
La leptine est sécrétée principalement de manière endocrine par les tissus adipeux blanc et brun, et dans une moindre mesure de manière exocrine par les cellules principales de l'estomac.

La sécrétion de leptine dépend de l'état de la balance énergétique et de ses variations ponctuelles. La sécrétion endocrine est régulée en fonction de la disponibilité énergétique, au niveau de la traduction par la voie de signalisation mTOR et par l'insuline. Elle est également régulée au niveau de la transcription par des facteurs constitutifs tels que C/EBP $\alpha$  et des facteurs inductibles en fonction de l'environnement hormonal (glucocorticoïdes, catécholamines, insuline, IGF-1, cytokines). En revanche la sécrétion exocrine dans l'estomac est régulée au niveau de la sécrétion et suit le même schéma que la sécrétion du pepsinogène.

La leptine circule dans le sang sous formes libre et liée et il existe un équilibre dynamique entre ces deux formes dans les conditions physiologiques. Chez les sujets hyperleptinémiques la proportion de formes libres augmente et pourrait être en partie responsable de l'apparition du phénomène de résistance à la leptine observé chez les individus en surpoids. Une partie de la leptine est rapidement fixée par les tissus périphériques cibles, notamment l'hypothalamus, l'intestin grêle, le foie, l'estomac, le muscle, la peau et le caecum. La diversité des tissus cibles de cette hormone traduit son rôle pléiotrope qui fait l'objet de la troisième partie.

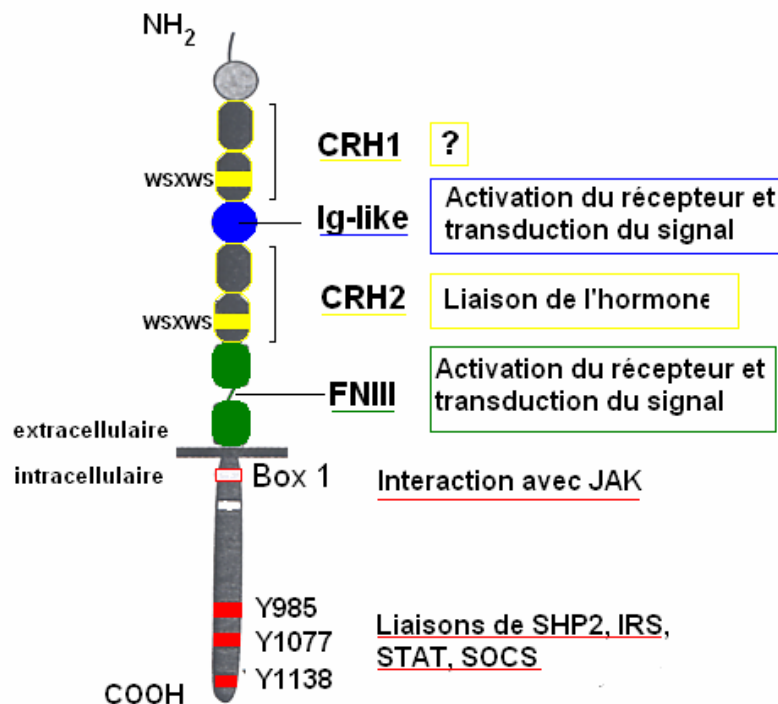


## **PARTIE III : ETUDE FONCTIONNELLE**



**Figure 33 : Les différentes isoformes du récepteur Ob (Ob-R) (d'après 29).**

CRH1 : Domaine Cytokine receptor homology 1 ; Ig-like : domaine « Ig-like » ; CRH2 : Domaine Cytokine receptor homology 2 ; FNIII : domaine de type Fibronectine III



**Figure 34 : Représentation schématique et rôles des sous-domaines du récepteur Ob-Rb (d'après 29).**

CRH1 : Domaine Cytokine receptor homology 1 ; Ig-like : domaine « Ig-like » ; CRH2 : Domaine Cytokine receptor homology 2 ; FNIII : domaine de type Fibronectine III ; WSXWS : séquence Trp-Ser-X-Trp-Ser ; Y : Tyrosine ; Box 1 : séquence box 1 (aaa 6-17) ; JAK : Janus Kinases ; SHP2 : SRC-like homology 2 domain-containing protein tyrosine phosphatase ; IRS : Insuline Receptor Substrates ; STAT : Signal Transducers and Activators of Transcription ; SOCS : Suppressors of Cytokine Signalling

## **I. Mode d'action.**

La leptine est une hormone peptidique polaire qui, en se combinant sur des récepteurs membranaires exprimés par les cellules cibles, provoque une première cascade réactionnelle, au voisinage de la membrane conduisant à la production de messagers cytoplasmiques (transduction du signal membranaire). Selon leur nature et l'équipement enzymatique des cellules cibles, ces messagers intracellulaires activent des enzymes multispécifiques cytosoliques de type kinases responsables des effets biologiques observés.

### **A. Organisation et répartition du récepteur Ob (Ob-R)**

#### **1. Organisation structurale et isoformes**

Le récepteur de la leptine a été identifié pour la première fois chez la souris par Tartaglia *et al* en 1995 (160). C'est un récepteur transmembranaire de la famille des récepteurs des cytokines de classe I. Les membres de cette famille présentent un domaine extracellulaire caractéristique contenant un motif de 4 cystéines et une séquence Trp-Ser-X-Trp-Ser (WSXWS), ainsi que plusieurs sous-domaines de type fibronectine III (9). Ob-R présente une forte analogie structurale avec la gp 130 qui est un composant du récepteur de l'interleukine 6, avec le récepteur du G-CSF (Granulocyte stimulating factor) et avec le récepteur du LIF (Leukemia inhibitory factor), même si les séquences primaires de ces différents récepteurs ne montrent que 24 % d'homologie (160).

Le récepteur Ob est codé par le gène *db* (160), qui peut subir des mécanismes d'épissage alternatif aboutissant à au moins 6 isoformes, notées Ob-Ra à Ob-Rf, se distinguant par la longueur de leur domaine intracellulaire C terminal (93,161,167). Ob-Rb est l'isoforme longue, Ob-Re est une isoforme hydrosoluble (dépourvue de domaine intracellulaire) et les quatre dernières représentent des isoformes courtes (Figure 33). Toutes les isoformes ont donc le même domaine extracellulaire. L'isoforme longue et les isoformes courtes ont en plus en commun le domaine transmembranaire et les 29 premiers acides  $\alpha$  aminés du domaine intracellulaire. L'isoforme longue présente un domaine intracellulaire total de 302 acides  $\alpha$  aminés contre 30 à 40 acides  $\alpha$  aminés pour les isoformes courtes.

Le domaine extracellulaire est formé de 816 acides  $\alpha$  aminés et se compose de 7 sous-domaines (118,119, Figure 1 et 2). Les deux premiers sous-domaines (acide  $\alpha$  aminé 62-178 et acide  $\alpha$  aminé 235-328) adoptent un repliement de type fibronectine III (FNIII) et forment le premier module de reconnaissance des cytokines : le CRH1 (Cytokine receptor homology 1) qui contient la séquence spécifique WSXWS (Trp-Ser-X-Trp-Ser). Le sous-domaine 3 (acide  $\alpha$  aminé 329-427) adopte un repliement de type immunoglobuline et constitue le domaine « Ig-like ». Les sous-domaines 4 et 5 (acide  $\alpha$  aminé 428-535 et acide  $\alpha$  aminé 536-635) constituent le second module de reconnaissance des cytokines, le CRH2 qui adopte la même conformation que le CRH1. On retrouve également dans ce domaine le motif WSXWS (acide  $\alpha$  aminé 622-626) (138). Les deux derniers sous-domaines adoptent aussi un repliement de type fibronectine III et constituent le domaine FN III. Le domaine CRH2 est le site de liaison de la leptine alors que les domaines « Ig-like » et FNIII participent à l'activation du récepteur (175). Le rôle du domaine CRH 1 n'a pas été identifié (Figure 34).

C'est par le domaine intracellulaire que les différentes formes du récepteur de la leptine se différencient. Les 29 premiers acides  $\alpha$  aminés sont identiques pour les cinq formes du récepteur (isoforme longue et isoformes courtes) et contiennent une séquence Box 1 (acide  $\alpha$  aminé 6-17) permettant l'interaction avec les protéines JAK (Janus Kinases) (160-161). Le domaine intracellulaire de Ob-Ra comprend 34 acides  $\alpha$  aminés, celui de Ob-Rc 32 acides  $\alpha$  aminés et celui de Ob-Rd 40 acides  $\alpha$  aminés (93). Le domaine intracellulaire de OB-Rf comprend 35 acides  $\alpha$  aminés (167). L'isoforme Ob-Rf diffère des autres isoformes courtes par la séquence nucléotidique de la partie 3' non transcrite de son gène.

Le domaine intracellulaire de Ob-Rb comprend 303 acides  $\alpha$  aminés (Figure 2). En plus de la Box 1, il contient quatre résidus tyrosine (Tyr 974, Tyr 985, Tyr 1077, Tyr 1138) (158). Ces tyrosines phosphorylées permettent la liaison de protéines contenant un domaine SH2 (SRC-like homology 2), telles les protéines STAT (Signal Transducers and Activators of Transcription), SHP-2 (SH2 domain-containing protein tyrosine phosphatase) et SOCS (Suppressors of Cytokine Signalling) et interviennent dans les modalités de la transduction membranaire du signal (cf. *infra*).

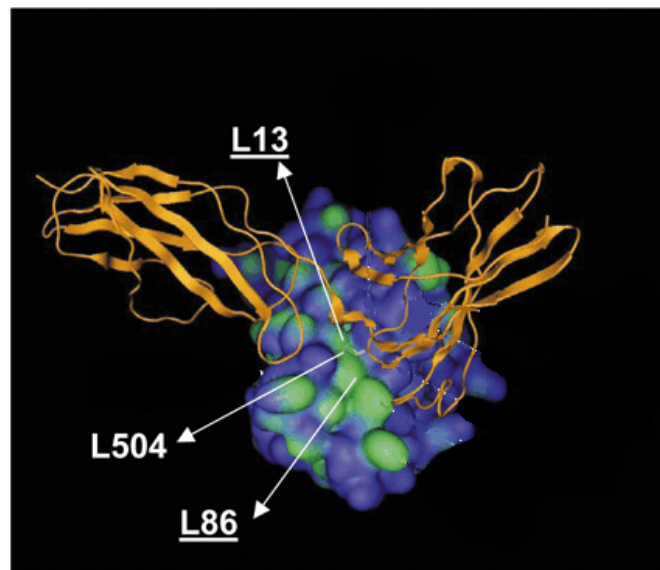
## 2. Répartition des différentes isoformes du récepteur

Le récepteur Ob-R est exprimé dans la plupart des tissus de l'organisme. Cependant, on note une répartition inégale des formes longues et des formes courtes, certainement liée à des fonctions distinctes. Hormis dans l'hypothalamus, les récepteurs courts sont environ dix fois plus abondants que le récepteur long (Ob-Rb).

En raison de l'organisation intracellulaire particulière de son domaine intracellulaire, Ob-Rb est la forme la plus active du récepteur et participe aux mécanismes de transduction membranaire. Il est présent principalement dans les noyaux hypothalamiques (noyau arqué, noyaux paraventriculaire, ventromédial, dorsomédial et aire latérale) (49,109) mais il est aussi exprimé avec une plus faible intensité dans la plupart des tissus (poumons, foie, pancréas, tube digestif, nœuds lymphatiques, gonades, hypophyse, tissu adipeux, muscle et cœur) (47,84) et dans les cellules du système immunitaire (44,139). Dans l'hypothalamus plus particulièrement il a été démontré que Ob-Rb est exprimé en grande quantité dans les neurones du noyau arqué synthétisant le neuropeptide Y (NPY) (8). Certaines études décrivent la présence de Ob-Rb dans le cervelet, le thalamus, le cortex piriforme, le cortex cérébral et les cellules épendymaires du 3<sup>e</sup> ventricule (8,22).

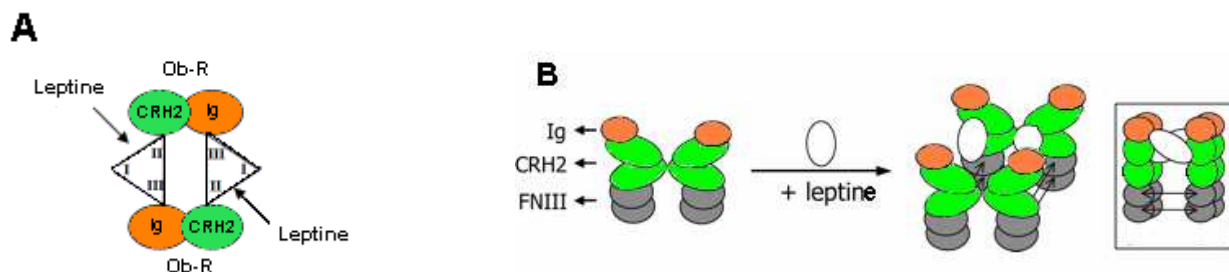
Durant la gestation, la forme longue est exprimée dans le placenta, plus particulièrement dans les cellules du trophoblaste et dans le tissu vasculaire pendant la période de croissance maximale du fœtus (152). Plus récemment, il a été mis en évidence dans les bourgeons du goût chez le rat traduisant un éventuel rôle de la leptine dans le contrôle de la sensation du goût (148).

Les formes courtes ont également une répartition variée. Néanmoins il semble que les formes c et d soient globalement moins exprimées que la forme a (49). Ob-Ra est particulièrement exprimé dans le rein, le poumon et le plexus choroïde où il pourrait avoir un rôle dans le transport de la leptine au travers des barrières biologiques (cf. *supra* – 49,109). Il est également exprimé dans le placenta, plus particulièrement pendant les derniers jours de la gestation, où il faciliterait le passage de la leptine de la mère au fœtus (153). On le retrouve également dans le tube digestif, le foie, le pancréas, le tissu adipeux, l'hypophyse, les gonades et le cœur (47,84).



**Figure 35 : Interaction de la leptine et du domaine CRH2 de Ob-R (d'après 119).**

La leptine est représentée en 3D, les zones bleues représentent les domaines hydrophiles et les zones vertes les domaines hydrophobes. Les rubans oranges représentent la structure en feuillet  $\beta$  du domaine CRH2. La liaison CRH2/site II met en jeu l'interaction hydrophobe entre les résidus leu 13 (hélice A) et leu 86 (hélice C) de la leptine et la région hydrophobe du CRH2 (aca 501 à 505), notamment leu 504.



**Figure 36 : Modèles d'interaction entre la leptine et son récepteur (d'après 174,176).**

**A : Modèle 2 : 2 :** Deux molécules de leptine se lient à un dimère de récepteur. La leptine se lie au domaine CRH2 d'un des 2 récepteurs par son site II de manière à mettre en contact son site III avec le domaine Ig de l'autre récepteur. **B : Modèle 4 : 2 :** En l'absence de ligand les récepteurs existent sous la forme de dimère liés par un pont dissulfure entre les domaines CRH2. La liaison de la leptine provoque le rapprochement de deux dimères qui se lient par la formation de quatre ponts dissulfures entre les quatre domaines FNIII. Le rapprochement des domaines FNIII permet de positionner correctement les domaines intracellulaires de manière à permettre les phosphorylations croisées nécessaire à l'activation des récepteurs

La forme f montre une répartition différente (167). Elle est exprimée en particulier dans la rate et le thymus et pourrait être impliquée dans les effets de la leptine sur le système immunitaire.

La forme soluble Ob-Re est exprimée par la plupart des tissus, notamment par le tissu adipeux, les gonades, le foie et la rate. Il semble que son expression augmente avec l'âge (154). Cette forme du récepteur est impliquée dans le transport de la leptine dans le sang. Durant la gestation il est exprimé par les cellules du placenta, plus particulièrement pendant les derniers jours de la gestation où il faciliterait comme Ob-Ra le transport de la leptine au fœtus (154).

### **3. Mécanisme d'interaction de la leptine avec son récepteur**

Le mécanisme exact de l'activation du récepteur Ob-Rb, induite par la liaison de la leptine n'est pas encore connu avec certitude. Il est néanmoins établi que la liaison de la leptine dépend de l'interaction de son site II avec le domaine CRH2 (Figure 35) du récepteur et que la transduction du signal dépend de l'interaction du site III de la leptine avec le domaine Ig-like du récepteur. Le domaine FNIII, bien que n'ayant aucune affinité pour le ligand est également essentiel à l'activité biologique du récepteur (50).

Les formes longues et les formes courtes ont la capacité de former des homodimères liés par des ponts dissulfures. En l'absence de ligand, 60 % des récepteurs sont présents sous la forme de dimères et la capacité de dimérisation n'est pas modifiée par la présence de leptine (39). La dimérisation ne semble donc pas avoir d'effet régulateur sur l'activation du récepteur.

Chaque Ob-R possède un site de liaison pour la leptine. L'hypothèse admise jusqu'à présent décrit la formation d'un complexe ligand / récepteur tétraédrique mettant en contact le site II de la leptine avec le CRH2 et le site III de l'hormone avec le domaine Ig-like (Figure 36.A). La liaison de la leptine induit des changements conformationnels dans la structure des récepteurs qui se traduisent par la naissance du signal (39). Mais cette hypothèse ne tient pas compte de l'importance du domaine FNIII dans la genèse du signal. Cette hypothèse est aujourd'hui controversée. Il a été mis en évidence que l'activation du récepteur dépendait de la formation d'un complexe plus volumineux (176). Le modèle de liaison de la leptine à son

récepteur a été reconsidéré, en prenant pour exemple le modèle du récepteur de l'IL6 qui forme un complexe 2:2:2, composé de deux sous-unités gp130, deux sous-unités IL6-R $\alpha$  et deux ligands et en s'intéressant plus particulièrement au rôle du domaine FNIII.

Les deux cystéines du domaine FNIII (cys 672 et 751) sont nécessaires à la transduction du signal par le récepteur. Pour mieux comprendre le rôle de ce domaine les chercheurs ont fabriqué des récepteurs dont le domaine extracellulaire se réduisait à ce seul domaine. Ces récepteurs sont capables de se dimériser et d'activer la voie JAK/STAT dans la cellule. L'interaction entre les domaines FNIII permet donc de positionner les domaines intracellulaires de sorte que les kinases soient correctement juxtaposées pour permettre les phosphorylations croisées nécessaires à l'activation des récepteurs. Le même récepteur contenant en plus le domaine CRH2 se dimérise mais ne présente aucune activité biologique. Il apparaît donc que la présence du domaine CRH2 s'oppose à l'interaction, biologiquement active, entre les domaines FNIII.

De cette observation est née un nouveau modèle d'interaction entre la leptine et son récepteur, impliquant la formation d'un complexe 4 : 2. Dans ce modèle, en l'absence de ligand, les récepteurs Ob-R existent sous la forme de dimère liés par des ponts dissulfures impliquant le domaine CRH2. La liaison de la leptine induit le rapprochement de deux dimères de récepteurs et permet le contact entre les domaines FNIII et la formation de ponts dissulfures impliquant les cys 672 et 751. Il en résulte un complexe actif stable de quatre récepteurs et deux leptines (Figure 36.B). Ce nouveau modèle est intéressant car il implique l'activation de quatre récepteurs par seulement deux leptines (amplification du signal hormonal). Ceci pourrait permettre d'expliquer comment la leptine peut induire la transduction d'un signal dans les tissus périphériques où la forme longue du récepteur ne représente que 10% des récepteurs Ob-R à la surface des cellules (174).



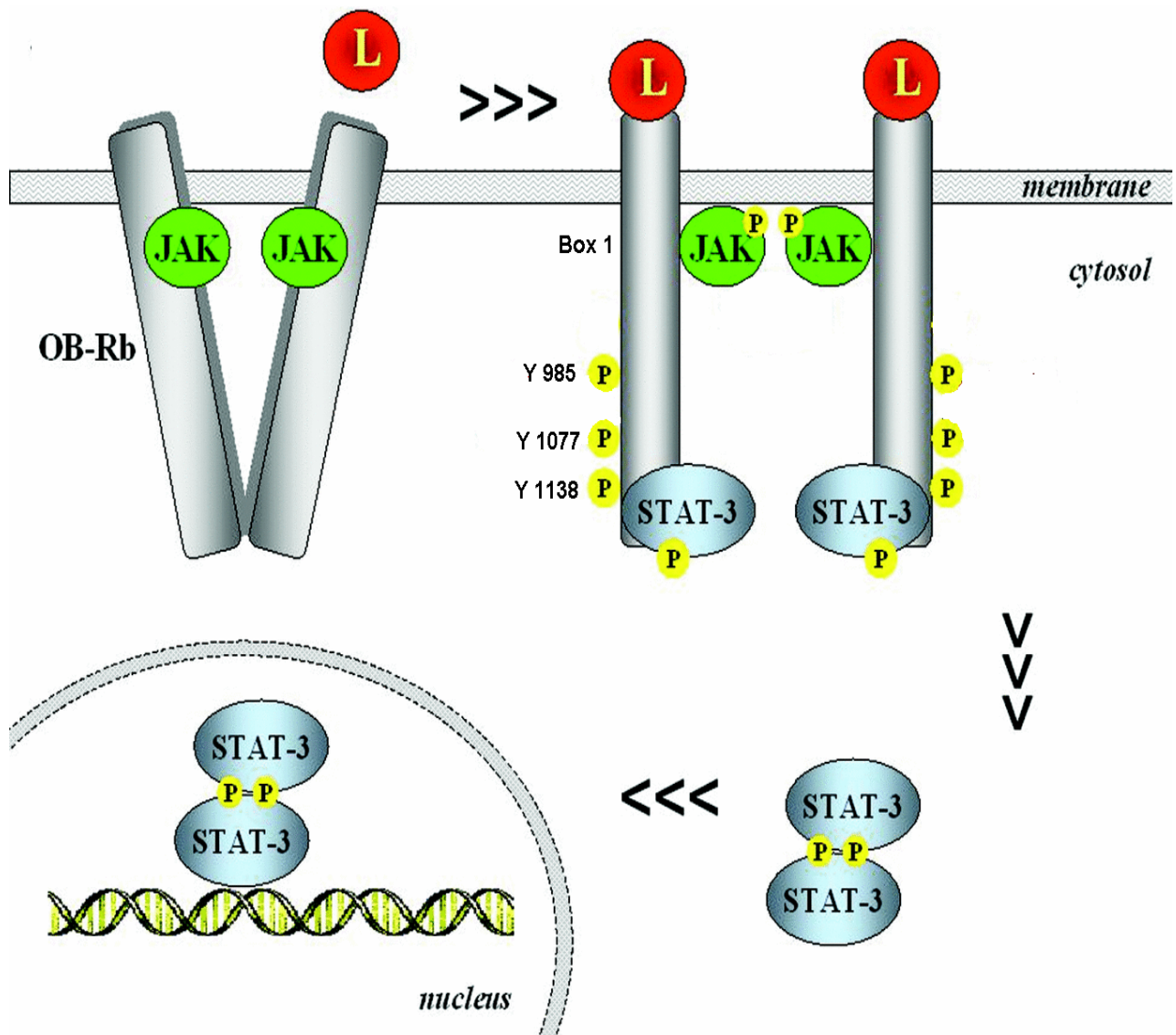
## **B. Activation intracellulaire et induction des effets biologiques**

Comme le récepteur Ob-R est un membre de la famille des récepteurs à cytokines des voies de signalisation communes ont été recherchées et identifiées. Comme pour les autres récepteurs de cette famille, la voie JAK/STAT est activée mais d'autres voies de signalisation ont également été mises en évidence, notamment l'activation de la voie MAPK, de la voie PI3K et de la voie AMPK.

### **1. La voie JAK/STAT (Janus Kinases / Signal Transducers and Activators of Transcription)**

Comme le récepteur long Ob-Rb ne possède pas d'activité enzymatique intrinsèque (de type Tyrosine Kinase), les mécanismes de transduction nécessitent l'intervention de tyrosine kinases cytoplasmiques appelées Janus Kinases (en particulier JAK 2), qui s'associent de manière non covalente au premier domaine intracellulaire, box 1. Lorsque la leptine se lie à OB-Rb, JAK 2 autophosphoryle ses propres résidus tyrosyles ainsi que ceux du domaine intracellulaire de OB-Rb (Y<sub>985</sub>, Y<sub>1077</sub>, Y<sub>1138</sub>). La présence de phosphotyrosyles permet la liaison et l'activation de protéines STAT par phosphorylation de leurs résidus tyrosyles. Les STAT activées se dimérisent grâce à la mise en place d'interactions spécifiques entre les phosphotyrosines et sont ensuite transloquées jusqu'au noyau où elles interagissent avec des séquences consensus spécifiques de l'ADN (ISRE : Interferon Stimulating Response Element) et stimulent ainsi la transcription de différents gènes (51 - Figure 37). L'activation de STAT 1, STAT 3 et STAT 5 a été décrite, mais pas celle de STAT 2 et STAT 4. STAT 5 peut être activée par le résidu tyrosine phosphorylé 1077 ou 1138 alors que STAT 3 est activé uniquement par le résidu 1138 (67).

Cette constatation a permis d'étudier le rôle de STAT 3 dans le signal conduit par la leptine, en comparant des souris exprimant le récepteur OB-Rb déficient en Tyr 1138 (Souris *Lepr*<sup>S1138</sup>) aux souris totalement déficientes en récepteur (souris db/db). Les souris *Lepr*<sup>S1138</sup> sont hyperphagiques et obèses mais conservent une fonction de reproduction et une croissance normale. De plus, elles sont moins hyperglycémiques que les souris db/db et ne présentent pas d'anomalie de l'expression du neuropeptide Y (un des principal neuropeptide oréxigène sécrété dans l'hypothalamus). Il semble que STAT 3 participe à la régulation de la prise alimentaire et au contrôle de la masse grasse sans toutefois intervenir directement sur



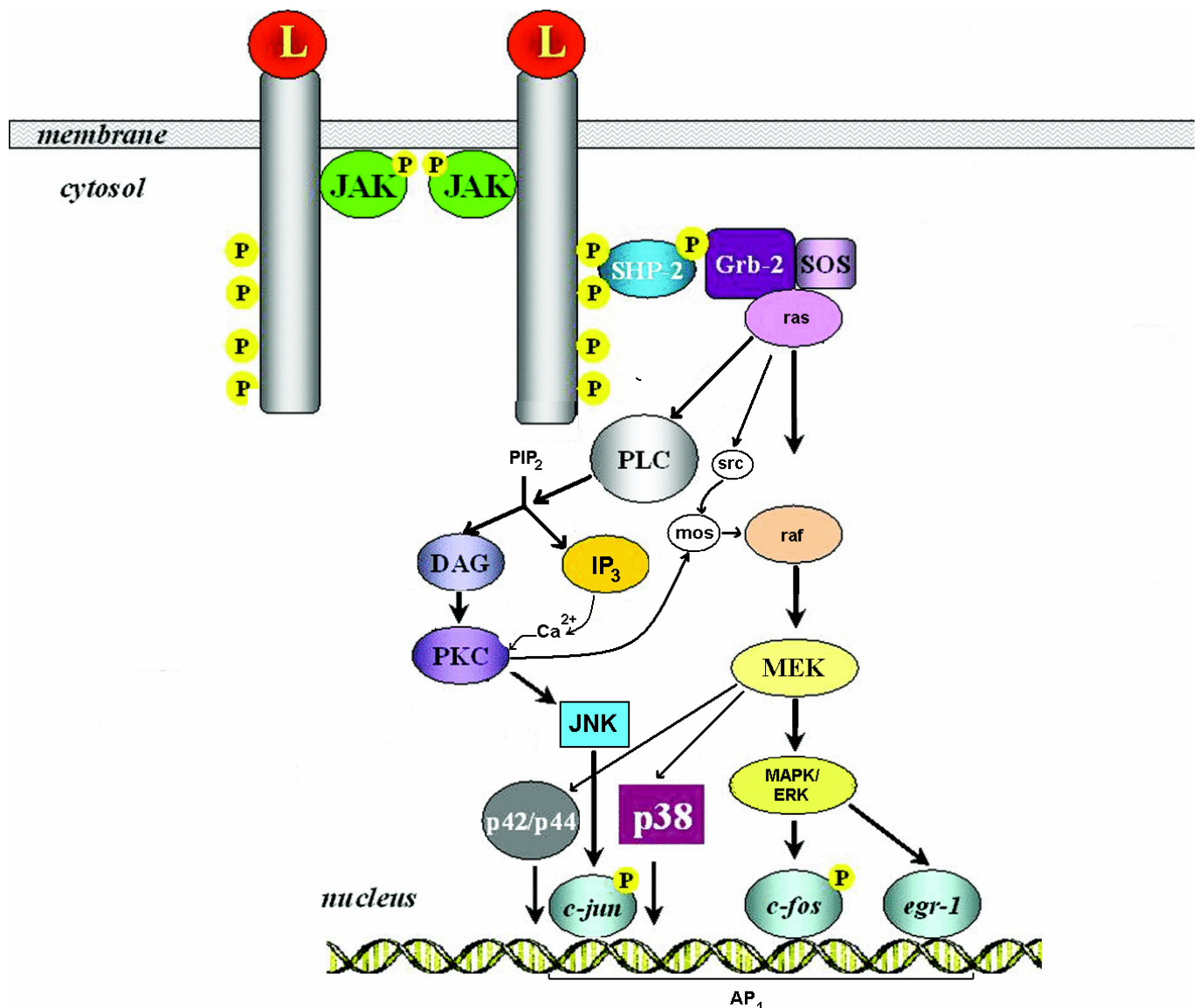
**Figure 37** : Schématisation de la cascade réactionnelle JAK / STAT (d'après 51).

La liaison de la leptine à son récepteur permet le positionnement correct des protéines JAK qui peuvent alors s'autophosphoryler et phosphoryler le domaine intracellulaire de Ob-Rb. Le résidu tyr 1138 phosphorylé permet la liaison des protéines STAT 3 et leur activation. Ces protéines phosphorylées se dimérisent et migrent vers le noyau où elles interagissent avec l'ADN et modulent la transcription des gènes cibles.

l'expression du neuropeptide Y. STAT 3 ne semble pas avoir de rôle sur le contrôle de la croissance, de la glycémie et de la reproduction.

## **2. La voie MAPK/ERK (mitogen-activated protein kinase/ Extracellular-signal-regulated kinase)**

Le domaine intracellulaire phosphorylé du récepteur Ob-Rb, grâce plus particulièrement à la Tyrosine 985, permet également la liaison de la protéine phosphatase SHP-2 (13,174 – Figure 38). SHP-2 activée se lie à la protéine adaptatrice Grb-2 qui elle-même se lie à une protéine SOS. Cette dernière peut alors interférer avec une petite protéine G de la face interne de la membrane, p21 Ras, et l'activer en favorisant la substitution du GDP par du GTP. L'activation de Ras est à l'origine de plusieurs cascades réactionnelles à l'origine des effets pléiotropiques observés. Cette protéine G interagit physiquement avec plusieurs cibles moléculaires et module leur activité. Premièrement les PLC spécifiques des phosphatidyl-inositols, en particulier les isoformes  $\beta$ , ainsi stimulées et ancrées sous la face interne de la membrane catalysent l'hydrolyse des Phosphatidyl-inositols diPhosphates ( $\text{PiP}_2$ ) membranaires en DiAcylGlycerol (DAG) et Inositol Triphosphate ( $\text{IP}_3$ ). Ce dernier diffuse vers des récepteurs spécifiques de la face externe du réticulum et entraîne l'ouverture de nombreux canaux calciques. Il en résulte une augmentation rapide de la concentration cytoplasmique de  $\text{Ca}^{2+}$ . La fixation de  $\text{Ca}^{2+}$  sur les protéines kinases C (PKC) (isoformes  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ ) provoque leur migration vers la membrane plasmique où elles sont activées par les DAG. Les PKC sont des enzymes multispécifiques qui catalysent la phosphorylation de nombreuses protéines sur des résidus de sérine et de thréonine. La PKC catalyse l'activation de JNK (c-JUN N-Terminal kinase), protéine kinase induite par le stress, qui engendre ensuite l'activation du facteur de transcription c-jun. La PKC phosphoryle également d'autres facteurs de transcription tels que c-fos (AP1), c-myc et c-max (AP2) et l'inhibiteur I du dimère NF- $\kappa$ B qui se transloque alors dans le noyau et se lie à une séquence NRE. Les deuxièmes cibles de ras sont des protéines kinases de type tyrosine kinase (src, raf) ou de style Ser/Thr kinases (mos). L'activation de ces enzymes cytoplasmiques conduit à la mise en place de la voie de la MAPK (MAP Kinase). L'enzyme mos, également appelée MAP Kinase Kinase Kinase, peut être stimulée de trois façons complémentaires : interactions des domaines SH2 de mos avec des domaines analogues de ras ; phosphorylation des résidus tyrosyles par des Tyrosines Kinases (src) ; phosphorylation des résidus Ser/Thr par la PKC.



**Figure 38 : Schématisation de la cascade réactionnelle MAPK / ERK (d'après 51)**

Le résidu Tyr 985 phosphorylé permet la liaison de la protéine SHP-2. SHP-2 interagit avec la protéine adaptatrice Grb2 et avec SOS ce qui conduit à l'activation de la protéine G membranaire Ras. Ras activé enclenche une cascade de phosphorylation qui aboutit à l'activation des protéines ERK. ERK phosphoryle alors des facteurs de transcription comme c-fos. Ces facteurs peuvent alors se lier à des séquences spécifiques de l'ADN et agir sur la transcription.

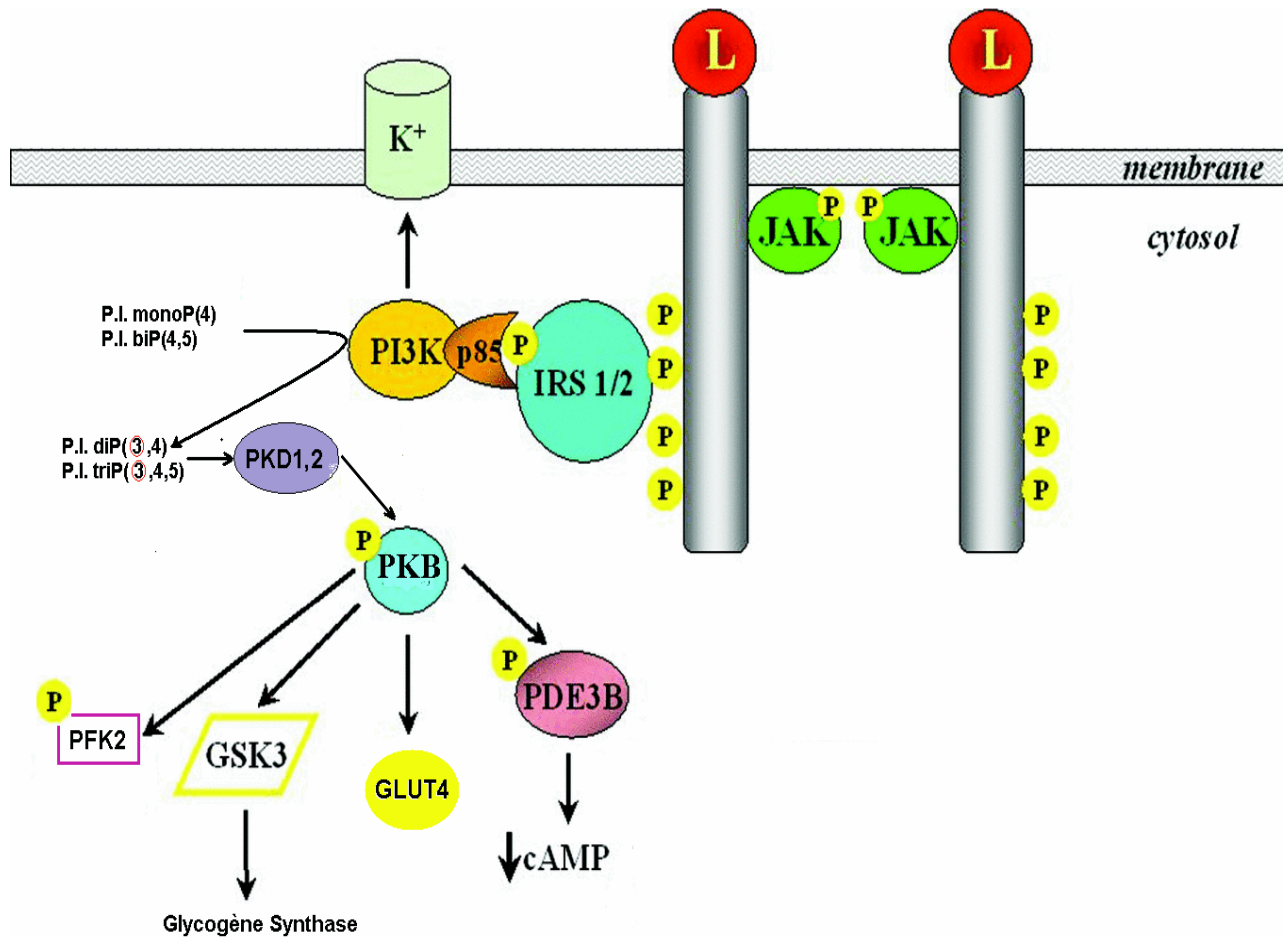
La protéine Ras activée catalyse également l'activation de la PLC, ce qui conduit à l'activation de la PKC. La PKC peut alors phosphoryler de nombreux facteurs cellulaires sur des résidus serine/thréonine, notamment la protéine JNK qui active le facteur c-jun.

Cette Ser/Thr Kinase est alors capable à son tour de phosphoryler et d'activer une Tyrosine Kinase spécifique, intermédiaire, la protéine raf (ou MAP Kinase Kinase Kinase) elle-même directement activable par interactions physiques avec la protéine G monomérique ras. La protéine raf active par phosphorylation des tyrosyles une autre kinase intermédiaire, la MAP Kinase Kinase (appelée MEK) qui agit directement sur les MAP Kinases ou les ERKs par son activité Tyrosine Kinase. Les ERKs sont responsables de la phosphorylation et de l'activation des facteurs de transcription de type AP1 (c-fos, egr1) qui se fixent sur des séquences AP1 boxes et activent la transcription de gènes impliqués dans la prolifération et la différenciation cellulaire (Figure 38). Les MAPK p38 et p42/p44 inductibles/activables par un stress thermique, osmotique ou les cytokines (SAPK, Stress Activated Protein Kinases) également activées conduisent à la phosphorylation d'une autre AP1, c-jun.

Il existe donc une activation simultanée de deux voies d'activation cytoplasmiques, celle de la PKC et celle de la MAP Kinase, médiée principalement par la protéine monomérique ras.

De plus l'existence de kinases intermédiaires spécifiques régulables directement (mos) ou indirectement (raf) par la PKC constitue des boucles d'amplification de ces cascades réactionnelles qui aboutissent à l'activation des différents facteurs de transcription (AP1, AP2, NF- $\kappa$ B) impliqués dans les programmes de prolifération et de différenciation cellulaires.

Contrairement à la voie JAK/STAT, la voie ERK peut aussi être activée par la forme courte du récepteur, Ob-Ra (51). Dans ce cas la protéine SHP-2 est phosphorylée directement par JAK. Cependant le signal conduit par Ob-Ra est moins efficace que celui conduit par Ob-Rb.



**Figure 39 : Schématisation de la cascade réactionnelle PI3K (d'après 51).**

Le résidu Tyr 985 phosphorylé permet la liaison des protéines IRS. IRS phosphorylé catalyse l'activation de la protéine PI3K par l'intermédiaire de sa sous-unité régulatrice p85. La PI3K activée permet l'activation de la PKB. PKB peut alors activer la PDE3B ce qui induit une diminution de la concentration intracellulaire d'AMPc. PKB agit aussi sur les enzymes du métabolisme glucidique : elle active la GSK3 et la PFK2. Elle stimule la translocation de GLUT 4 vers la membrane et active le PDE3B qui induit la diminution de la concentration intracellulaire d'AMPc.

L'activation de PI3K induit aussi l'ouverture de canaux membranaires K<sup>+</sup>ATP dépendants.

### **3. La voie PI<sub>3</sub>K/PDE3B/AMPc (phosphatidylinositol-3 Kinase/ phosphodiesterase 3B/AMPc)**

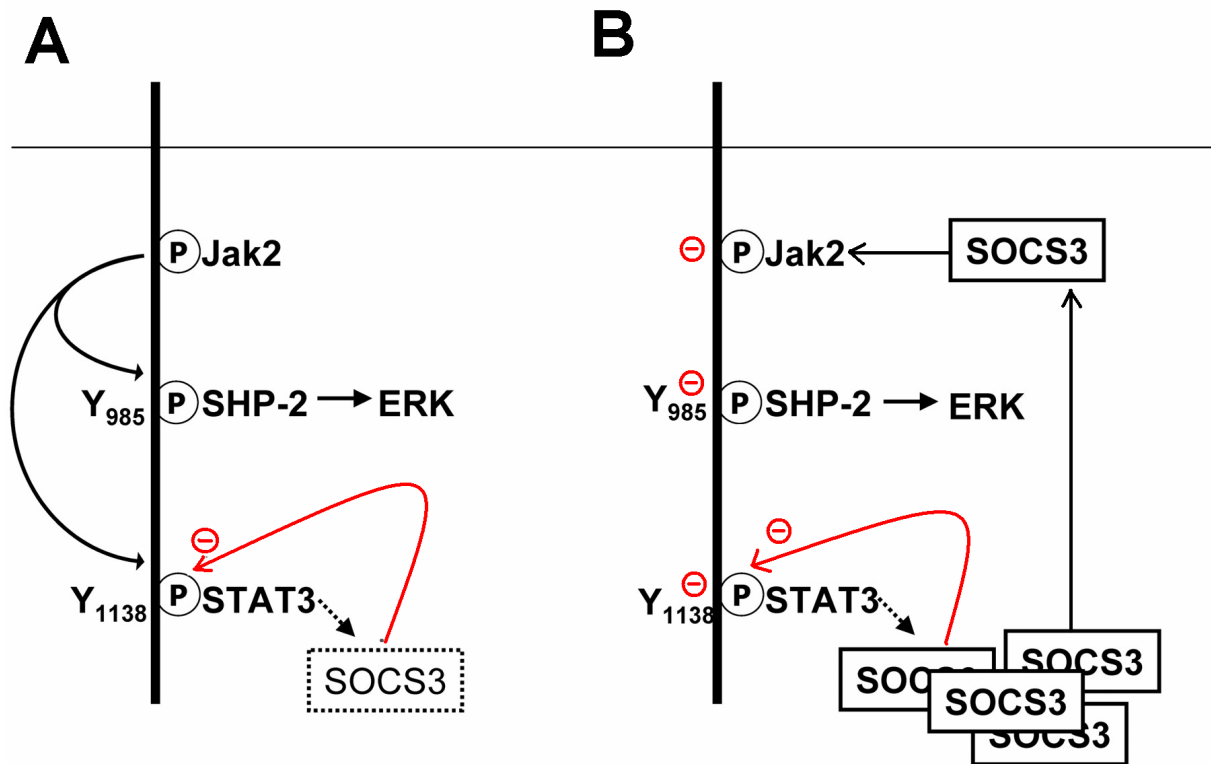
La voie PI<sub>3</sub>K est la voie typiquement impliquée dans les actions de l'insuline. L'activation de la voie PI<sub>3</sub>K par la leptine est un point de croisement entre ces deux voies métaboliques (51).

La liaison de la leptine à son récepteur permet de recruter IRS 1 et 2 et de les activer grâce à l'établissement d'interactions avec les PhosphoTyrosyles de Ob-Rb. Les protéines IRS activent la PI<sub>3</sub>K en interagissant avec sa sous-unité régulatrice, p85. PI<sub>3</sub>K catalyse alors la formation de phosphatidyl-inositol-(3,4)-diphosphate et -(3,4,5)-triphosphate membranaires responsables de l'activation allostérique des kinases PKD1 et 2 (kinases phosphoinositol dépendantes 1 et 2) et de l'ancrage membranaire de la PKB. Après phosphorylation par les PKD1 et 2, la PKB catalyse la phosphorylation de différentes protéines sur des résidus serine et thréonine, notamment des enzymes impliquées dans le métabolisme glucidique. La glycogène synthétase kinase (GS3K) et la phosphofructokinase 2 sont activées ce qui provoque une stimulation de la glycolyse et de la glycogénogénèse. La PKB active également le transport de GLUT 4 vers la membrane. Elle catalyse enfin l'activation de la phosphodiesterase 3B (PDE3B) responsable de l'hydrolyse de la liaison phosphodiester de l'AMPc ce qui induit une chute du messager intracellulaire et une accumulation de l'AMP (Figure 39).

Néanmoins l'activation de la voie PI<sub>3</sub>K par la leptine ne régule pas aussi intensément la GS3K que l'insuline. Par contre elle permet le recrutement efficace de GLUT 4 vers la membrane dans les cellules musculaires (51).

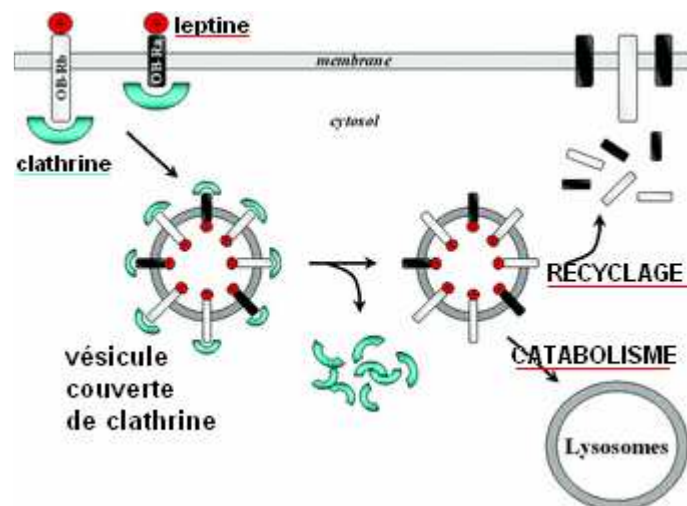
Bien que les points de croisement entre les actions de l'insuline et de la leptine ne sont pas encore bien définis, l'implication de la même voie de signalisation dans la cellule laisse entrevoir une importante coopération entre ces deux hormones dans la régulation du métabolisme glucidique.

La phosphorylation de PI<sub>3</sub>K peut aussi induire l'activation de canaux potassiques membranaire ATP dépendants, ce qui induit une hyperpolarisation de la membrane cytoplasmique. Cette voie a été mise en évidence dans les cellules isolées des insulinomes, dans les cellules isolées des îlots de Langerhans et dans les neurones hypothalamiques glucose-sensitifs.



**Figure 40** : régulation du signal leptine par les protéines SOCS (d'après 46).

A - Stimulation aiguë du récepteur : l'activation de STAT3 induit l'expression de SOCS3. SOCS3 inhibe la phosphorylation de STAT3. B - Stimulation chronique : Accumulation de SOCS3 dans la cellule. SOCS3 peut alors se lier à JAK2 ce qui inhibe la phosphorylation et l'activation de la totalité du récepteur.



**Figure 41** : Internalisation des récepteurs activés : régulation par diminution du nombre de récepteurs membranaires (d'après 51)



En permettant la phosphorylation de IP<sub>3</sub> en IP<sub>4</sub> l'activation de la PI<sub>3</sub>K conduit à une diminution de la concentration intracellulaire de IP<sub>3</sub> et donc de celle de Ca<sup>2+</sup> et *in fine* à une diminution de l'activité de la PKC. Ainsi il est intéressant de constater que la leptine peut avoir un effet activateur ou inhibiteur sur la PKC selon la voie de signalisation activée, ou lorsque les 2 voies sont possibles dans la cellule cible, à la mise en place d'une régulation négative du signal hormonal.

#### **4. La voie AMPK (5'-AMP-activated protein kinase)**

La leptine stimule l'oxydation des acides gras dans le muscle. Cet autre rôle met en jeu une autre voie de régulation impliquant l'AMPK. L'AMPK est impliquée dans la régulation de la prise de nourriture, en réponse à la disponibilité des nutriments et aux agents hormonaux comme la leptine. L'activation de l'AMPK est un signal ordonnant de favoriser les voies cataboliques par rapport aux voies anaboliques, en réponse à une chute du rapport ATP/AMP. Dans le muscle squelettique la leptine entraîne une augmentation de l'AMPc et active sélectivement la sous-unité catalytique  $\alpha 2$  de l'AMPK (51). Il en résulte une stimulation de l' $\alpha$  oxydation des acides gras par blocage de l'acétyl-coA carboxylase (ACC) et activation de la carnitine palmitoyl-transferase 1 (CTP1).

La voie par laquelle la leptine induit une augmentation de la concentration intracellulaire d'AMPc et active l'AMPK n'est pas connue à ce jour. Cependant l'activation directe de l'AMPK par la leptine explique, au moins en partie, son rôle dans la stimulation du métabolisme oxydatif dans le muscle (cf. *infra*).

#### **5. Les voies de régulation intrinsèques du signal leptine**

Le signal leptine est contrôlé négativement par les protéines SOCS<sub>3</sub> (Suppressors of Cytokine Signalling) (13,51). SOCS<sub>3</sub> est un membre d'une famille d'inhibiteurs inductibles comprenant également les protéines CIS (cytokine-inducible sequence), SOCS<sub>1</sub> et SOCS<sub>2</sub>. Ces petites protéines contiennent un domaine SH2 central qui leur permet de se lier à un motif de cinq acides  $\alpha$  aminés contenant un résidu tyrosine phosphorylé (pYXXX), présent dans les protéines JAK. Ces protéines ont également en commun un domaine C terminal de 40 acides  $\alpha$  aminés, la SOCS Box, qui pourrait jouer un rôle protecteur vis-à-vis de leur dégradation

cytosolique (14). Plusieurs membres de la famille des cytokines (IL6, LIF, GH) induisent la transcription de un ou plusieurs gènes CIS et SOCS, via l'activation de la voie JAK/STAT (13). Dans le cas de la leptine c'est l'activation du facteur de transcription STAT<sub>3</sub> qui induit l'expression de SOCS<sub>3</sub> dans la cellule (Figure 40.A). SOCS<sub>3</sub> se lie par son domaine SH2 au niveau du résidu tyrosyle 1138 phosphorylé du récepteur Ob-Rb. Cette liaison induit l'inhibition de la phosphorylation de STAT<sub>3</sub>. Par contre la liaison de SOCS<sub>3</sub> à la Tyr 985 n'a aucun effet sur les autres voies de signalisation. SOCS<sub>3</sub> représente un mécanisme de retro-régulation du signal STAT lors de la stimulation aigüe du récepteur. Si la stimulation du récepteur se prolonge SOCS<sub>3</sub> s'accumule dans la cellule. Il semble que dans ces conditions SOCS<sub>3</sub> soit capable de se lier à JAK2 et d'inhiber sa phosphorylation. Par cette voie SOCS<sub>3</sub> inhibe l'activation du récepteur et donc toutes les voies détaillées précédemment (46) (Figure 40.B). Les souris déficientes en protéines SOCS sont hypersensibles à la leptine et résistantes à l'obésité induite par un régime hypercalorique. Les protéines SOCS permettent de moduler la sensibilité des cellules à la leptine en fonction de l'intensité de la stimulation des récepteurs. Cependant si la stimulation des récepteurs est permanente, l'accumulation de SOCS<sub>3</sub> dans la cellule se traduit par une inhibition totale et durable de la phosphorylation des récepteurs et donc de la transduction du signal de la leptine. Ce modèle permettrait d'expliquer le phénomène de résistance à la leptine qui apparaît chez les obèses, qui ont une leptinémie élevée en permanence.

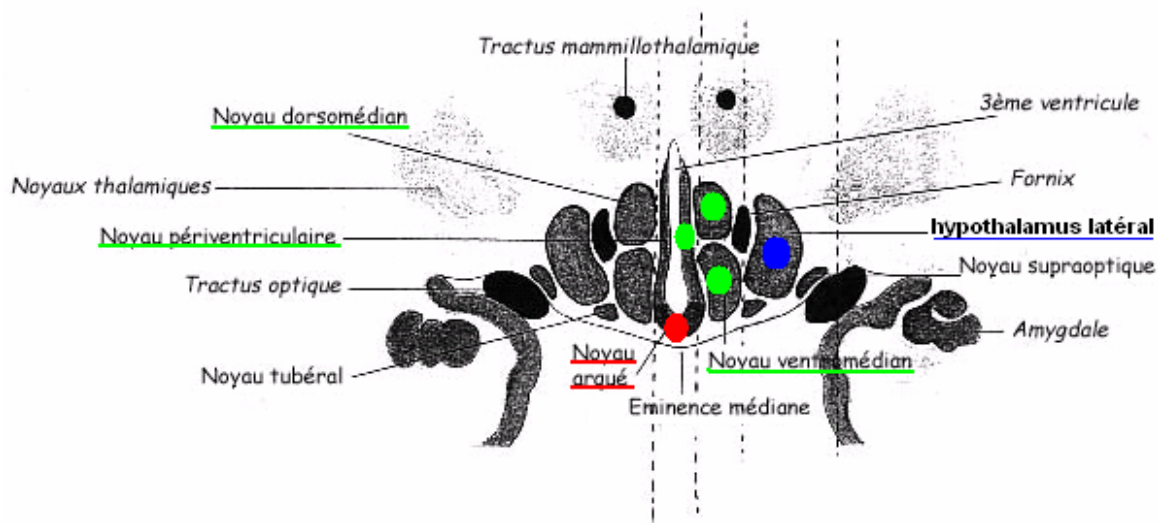
La phosphatase PTP1B (protein tyrosine phosphatase 1B) représente une autre voie de régulation du signal leptine (51,174). La PTB1 reconnaît une séquence spécifique (E/D)<sub>p</sub>Y-<sub>p</sub>Y-(R/K) présente sur la protéine JAK2. PTP1B catalyse la déphosphorylation des résidus tyrosines de JAK2 et inhibe donc la transduction du signal. Les souris déficientes en PTP1B sont hypersensibles à la leptine et résistantes à l'obésité induite par un régime hypercalorique comme les souris déficientes en SOCS. La PTP1B est exprimé exclusivement dans le réticulum endoplasmique. Le mécanisme de l'interaction entre PTP1B et Ob-Rb est inconnu, mais il semblerait qu'il implique l'internalisation préalable du récepteur dans le réticulum.

La régulation du signal leptine dépend également de la diminution du nombre de récepteurs membranaires (51). Ce mode de régulation est commun à de nombreuses cytokines. Les complexes hormone-récepteur sont internalisés après phosphorylation de l'extrémité Ct du récepteur, dans des vésicules à revêtement de clathrine (Figure 41). Le récepteur est ensuite catabolisé dans les endosomes ou recyclé à la surface de la cellule. Selon

certain auteurs la forme longue du récepteur est préférentiellement dégradée après internalisation contrairement à la forme courte qui est plus souvent recyclée. Ceci pourrait aussi expliquer le phénomène de résistance à la leptine qui s'installe chez les sujets hyperleptinémiques.

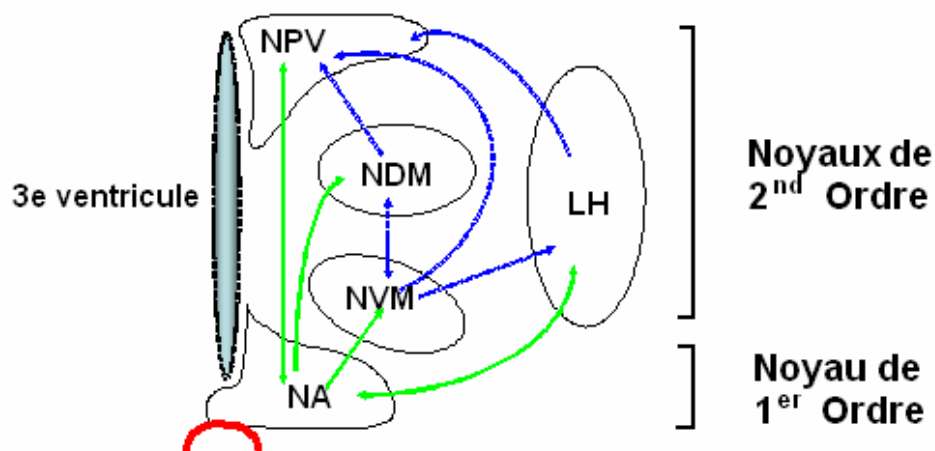
**La leptine est une hormone polaire qui participe à la régulation de nombreuses fonctions cellulaires, dans la totalité de l'organisme, par l'intermédiaire de la forme longue de son récepteur, Ob-Rb. Une des formes courtes, Ob-Ra, est également largement exprimée et semble participer au transport de la leptine à travers les barrières biologiques, notamment la barrière hémato-méningée, alors que la forme tronquée (Ob-Re) participerait au transport de l'hormone dans le sang.**

**Pour agir dans les tissus cibles la leptine est capable d'enclencher plusieurs voies de transduction intracellulaires. Les principales voies sont JAK/STAT3, MAPK/ERK, PI3K et AMPK. Le signal leptine est régulé négativement par l'induction de SOCS, par PTP1B et par l'internalisation des récepteurs activés. En situation de stimulation chronique des anomalies dans ces mécanismes de contrôle sont responsables de l'inactivation des récepteurs et conduisent à une résistance à la leptine observée chez les sujets hyperleptinémiques (expression privilégiée des formes courtes activées du récepteur, accumulation des protéines SOCS<sub>3</sub>, hyperactivation de PTP1B).**



**Figure 42** : Les noyaux hypothalamiques impliqués dans l'homéostasie énergétique (d'après 164)

Les noyaux soulignés sont impliqués dans l'homéostasie énergétique



**Figure 43** : Interactions entre les noyaux hypothalamiques impliqués dans la régulation de l'homéostasie énergétique (d'après 164).

Les projections du noyau de premier ordre vers les noyaux de second ordre sont représentées en vert ; les projections entre les noyaux de second ordre sont représentées en bleu. NA : noyau arqué ; NPV : noyau paraventriculaire ; NDM : noyau dorsomédian ; NVM : noyau ventromédian ; LH : aire latérale de l'hypothalamus.

## **II. Les rôles de la leptine**

Les modèles murins de déficience en leptine (souris ob/ob) et de déficience en récepteur Ob-Rb (souris db/db, rats fa/fa) ont permis d'envisager précocement les rôles de cette hormone. Ces souris présentent un phénotype obèse caractérisé par une augmentation de la prise alimentaire et une diminution de la dépense énergétique, se traduisant par une diminution de la consommation d'oxygène et un état d'hypothermie (20). L'administration de leptine exogène aux souris ob/ob entraîne une réduction la prise alimentaire et une augmentation de la dépense énergétique qui se traduit par une réduction rapide de la masse corporelle (62). La leptine semble donc jouer un rôle majeur dans le maintien de l'homéostasie énergétique, mais ce n'est pas son seul rôle. Les souris ob/ob et db/db présentent en plus plusieurs déséquilibres hormonaux, notamment une hyperglycémie associée à un diabète insulino-résistant, une infertilité associée à un hypogonadisme et une hypercortisolémie (20,74). Elles présentent en plus des systèmes immunitaires et hématopoïétiques défaillants (48), ainsi qu'une augmentation de la masse osseuse (37) ce qui laisse entrevoir la diversité des rôles de cette hormone.

### **A. Rôle dans le maintien de l'homéostasie énergétique**

#### **1. Action centrale : régulation de la prise alimentaire**

##### **a) L'hypothalamus : centre de régulation de l'homéostasie énergétique**

L'hypothalamus est le site majeur d'intégration des signaux centraux et périphériques concernant l'état de la balance énergétique de l'organisme. C'est une structure cérébrale fortement irriguée qui peut facilement être informée des variations des concentrations plasmatiques des facteurs circulants ayant un rôle informateur sur l'état des réserves, comme l'insuline, la leptine et les nutriments.

L'hypothalamus est divisé en noyaux (Figure 42). Les noyaux impliqués dans l'homéostasie énergétique sont le noyau arqué (NA), le noyau paraventriculaire (NPV), le noyau dorso-médian (NDM), le noyau ventro-médian (NVM) et l'hypothalamus latéral (LH). Le NA est appelé noyau de premier ordre, car il intègre directement les signaux périphériques,

tandis que les autres noyaux sont des noyaux de second ordre : ils reçoivent les informations du NA et produisent des messagers chimiques (neuropeptides oréxigènes et anoréxigènes) qui modifient l'activité du système nerveux autonome afin de corriger éventuellement la balance énergétique. Ils sont aussi capables d'interagir entre eux (Figure 43). Des expériences d'ablation sélective de ces noyaux ont montré que le NVM pouvait être considéré comme le « centre de la satiété » et le LH comme le « centre de la faim ».

### **b) Peptides hypothalamiques (Figure 44)**

Les principaux peptides orexigènes produits par les neurones du noyau arqué (NA) sont le Neuropeptide Y (NPY) et l'Agouti-related peptide (AgRP).

Le NPY est un peptide de 36 acides  $\alpha$  aminés appartenant à la famille des peptides YY (164), fortement conservé chez les vertébrés. L'AgRP est un peptide assimilable à l'agouti (peptide exclusivement présent dans le derme des rongeurs et jouant un rôle dans la pigmentation).

La production de ces deux peptides orexigènes augmente juste avant la prise alimentaire et diminue au fur et à mesure que l'animal se nourrit, et elle est fortement augmentée par une situation de jeûne.

Les neurones des noyaux NVM et NDM sont également capables de synthétiser ces deux peptides orexigènes. Les cellules neurosécrétrices de ces trois noyaux (NA, NVM, NDM) se projettent dans les deux autres noyaux hypothalamiques impliqués dans la régulation de la prise alimentaire, le NPV et la zone LH. Les neurones ainsi stimulés de la zone LH sécrètent en conséquence d'autres peptides orexigènes (la MCH et les orexines A et B) (164) qui conduisent à une augmentation de la prise alimentaire. La forte production de ces orexigènes puissants par la zone LH justifie son appellation de « centre de la faim ». De plus, la MCH (Melanin Concentrating Hormone) libérée dans la circulation générale présente des actions hormonales symétriques et amplifie en particulier la sécrétion de leptine. Les orexines A et B participent également à la régulation de la durée du repas, et interviennent dans le contrôle de l'éveil et de la locomotion. Le circuit impliquant les neurones NPY/AgRP des centres NA, NVM et NDM d'une part et les neurones à MCH/orexines A et B de la zone LH d'autre part constitue un circuit orexigène majeur (Figure 44.A).

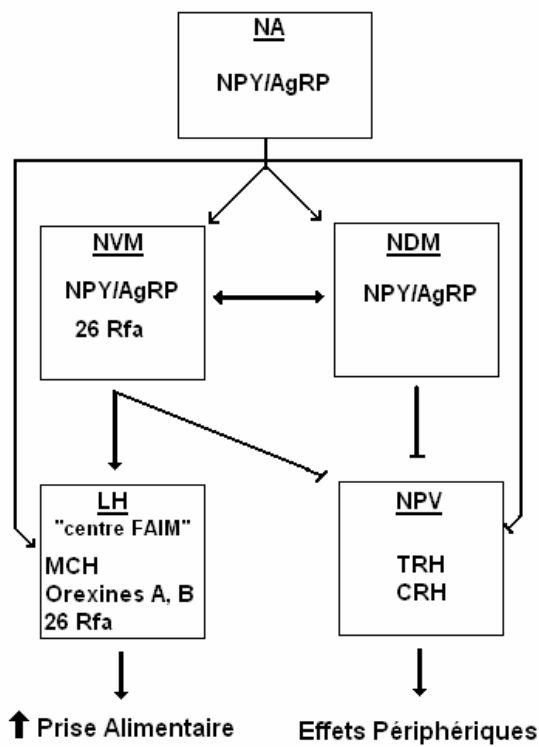
Un autre neuropeptide, le 26 Rfa (appartenant à la famille des Rfamides peptides), est exprimé par les neurones du LH et du NVM et constitue un puissant orexigène chez la souris (137), mais ses rôles précis demeurent encore inconnus.

Dans le NPV, NPY et AgRP inhibent la production de CRH (Corticotropine Releasing Hormone) et de TRH (Thyrotropine Releasing Hormone), qui contrôlent essentiellement les axes endocriniens corticotrope et thyroïdienne et sont donc à l'origine d'actions périphériques sur les métabolismes glucidique et lipidique.

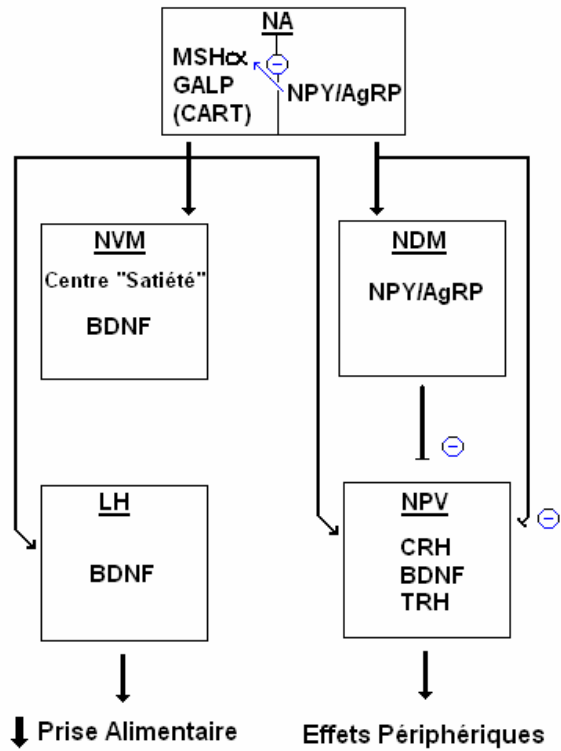
Par contre la stimulation de ces mêmes neurones par d'autres peptides qualifiés d'anorexigènes (POMC, MSH $\alpha$ , CART/GALP (Galanine Like Peptide)) (137,164) également produits dans le NA induit une augmentation de la production de ces messagers hormonaux et donc des effets périphériques contraires. En outre, le CRH est un puissant anorexigène (137), par conséquent sa production conduit à la mise en place d'un circuit anorexigène (Figure 44.B).

La POMC (propiomelanocoine) est un peptide précurseur dont la maturation dans l'encéphale et dans l'hypothalamus conduit à la formation de MSH $\alpha$  (Melanocortine Stimulating Hormone  $\alpha$ ) qui appartient à la famille des mélanocortines et de CART (cocaine and amphetamine related peptide). La MSH $\alpha$  agit par le biais de récepteurs MCR3 et MCR4 sur les neurones du NPV, du NDM et de la zone LH (164). Dans le NPV, la MSH $\alpha$  amplifie considérablement la production de CRH et s'oppose donc aux effets du NPY/AgRP. C'est en exacerbant la production de CRH que la MSH $\alpha$  exerce des effets anorexigènes car le blocage des récepteurs du CRH supprime les effets de MSH $\alpha$  sur la prise alimentaire (137).

En revanche, MSH $\alpha$  stimule la synthèse de BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor) (88) par les neurones de la zone LH responsables également de la production des orexigènes majeurs (MCH et orexines A et B) et par ceux du NPV et du NVM. Or le BDNF, membre de la famille des neurotrophines, est un anorexigène majeur. Dans la zone LH, il existe donc une véritable compétition entre les signaux orexigènes (NPY, AgRP) et anorexigènes (MSH $\alpha$ ) émis par le NA qui aboutit respectivement au déclenchement d'un circuit orexigène (MCH, orexines A et B) ou d'un circuit anorexigène (BDNF). Toutefois, la production de BDNF est essentiellement assurée par le NVM. L'administration centrale ou périphérique de BDNF entraîne une diminution de la prise alimentaire et une augmentation de la dépense énergétique. Son expression dans le NVM est fortement réduite par le jeûne. De plus les souris n'exprimant pas ce facteur sont hyperphagiques et obèses. Le rôle de BDNF sur la régulation de la prise alimentaire semble donc primordial, c'est pourquoi c'est à ce jour un bon candidat permettant d'expliquer le rôle de « centre de la satiété » du VMH.



**Figure 44.A : Mise en place des circuits orexigènes hypothalamiques**



**Figure 44.B : Mise en place des circuits anorexigènes hypothalamiques**

NPV : noyau paraventriculaire ; NDM : noyau dorsomédian ; NVM : noyau ventromédian ; LH : aire latérale de l'hypothalamus, NPY : neuropeptide Y ; AgRP : Agouti-Related peptide ; 26 Rfa : Rfamide peptide 26 ; MCH : Melanin-concentrating-hormone ; TRH : thyrotropine releasing hormone ; CRH : corticotropine releasing hormone ; MSH $\alpha$  : melanocyte stimulating hormone  $\alpha$  ; GALP : galanine like peptide ; BDNF : brain-derived neurotrophic factor ; CART : cocaïne and amphetamine related peptide.



Quant au CART, il a initialement été décrit comme anorexigène mais de récentes études ont montré que la surexpression de CART conduisait à l'augmentation de la prise alimentaire et du poids (137). Son rôle dans la régulation de la prise alimentaire n'est donc pas encore bien compris à ce jour.

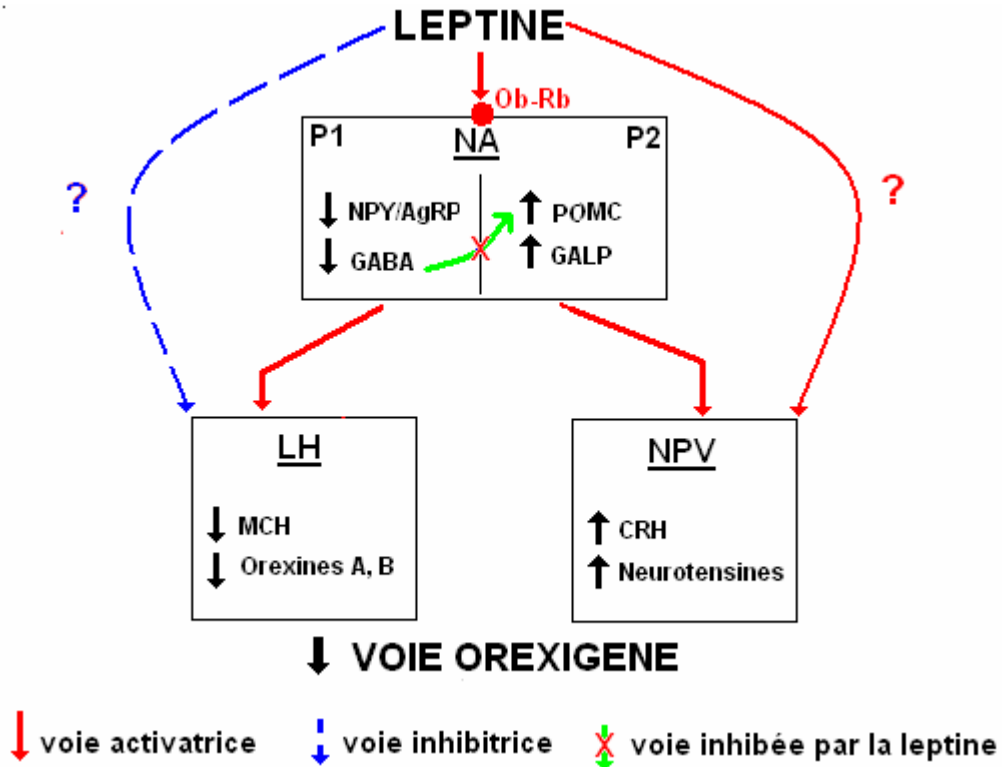
Cette liste n'est pas exhaustive et il est certain que d'autres facteurs hypothalamiques agissant sur la prise alimentaire restent à découvrir, cependant elle donne un aperçu de la complexité de la réponse de l'hypothalamus à un déséquilibre dans la balance énergétique. Le mode d'action de ces messagers sur le SNC et les organes périphériques n'est pas établi. Leur sécrétion aboutit à une modulation de la dépense énergétique et de la prise alimentaire permettant de rétablir l'homéostasie énergétique.

Les productions peptidiques du noyau arqué permettent la mise en place de circuits orexigènes et anorexigènes par coordination de la production des autres noyaux hypothalamiques (Figure 44 A. et B.). Il existe par conséquent une régulation interne orchestrée par le NA entre les deux populations neuronales responsables de la production de NPY/AgRP ou de celle de MSH $\alpha$ . On a montré que les neurones à NPY se projettent vers les neurones à POMC, et ont une action inhibitrice sur ceux-ci par l'intermédiaire de leur activité GABA (40).

### c) Action directe de la leptine sur l'hypothalamus

Les souris déficientes en leptine (ob/ob) et les souris déficientes en récepteur Ob-R (db/db) sont hyperphagiques et obèses. Une administration régulière de leptine aux souris ob/ob est suivie d'une diminution de la prise alimentaire accompagnée d'une réduction du poids, l'injection centrale de leptine étant beaucoup plus efficace que l'injection périphérique.

Le récepteur Ob-Rb est fortement exprimé dans l'hypothalamus, plus particulièrement dans le noyau arqué. Il est exprimé par les neurones à NPY/AgRP et les neurones à POMC qui sont donc des cibles directes de la leptine dans l'hypothalamus. La leptine inhibe les neurones à NPY par hyperpolarisation et stimule les neurones à POMC par dépolarisation (40). Elle réduit également la sécrétion de GABA par les terminaisons axoniques des neurones à NPY et donc lève l'inhibition des neurones à POMC. **De cette manière la leptine stimule le signal anorexigène et inhibe le signal orexigène** (Figure 45).



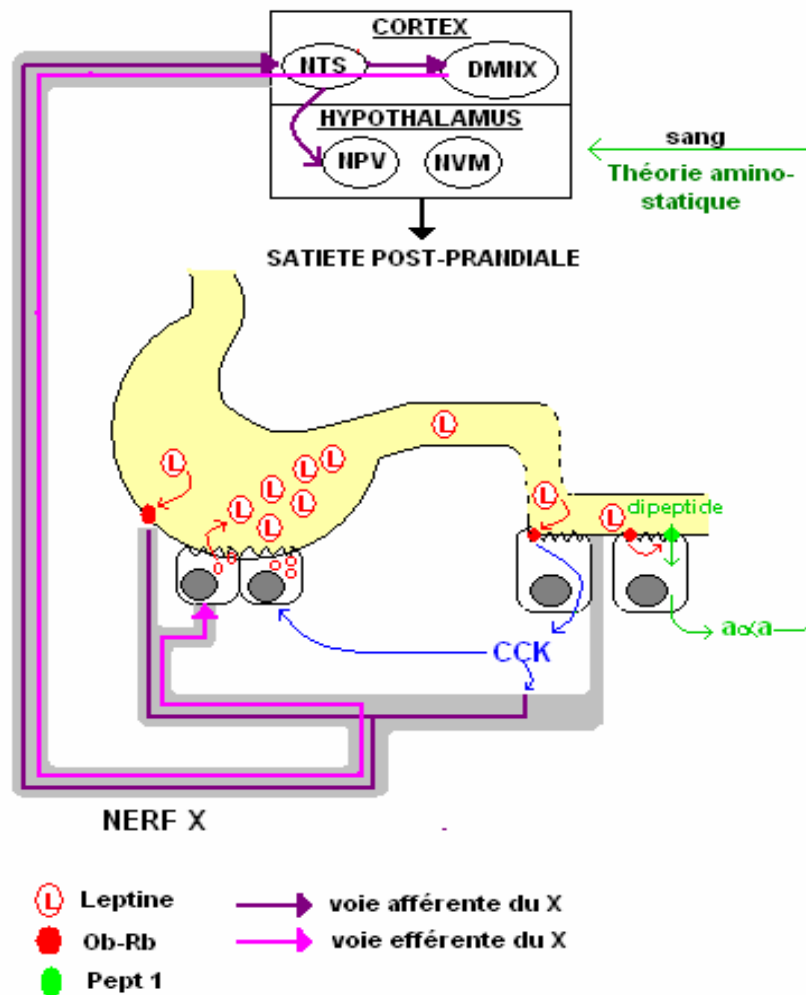
**Figure 45 : Régulation par la leptine des circuits orexigènes et anorexigènes hypothalamiques**

NA : Noyau arqué ; LH : Hypothalamus latéral ; NPV : Noyau para-ventriculaire ; NVM : Noyau ventro-médian ; P1 : population neuronale à NPY/AgRP ; P2 : population neuronale à POMC ; NPY : neuropeptide Y ; AgRP : Agouti-Related peptide ; GABA : ; POMC : Proopiomélanocortine ; CRH : corticotropine releasing hormone, Ob-Rb : récepteur de la leptine

Il a longtemps été admis que ces modifications dépendaient de la voie de signalisation JAK/STAT. Effectivement l'expression de STAT 3 a été mise en évidence dans ces neurones. Cependant de récentes études utilisant des souris exprimant un récepteur muté, incapable d'activer STAT 3, ont montré que la régulation de l'expression de NPY ne dépendait pas de STAT 3 (67). La leptine active donc une autre voie dans ces neurones. L'hypothèse admise à ce jour fait intervenir la voie de signalisation PI3K/PDE3/AMPC. En effet il a été montré que la diminution de la concentration intracellulaire d'AMPC inhibe les neurones à NPY (137) et que l'activation de la voie PI3K active des canaux à  $K^+$  ATP dépendants (51). Cette hypothèse est particulièrement intéressante car elle représente une voie commune d'action pour l'insuline et la leptine dans ces neurones.

La leptine agit aussi sur les autres neurones impliqués dans la régulation de la prise alimentaire. Notamment elle stimule la sécrétion de GALP dans le NA (88), la sécrétion de CRH dans le NPV et la sécrétion des neurotensines (10). Par ailleurs elle inhibe la sécrétion des oréxines et de MCH dans la zone LH (136). Aucun travail n'a été réalisé pour mettre en évidence les récepteurs de la leptine sur les neurones sécrétant ces peptides. Cependant ces peptides semblent être les principaux effecteurs de la leptine. Par exemple le blocage de l'action des neurotensines par l'antagoniste spécifique de leur récepteur réduit l'effet anorexigène de la leptine (10). L'hypothèse la plus probable est que la leptine agit sur la sécrétion de ces peptides indirectement, via les modifications qu'elle induit sur les sécrétions de MSH $\alpha$  et NPY dans le NA. Cependant une action directe est envisageable et reste à explorer.

Le mode d'action de la leptine sur la régulation de la prise alimentaire n'est pas parfaitement établi à ce jour, certainement car les interactions neuronales impliquées dans l'homéostasie énergétique dans l'hypothalamus sont encore mal comprises. Il est par contre certain que la leptine agit directement sur les neurones à NPY et à POMC dans le NA. On peut supposer que c'est en jouant sur la sécrétion de ces deux médiateurs que la leptine régule négativement la prise alimentaire et contrôle indirectement la balance énergétique au niveau central.



**Figure 46** : actions périphériques de la leptine stomacale dans la genèse de la satiété (d'après 23)

NTS : noyau du tractus solitaire ; DMHX : noyau moteur dorsal du nerf X ; NPV : noyau paraventriculaire ; NVM : noyau dorso-médian ; CCK : cholécystokinine ; ααα : acides α aminés

## **2. Rôles de la sécrétion stomacale de leptine : genèse du phénomène de satiété**

### **a) Rôle dans l'absorption des nutriments**

La leptine sécrétée par l'estomac arrive dans l'intestin sous forme active, où elle circule sous forme libre et sous forme liée à des macromolécules (23,25). Par ailleurs le récepteur Ob-Rb a été mis en évidence sur la bordure en brosse des entérocytes. Comme l'intestin est le site principal de l'absorption des nutriments, qui met en jeu des procédés de transport passifs, facilités ou actifs, selon leur nature, la leptine sécrétée par l'estomac joue un rôle direct sur l'absorption des nutriments dans l'intestin.

Elle favorise l'absorption des dipeptides et des tripeptides dans le jéjunum via l'augmentation du nombre de transporteurs Pept 1 à la surface des entérocytes (25 - Figure 46). Pept 1 transporte spécifiquement les dipeptides de la lumière de l'intestin vers le cytoplasme des entérocytes où ils peuvent être dégradés en acides  $\alpha$  aminés grâce à une dipeptidase. Cette action à court terme de la leptine résulte essentiellement de la mobilisation du stock intracellulaire de Pept 1 vers la membrane plasmique des entérocytes.

La leptine favorise également l'absorption du butyrate dans le côlon (23,25). Les sucres complexes contenus dans les fibres sont dégradés par fermentation en acides gras à courte chaîne, notamment en butyrate. Le butyrate est la source principale d'énergie pour les colonocytes. Le transport actif du butyrate est assuré par le transporteur de monocarboxylates de type 1 (MCT-1). La leptine favorise l'absorption du butyrate par augmentation du stock intracellulaire des transporteurs et par mobilisation de ceux-ci vers la membrane plasmique.

En permettant l'assimilation intestinale des dipeptides et leur dégradation en acides  $\alpha$  aminés, la leptine participe directement à l'établissement du signal de satiété. En effet, les variations des concentrations en acides  $\alpha$  aminés dans le plasma et secondairement dans le liquide céphalo-rachidien stimulent directement l'activité du NVM, centre de la satiété (théorie amino-peptidique) (25) (Figure 46).

## **b) Contrôle des signaux sensitifs afférents (nerf vague, X)**

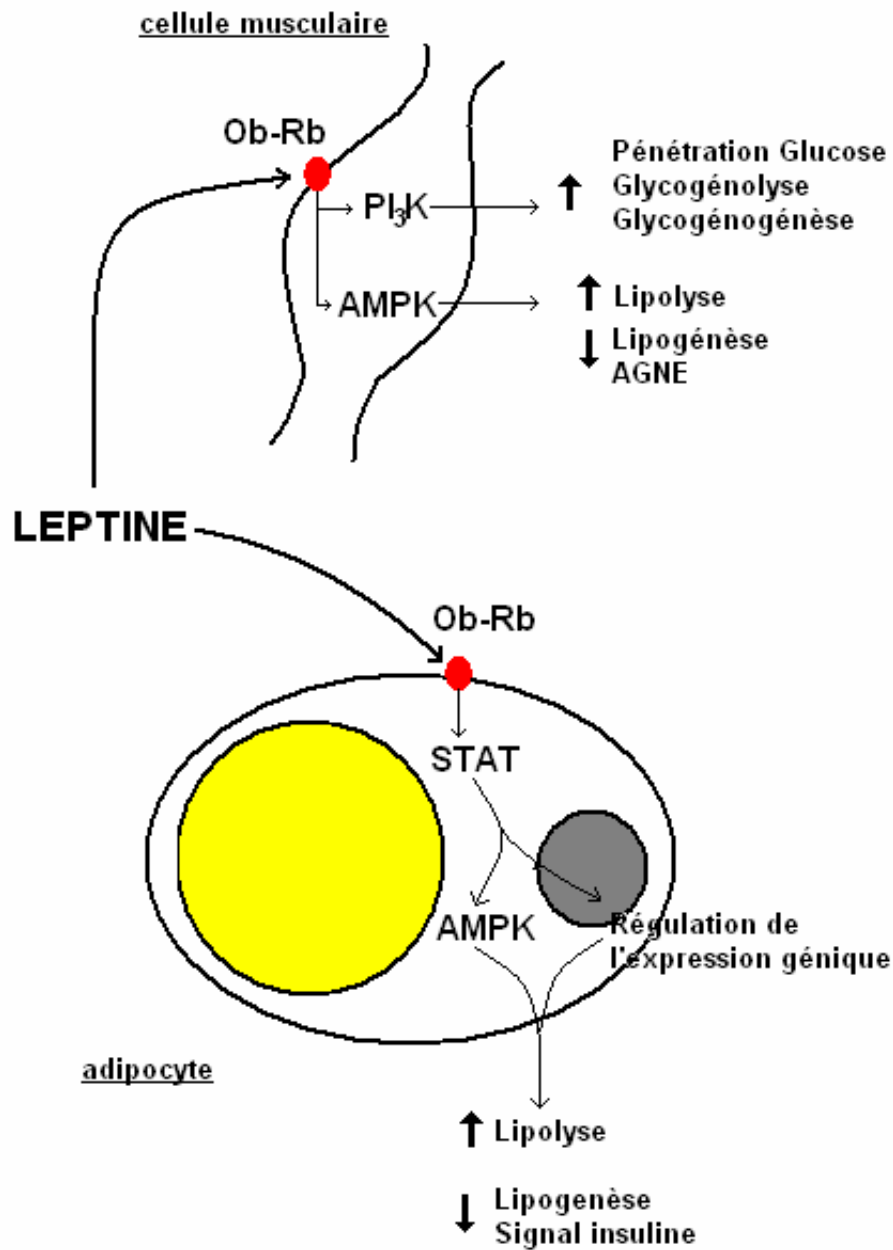
Des récepteurs Ob-Rb sont exprimés par les neurones viscéro-sensitifs afférents du nerf vague (X) dans le ganglion plexiforme (122), qui assurent la conduction des signaux issus de la partie proximale du tractus digestif jusqu'au noyau du tractus solitaire puis jusqu'au noyau paraventriculaire (NPV) de l'hypothalamus. Le signal est également transmis au noyau moteur dorsal du nerf X qui assure le contrôle parasympathique du tube digestif, ce qui constitue le réflexe vago-vagal (23 – Figure 46). La plupart des neurones afférents possédant Ob-Rb expriment également le récepteur de la cholécystokinine (CCK). La CCK est une hormone sécrétée par les cellules I de l'intestin en réponse à une augmentation des concentrations en acides gras et en peptides dans le chyme, et qui intervient dans la genèse du phénomène de satiété en stimulant les fibres sensibles du X. La coexpression des récepteurs de la CCK et des Ob-Rb suggère l'existence d'une interaction entre ces deux hormones. Il a été montré *in vitro* que la CCK activait les neurones afférents en stimulant l'ouverture de canaux  $\text{Na}^+$  (dépolérisation) et que la leptine agissait sur les mêmes neurones en fermant les canaux potassiques ce qui prévenait la formation d'une onde d'hyperpolarisation (122). Il y a donc installation d'une synergie entre ces deux hormones conduisant à une dépolérisation des neurones sensitifs et donc à une stimulation conséquente du nerf vague. Néanmoins, on ignore encore si les actions de la leptine et de la CCK sont réduites au contrôle d'un type de canal ionique ou peuvent s'exercer sur les deux types de canaux.

D'autre part, la leptine sécrétée dans la lumière digestive amplifie la sécrétion de CCK (60), par les cellules intestinales, qui à son tour favorise l'exocytose de la leptine par dégranulation des vésicules de sécrétion. Ces deux hormones agissent donc aussi précocement dans le tractus digestif de façon synergique pour générer un signal de satiété.

### 3. Action périphérique : régulation des métabolismes glucidique et lipidique

Les principaux tissus périphériques cibles de la leptine sont le tissu musculaire caractérisé d'un point de vue biochimique par une orientation des métabolismes glucidique et lipidique vers la production d'énergie, et le tissu adipeux caractérisé par une orientation du métabolisme vers la constitution de réserves potentiellement énergétiques (29).

Dans le tissu musculaire, la reconnaissance de la leptine par son récepteur Ob-Rb conduit à une activation cytosolique commune avec l'insuline médiée par la voie PI<sub>3</sub>K ainsi qu'à une activation de l'AMPK (cf. *supra* – Figure 47). La stimulation de la voie PI<sub>3</sub>K entraîne l'activation des enzymes impliquées dans la glycolyse (PFK<sub>2</sub>) et la glycogénogénèse (Glycogène Synthase) ainsi que la translocation membranaire du transporteur spécifique du glucose, GluT4. En outre, cette voie métabolique permet l'amplification de la traduction protidique par induction des facteurs eIF<sub>2B</sub> et eIF<sub>4E</sub> (cf. *supra*). L'activation de l'AMPK participe également à la translocation de GluT4 mais se traduit principalement par une forte régulation du métabolisme lipidique. Cette enzyme inhibe l'AcétylCoA carboxylase qui intervient dans les premières étapes de la lipogénèse et active la Carnitine-Palmitoyl-Transférase I (CPT1) qui assure la formation transitoire des esters de d'acyl de carnitine dans la membrane mitochondriale et donc la pénétration des acides gras à longue chaîne (palmitate) dans le compartiment mitochondrial. Globalement, la lipogénèse est inhibée au profit de la  $\beta$ -oxydation mitochondriale, ce qui limite l'accumulation des AGNE (Acides Gras Non Estérifiés) dans le cytoplasme et donc l'installation des mécanismes d'insulinorésistance. En effet, les AGNE en excès induisent l'augmentation des rapports AcylCoA/CoA-SH et NADH,H<sup>+</sup>/NAD<sup>+</sup>. Dans ces conditions (excès d'acyles ou de NADH,H<sup>+</sup>), la pyruvate déshydrogénase et la citrate synthase sont inhibées ce qui diminue respectivement la formation d'acétylCoA et son utilisation dans le cycle de Krebs. En conséquence, l'oxaloacétate s'accumule et en parallèle les enzymes de la néoglucogénèse sont activées, celles de la glycolyse inhibées. La formation d'esters phosphoriques du glucose se retrouve privilégiée et leur accumulation bloque l'entrée du glucose exogène dans la cellule musculaire par application de la loi d'action de masse. En plus de ces régulations allostériques de la néoglucogénèse et de la glycolyse, il a été récemment démontré que les AGNE bloquaient



**Figure 47 :** Effets de la leptine sur la régulation périphérique de l'homéostasie énergétique : actions sur les tissus musculaires et adipeux  
 AGNE : acide gras non estérifié



directement la translocation de GluT4 et favorisaient l'activation de la PKC et la phosphorylation consécutive des résidus Ser/Thr des IRS ce qui empêchait l'établissement des interactions IRS/ PI<sub>3</sub>K indispensables à l'activation de cette enzyme. Ainsi, l'accumulation d'AGNE génère un état d'insulinorésistance en favorisant l'accumulation cellulaire des esters phosphoriques du glucose, en inhibant la pénétration du glucose exogène et en limitant son utilisation périphérique (glycolyse, glycogénèse).

Dans le tissu adipeux, la leptine induit l'expression des protéines de la thermogénèse (UCP1 et 2), et des enzymes lipolytiques (lipoprotéine lipase, lipase hormonodépendante) et réprime celle des enzymes de la lipogénèse (acétylCoA carboxylase, acylsynthase) grâce à l'action des STAT. De plus, l'expression du coactivateur 1 du PPAR $\gamma$ , amplifiée par cette hormone, provoque une intensification de la biogénèse des mitochondries et l'activation de l'AMPK. Ainsi, comme dans le tissu musculaire, à l'issue de l'activation des STAT puis de la voie AMPK, la leptine amplifie l'oxydation des acides gras et réprime la lipogénèse (Figure 47).

En revanche, dans le tissu adipeux, elle interfère avec le signal insulinique en diminuant la liaison de l'insuline à son récepteur ce qui aboutit à une limitation de l'utilisation périphérique du glucose (capture du glucose, glycosylation des lipides) dans l'adipocyte et une possible accumulation de l'hexose dans la cellule.

La leptine agit également au niveau du foie dans lequel elle s'oppose à l'accumulation des graisses, principalement en inhibant la transcription de l'enzyme steroyl CoA desaturase 1 (SCD 1), qui catalyse la biosynthèse des acides gras mono-insaturés (36).

La leptine participe à la régulation périphérique de l'homéostasie énergétique en favorisant les voies oxydatives du métabolisme énergétique dans les muscles et les adipocytes. De plus, elle réduirait partiellement les risques d'insulinorésistance en s'opposant à l'accumulation cytosolique des AGNE.

De nombreux faits semblent indiquer en plus l'existence d'un effet inhibiteur direct de la leptine sur la sécrétion d'insuline (145,172). Les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans expriment le récepteur Ob-Rb et il a été démontré que la leptine a un effet inhibiteur sur l'expression du gène de la proinsuline par l'intermédiaire de l'induction des protéines SOCS3 (cf. *supra*). La transcription du gène de la sous-unité catalytique Ppp1ca de l'enzyme PP-1

(Protéine Phosphatase 1) est également inhibée par action des protéines STAT, ce qui se traduit par une diminution de l'activité de l'enzyme dont résulte une diminution de la concentration de  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulaire et donc une diminution de la sécrétion d'insuline (145). Cependant les expériences ayant permis de mettre en évidence ces effets de la leptine utilisent des concentrations de leptine 10 fois supérieures aux concentrations physiologiques et les résultats obtenus *in vitro*, à concentration physiologique sont inconsistants, si bien que ces données sont controversées par certains auteurs (104). Néanmoins une étude récente a permis de montrer qu'une augmentation physiologique de la leptinémie chez le rat *in vivo* réduit significativement l'insulinémie (24,172)

La leptine semble exercer un contrôle physiologique sur la sécrétion d'insuline à long terme sans interférer avec les signaux régulateurs à court terme comme le glucose (145). Elle pourrait constituer un signal du tissu adipeux au pancréas permettant d'adapter la sécrétion d'insuline aux besoins déterminés par les réserves lipidiques. Par ailleurs l'insuline exerce un contrôle positif sur la sécrétion de leptine (cf. *supra*). Il semble donc exister un véritable axe de régulation entre le tissu adipeux et le pancréas, appelé « axe adipo-insulaire ». Néanmoins même s'il est certain que la leptine a un effet direct sur la sécrétion d'insuline, l'importance de cet effet dans les conditions physiologique reste difficile à déterminer.

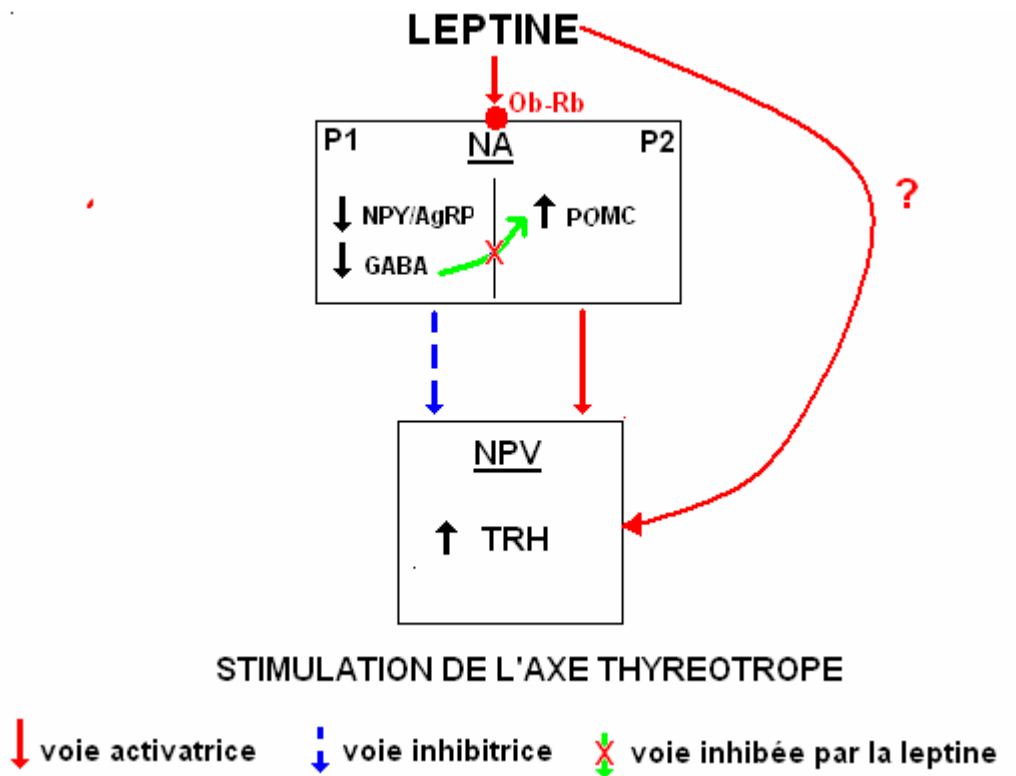
#### **4. Régulation centrale de la dépense énergétique et adaptation au jeûne**

Les souris déficientes en leptine présentent une diminution du métabolisme de base et des anomalies dans différents axes neuroendocrines (thyroïdienne, gonadotrope, somatotrope, corticotrope), orientant le métabolisme vers l'économie d'énergie (20,32). L'administration de leptine exogène à ces animaux se traduit par une stimulation du système nerveux sympathique et une normalisation de ces axes neuroendocrines entraînant une augmentation rapide de la dépense énergétique.

La leptinémie permet d'adapter la dépense métabolique globale à la disponibilité énergétique, c'est-à-dire à la quantité d'énergie apportée par l'alimentation et à l'état des réserves énergétiques. L'hypoleptinémie se traduit par une diminution du métabolisme, permettant à l'organisme de faire face à une situation de jeûne, et l'hyperleptinémie se traduit par une augmentation du métabolisme, permettant d'utiliser l'énergie excédentaire et de limiter l'accumulation des réserves. L'euleptinémie, qui traduit un équilibre entre les apports et les besoins de l'organisme et un état physiologique des réserves adipeuses, constitue un signal permissif pour une fonction coûteuse en énergie : la fonction de reproduction.

##### **a) Rôle dans la régulation de l'activité du système nerveux sympathique**

L'administration de leptine exogène provoque une augmentation de l'activité du système nerveux sympathique dans les reins, les glandes surrénales et le tissu adipeux brun (chez les rongeurs), et se traduit par une augmentation des concentrations plasmatiques et urinaires d'adrénaline et de noradrénaline. L'augmentation du tonus sympathique est une conséquence de l'action centrale de la leptine et la voie impliquée semble dépendre du tissu cible : système des mélanocortines pour les reins et les glandes surrénales et CRH pour le tissu adipeux brun (162). Elle se traduit par une augmentation du métabolisme de base et de l'activité thermogénique du tissu brun (chez les rongeurs).



**Figure 48** : Régulation par la leptine de l'axe thyroïdienne.

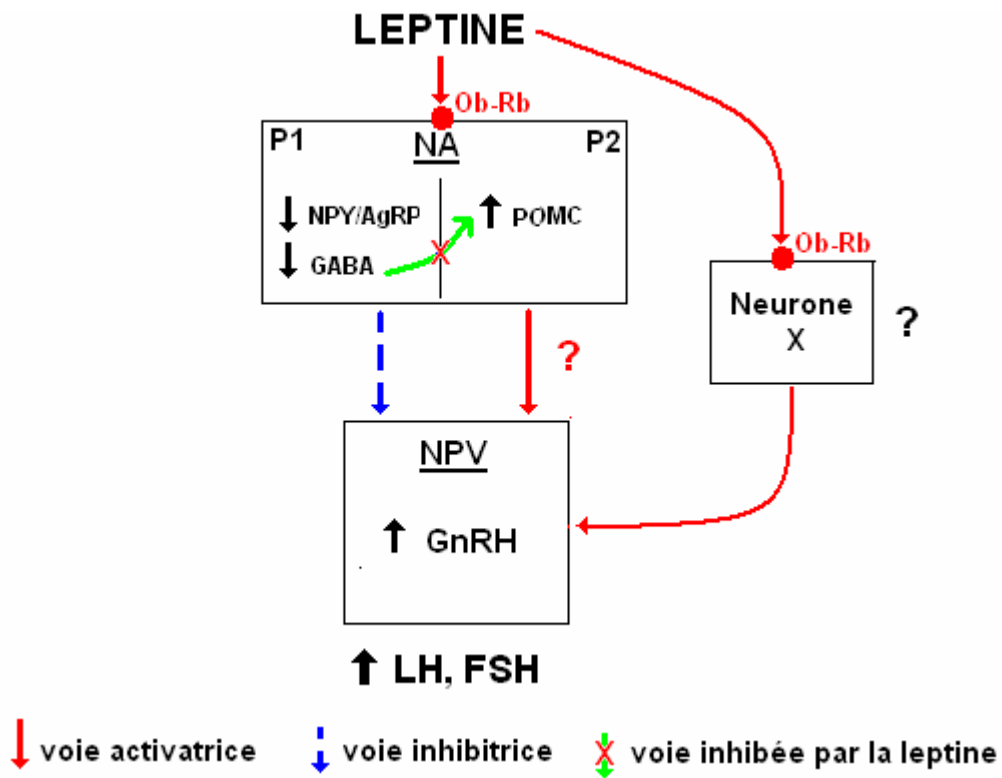
NA : Noyau arcué ; LH : Hypothalamus latéral ; NPV : Noyau para-ventriculaire ; P1 : population neuronale à NPY/AgRP ; P2 : population neuronale à POMC ; NPY : neuropeptide Y ; AgRP : Agouti-Related peptide ; GABA : ; POMC : Proopiomélanocortine ; TRH : thyrotropin releasing hormone.

## **b) Action sur l'axe thyroïdienne**

Le rôle essentiel des hormones thyroïdiennes est de favoriser la calorigénèse en augmentant la consommation d'oxygène et la synthèse d'ATP dans de nombreux organes. Du point de vue métabolique ces hormones favorisent l'utilisation de l'énergie. Elles stimulent la glycogénolyse et la glycolyse dans le muscle et favorisent la néoglucogénogénèse dans le foie. Elles stimulent la lipolyse et la distribution du cholestérol. En parallèle elles augmentent aussi la synthèse du cholestérol et la synthèse protéique (19). La sécrétion basale d'hormones thyroïdiennes varie peu dans les conditions physiologiques, contrairement aux sécrétions d'insuline et de cortisol qui varient rapidement en réponse à la prise alimentaire et au stress. Cependant en situation de restriction énergétique ou de maladie, la sécrétion d'hormones thyroïdiennes est inhibée de manière à diminuer l'utilisation d'énergie (« syndrome de la T<sub>3</sub> basse ») (126).

La diminution de la synthèse et de la sécrétion de TRH (thyrotropin releasing hormone) en période de jeûne est une conséquence de l'effondrement de la leptinémie qui est associé. L'axe thyroïdienne est soumis au contrôle central du système des mélanocortines qui lui-même est régulé par la leptinémie. AgRP exerce un rôle inhibiteur sur les neurones à TRH dans le NPV et NPY inhibe la transcription du précurseur de TRH alors que MSH $\alpha$  a un effet stimulateur sur ces mêmes neurones. On ne sait pas encore aujourd'hui si l'activation de l'axe thyroïdienne par la leptine est directe, via les récepteurs Ob-Rb présents dans la membrane des neurones sécrétant TRH dans le NPV, ou indirecte, via la modulation de la sécrétion des mélanocortines et de NPY (Figure 48).

Récemment il a été montré que la leptine régule l'expression des prohormones convertases (PC1 et PC2) dans les neurones à TRH. Ces enzymes sont essentielles à la maturation du précurseur de TRH. Ainsi quand la leptinémie est basse la maturation du précurseur est réduite et donc la synthèse de TRH diminue. Malgré cette découverte le mode d'action direct de la leptine sur les neurones à TRH reste à éclaircir et les données actuelles permettent uniquement de formuler des hypothèses (126).



**Figure 49** : Régulation par la leptine de l'axe gonadotrope.

NA : Noyau arqué ; LH : Hypothalamus latéral ; NPV : Noyau para-ventriculaire ; P1 : population neuronale à NPY/AgRP ; P2 : population neuronale à POMC ; NPY : neuropeptide Y ; AgRP : Agouti-Related peptide ; GABA ; POMC : Proopiomélanocortine ; GnRH : gonadotropin releasing hormone, LH : Hormone lutéinisante ; FSH : Hormone Folicullo Stimulante

### c) Action sur l'axe gonadotrope et la fonction de reproduction

La reproduction est une fonction très coûteuse en énergie (recherche du partenaire, croissance du fœtus...) qui nécessite des réserves énergétiques suffisantes pour être menée à terme. Le jeûne prolongé est associé à une diminution de la synthèse des hormones sexuelles, à un retard de la puberté et à une infertilité (32). Les souris déficientes en leptine (souris ob/ob) sont stériles et impubères (20) et l'administration de leptine exogène à ces animaux stimule la sécrétion de LH et de FSH, enclenche la maturation sexuelle et rétablit une fonction de reproduction normale. Les mêmes observations ont été réalisées chez les humains déficients en leptine (97). La leptine joue donc un rôle permissif pour la fonction de reproduction (32), cependant son rôle dans la régulation de la fonction de reproduction est encore mal compris. Elle pourrait agir directement sur l'hypothalamus en modifiant la synthèse de GnRH, ou indirectement en modifiant la synthèse des neuropeptides dans le système nerveux central. Il a été montré que les neurones à GnRH n'expriment pas le récepteur de la leptine, mais qu'ils expriment le récepteur YR1 du NPY. La régulation se fait donc de manière indirecte (52). Des expériences sur des souris déficientes en récepteur YR1 (souris Y1<sup>-/-</sup>) ont montré que ces souris devenaient pubère même en présence d'un déficit énergétique sévère, contrairement aux souris normales. Il semble donc que NPY soit responsable de l'inhibition de la synthèse de GnRH en période de déficit énergétique. Par contre l'administration de leptine exogène à ces mêmes souris accélère la maturité sexuelle. La leptine a donc aussi un effet stimulant sur la synthèse de GnRH qui ne peut pas être attribué à NPY. Etant donné que le récepteur Ob n'a pas été identifié sur les neurones à GnRH l'hypothèse formulée ferait intervenir un autre neurone sensible à la leptine, en amont des neurones à GnRH qui sécréterait un neuropeptide amplificateur pour les neurones à GnRH. Pour le moment ce neurone n'a pas été identifié, mais on peut imaginer, par analogie avec la régulation de l'axe thyroïdien, une implication des neurones à POMC et de MSH $\alpha$  (Figure 49).

Ob-Rb est également exprimé au niveau de l'ovaire chez l'homme et chez la souris. Néanmoins l'effet direct de la leptine sur la fonction ovarienne est encore controversé, certaines études faisant état d'un effet stimulant sur la sécrétion des stéroïdes sexuels et la folliculogénèse, et d'autres études décrivant un effet contraire (30).

#### **d) Action sur l'axe somatotrope**

L'hormone de croissance (GH) est sécrétée par l'hypophyse en réponse à la sécrétion hypothalamique de GH Release Hormone (GHRH) et de somatostatine (SST ou SRIF). Elle stimule la croissance des os et du cartilage par l'intermédiaire de la sécrétion d'insuline-like growth factor-1 (IGF-1) par le foie, elle augmente la synthèse des protéines et elle favorise l'utilisation des réserves adipeuses au dépend de l'utilisation du glucose. La régulation de la sécrétion de GH n'est pas encore bien comprise à ce jour, mais il semble exister des variations interspécifiques. Chez l'homme, le chien, le chat et la plupart des mammifères, le principal facteur de régulation est l'état nutritionnel des tissus, plus particulièrement l'état des réserves protéiques, et la sécrétion de GH augmente fortement en situation de jeûne et de déficit protéique et diminue chez les individus obèses. Chez ces animaux le jeûne induit un état de résistance à la GH qui se traduit par une inhibition de la stimulation de la sécrétion d'IGF-1 et une diminution de la concentration plasmatique de cette hormone. Ceci permet de diminuer la dépense énergétique associée à la croissance pendant les périodes de déficit énergétique, tout en profitant de l'effet promoteur sur la mobilisation des graisses de la GH. Par opposition, chez le rat le jeûne est associé à une diminution de la sécrétion de GH et d'IGF-1 (31,66,92,165).

Les souris ob/ob présentent une concentration d'hormone de croissance (GH) circulante inférieure à la normale (20) et une diminution de l'expression des récepteurs de GH dans l'hypophyse, associées à des sécrétions de GH Release Hormone (GHRH) et de somatostatine normales. L'administration de leptine exogène à ces souris augmente l'expression de l'ARNm de GH et du récepteur de GHRH (GHRH-R) dans l'hypophyse mais n'augmente pas de manière significative la concentration de GH circulante (101). La leptine potentialise donc l'action du GHRH chez la souris.

Chez le rat à jeun la diminution de la sécrétion de GH est corrigée par l'administration de leptine à dose physiologique (92,165). Dans ce cas, l'administration de leptine est associée à une augmentation de la sécrétion de GHRH, une diminution de celle de SST (165) et n'a aucun effet sur la sécrétion d'IGF-1 (92). Par contre chez l'homme à jeun l'administration de leptine n'a aucun effet, ni sur la sécrétion de GH, ni sur la sécrétion de IGF-1 (31).

Le rôle de la leptine sur la régulation de l'axe somatotrope n'est pas encore bien défini à ce jour. Chez les rongeurs (particulièrement le rat) elle semble participer directement à la régulation de la sécrétion de la GHRH et de la SST au niveau de l'hypothalamus et pourrait être un médiateur de l'inhibition de la sécrétion pendant le jeûne. Par contre chez l'homme il



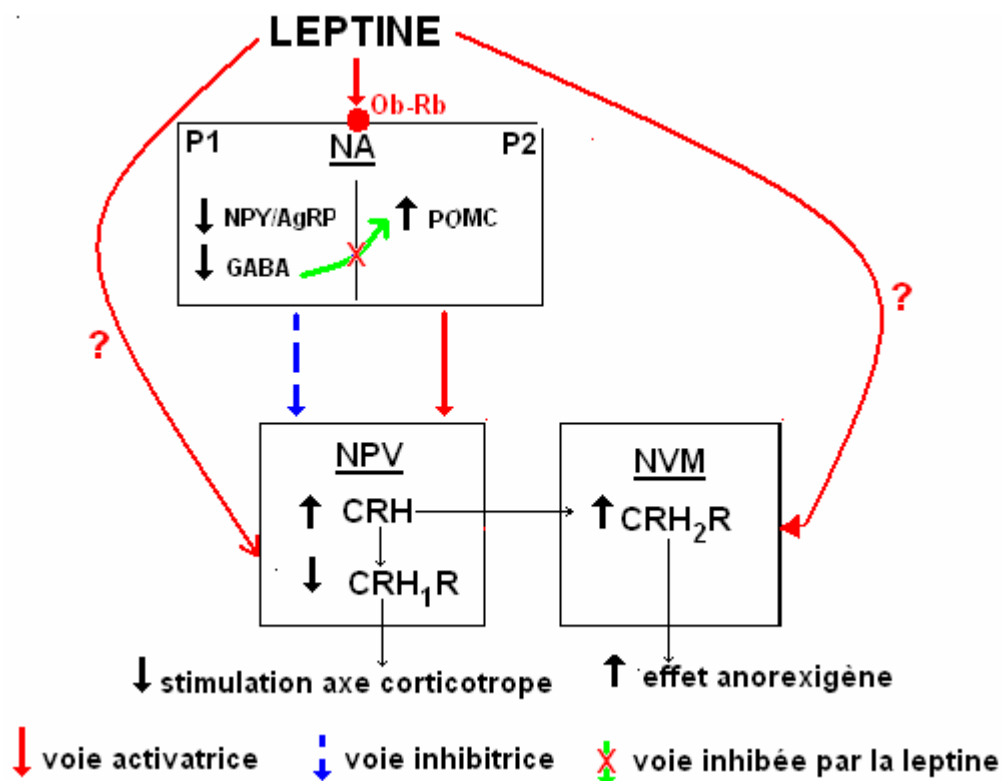
apparaît que les changements dans l'axe somatotrope associés au jeûne sont totalement indépendants de l'action de la leptine. De même chez les souris ob/ob l'administration exogène ne parvient pas à rétablir une concentration physiologique de GH, et on peut donc imaginer que la concentration circulante anormalement basse de cette hormone chez ces animaux n'est pas une conséquence directe de l'absence de leptine mais plutôt une conséquence de l'obésité et de l'hyperglycémie qui y sont associées.

#### **e) Action sur l'axe corticotrope**

Les souris ob/ob ont une concentration de corticostérone circulante élevée malgré une fonction surrénalienne normale (test de stimulation à l'ACTH normal). L'administration prolongée de leptine à ces souris provoque une normalisation de la corticostérone plasmatique ce qui suggère un rôle inhibiteur de la leptine sur l'axe corticotrope (62,66). Il a également été montré que chez la souris le jeûne est associé à une augmentation de la sécrétion d'ACTH et de corticostérone, supprimées par l'administration de leptine exogène (31). L'administration prolongée de leptine supprime également l'augmentation de corticostérone plasmatique consécutive à un stress aigu chez la souris (66,74). Par opposition chez l'homme la déficience en leptine n'est pas associée à une augmentation du cortisol et la légère augmentation du cortisol associée au jeûne n'est pas corrigée par l'administration de leptine (31,97). La leptine semble donc jouer un rôle dans la régulation de l'axe corticotrope chez la souris mais pas chez l'homme.

En situation de jeûne aigu l'augmentation du cortisol plasmatique permet de favoriser l'utilisation des graisses et des protéines au détriment du glucose, permettant ainsi à l'organisme de faire face à une situation de pénurie en glucose. L'augmentation de la néoglucogenèse associée permet de reconstituer les réserves glucidiques, notamment en glycogène pour permettre à l'organisme de répondre à une éventuelle stimulation adrénergique aigue.

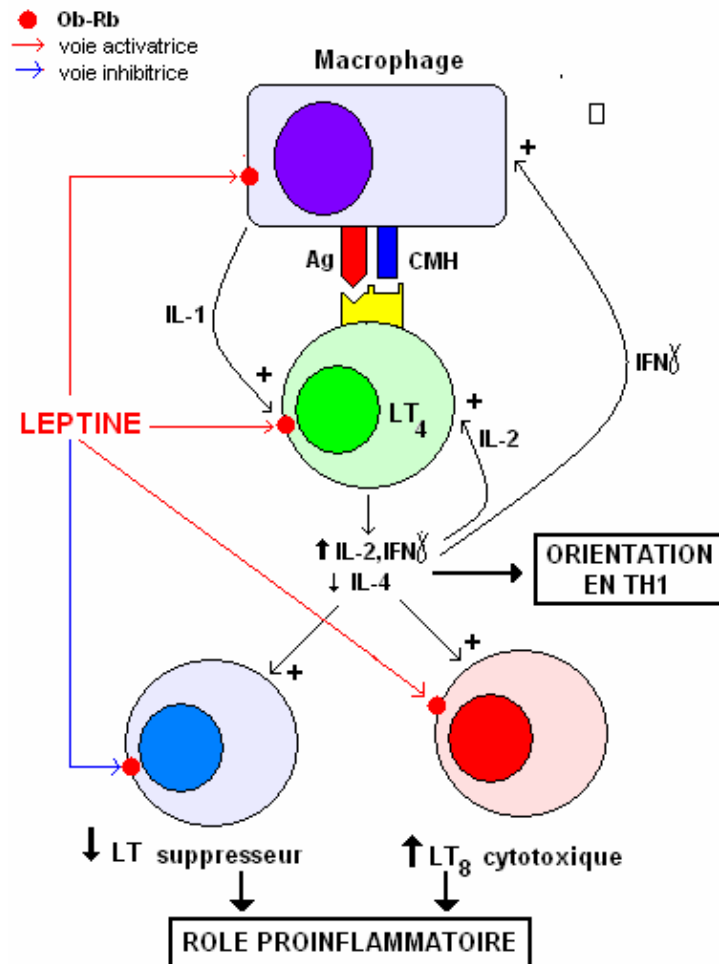
Les neurones à CRH font partie des cibles de la leptine dans le noyau para ventriculaire de l'hypothalamus. Plus exactement, la libération de CRH est stimulée par MSH $\alpha$  qui est lui-même libéré en réponse à une augmentation de la leptinémie (cf. *supra*). On s'attendrait donc à un effet stimulateur de la leptine sur l'axe corticotrope. L'effet contraire observé semble être expliqué par la modification de l'expression des récepteurs à CRH (74).



**Figure 50 : Rôle hypothétique de la leptine dans la régulation de l'axe corticotrope**

NA : Noyau arqué ; LH : Hypothalamus latéral ; NPV : Noyau para-ventriculaire ; NVM : Noyau ventro-médian ; P1 : population neuronale à NPY/AgRP ; P2 : population neuronale à POMC ; NPY : neuropeptide Y ; AgRP : Agouti-Related peptide ; GABA ; POMC : Proopiomélanocortine ; CRH : Corticotropine releasing hormone ; CRH<sub>1</sub>R et CRH<sub>2</sub>R : Récepteur de CRH type 1 et 2.

Il existe deux types de récepteurs à CRH : le récepteur de type 1 (CRH<sub>1</sub>R), exprimé largement dans le cerveau et l'hypophyse et dans l'hypothalamus (NPV et noyau supraoptique) suite à un stress, est responsable de l'effet corticotrope de CRH ; le récepteur de type 2 (CRH<sub>2</sub>R) exprimé dans le noyau ventro-médian de l'hypothalamus, est responsable de l'effet anorexigène du CRH. L'administration de leptine supprime l'augmentation de l'expression de CRH<sub>1</sub>R dans le noyau paraventriculaire et le noyau supraoptique ainsi que la décharge de CRH consécutive à un stress aigu mais n'a aucun effet sur ces paramètres en absence de stress. Par contre elle provoque une augmentation de l'expression de CRH<sub>2</sub>R dans le noyau ventro-médian, aussi bien dans les conditions basales que suite à un stress (74). Il semble donc que l'effet anorexigène du CRH soit stimulé par la leptine par l'intermédiaire de l'augmentation des récepteurs de type 2 alors que la stimulation de l'axe corticotrope consécutive à un stress est diminuée par inhibition de l'expression des récepteurs de type 1 (Figure 50). Ce modèle n'explique cependant pas les effets inhibiteurs de la leptine sur l'axe corticotrope observés en l'absence de stress chez les souris ob/ob et d'autres études sont encore nécessaires pour comprendre l'implication exacte de cette hormone dans la régulation de cet axe.



**Figure 51** : Rôle de la leptine dans la régulation de la réponse immunitaire et de la réponse inflammatoire

Ag : antigène ; CMH : complexe majeur d'histocompatibilité ; LT 4 : lymphocyte T CD4+ (auxiliaire) ; IL-1, IL-2, IL-4 : Interleukine 1, 2, 4 ; IFN  $\gamma$  : Interféron  $\gamma$  , Ob-Rb : récepteur de la leptine (forme longue) .

## **B. Actions périphériques de la leptine**

### **1. Rôles dans les réponses inflammatoire et immunitaire**

Les souris ob/ob souffrent d'une atrophie du thymus et d'un état d'immunosuppression qui est corrigé par l'administration de leptine exogène (117), si bien que l'implication de la leptine dans la réponse immunitaire a été envisagée précocement.

La dépense d'énergie associée au fonctionnement du système immunitaire est importante si bien que cette fonction est réduite en période de déficit alimentaire. Par contre en période d'abondance le système immunitaire doit être performant car avec l'augmentation de l'activité et la reproduction l'animal est plus exposé aux antigènes environnementaux. Cependant le lien direct entre la leptinémie et la réponse immunitaire est difficile à établir car l'hypoleptinémie est associée à une hypercorticostéronémie, une hypothyroïdie, une hyperglycémie et un état d'insulinorésistance, qui sont eux-mêmes à l'origine d'une immunosuppression (12).

La leptine participe à la réponse inflammatoire en stimulant directement la phagocytose, la prolifération et l'activation des monocytes, ainsi que la production de cytokines proinflammatoires et d'oxyde nitrique (NO) par ces cellules (12,108,117). Elle stimule également la production d'oxydes réactifs et le recrutement par chémoattractivité des granulocytes et régule la prolifération, la différenciation, l'activation et la cytotoxicité des lymphocytes T<sub>NK</sub> (108). Ainsi les souris déficientes en leptine, ainsi que les souris mises au jeûne, sont plus sensibles à l'injection IV d'endotoxine bactérienne (LPS) que les souris normales et cette plus grande sensibilité est corrigée par l'administration de leptine exogène (12).

La leptine participe également à la réponse immunitaire spécifique, plus particulièrement à la réponse à médiation cellulaire. Elle stimule la lymphopoïèse et participe à la maturation des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup> dans le thymus (12). Elle stimule également la prolifération des thymocytes et les protège de l'apoptose induite par les glucocorticoïdes (117). Elle joue aussi un rôle dans l'activation et la prolifération des lymphocytes T matures (CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup>) bien qu'elle ne soit pas capable d'induire seule cette activation (108). De plus en présence d'une inflammation il a été montré que les lymphocytes

T sont capables de sécréter la leptine, ce qui constitue une boucle d'amplification autocrine (139). D'un point de vue fonctionnel, le type de cytokines produites est modifié et orienté vers une réponse Th1 (augmentation de la sécrétion de IFN $\gamma$  et IL-2, diminution de la synthèse de IL-4) (12,108,117). Dans le cadre de la réponse immunitaire spécifique la leptine semble donc agir comme une cytokine proinflammatoire, orientant vers une réponse Th1 (Figure 51).

L'hypothèse de ce rôle de cytokine proinflammatoire est soutenue par le fait que la leptinémie augmente suite à une stimulation antigénique aiguë (12,117,139) et que cette augmentation est dépendante de la présence de TNF $\alpha$  et IL-1 qui sont les principaux médiateurs produits par les macrophages durant la phase précoce de l'inflammation (117). Cependant tous les états inflammatoires ne s'accompagnent pas d'une augmentation de la leptinémie, et notamment la leptinémie est inversement corrélée au degré d'inflammation dans certains cas d'inflammation chronique comme l'a montré une étude chez des patients atteints d'arthrite rhumatoïde (12,117).

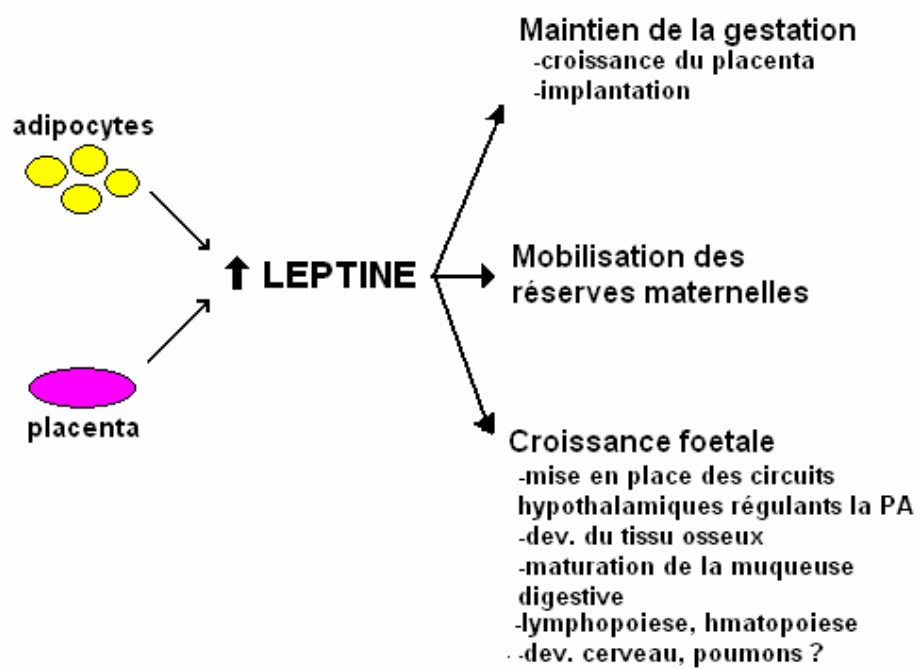
Plus récemment, il a été montré que les souris ob/ob sont résistantes à l'apparition des maladies inflammatoires à médiation auto-immune, notamment les modèles expérimentaux de colite, encéphalomyélite, hépatite et glomérulonéphrite (12,117). L'administration de leptine à ces animaux augmente la susceptibilité et s'accompagne d'un changement du type de cytokines sécrétées de Th2 vers Th1 (12). Dans les modèles expérimentaux d'encéphalomyélite le début de la maladie s'accompagne d'une augmentation significative de la leptinémie (117,139) et la leptine est alors exprimée par les macrophages et les lymphocytes T infiltrés dans le système nerveux central, ce qui suggère qu'elle participe à l'inflammation de manière paracrine et autocrine. Le rôle proinflammatoire de la leptine a aussi été identifié dans les maladies inflammatoires du côlon chez l'homme, dans lesquelles la leptinémie est corrélée au degré d'inflammation (117). Durant l'inflammation, les cellules du côlon sécrètent la leptine contrairement aux conditions physiologiques (151). De plus, la fixation de la leptine à son récepteur à la surface des colonocytes induit l'expression du facteur de transcription NF- $\kappa$ B, lui-même impliqué dans les maladies inflammatoires du côlon. Les mécanismes induisant l'expression du gène *Ob* lors d'une inflammation ne sont pas élucidés, néanmoins il est établi que les cytokines, tel que TNF $\alpha$ , ont un rôle amplificateur sur la sécrétion de leptine (cf. *supra*) et il a été montré *in vitro* que l'expression de la leptine dans les colonocytes était contrôlée par l'interféron  $\gamma$ , qui est aussi une cytokine proinflammatoire.

Dernièrement une étude a montré que la leptine pourrait favoriser le développement des maladies inflammatoires à médiation auto-immune en agissant directement sur les lymphocytes T régulateurs (LT CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>), importants dans la réponse immunitaire spécifique (44). En effet, le nombre de ces cellules diminue avec l'augmentation de la leptinémie et cette corrélation semble associée à l'interaction directe de la leptine avec son récepteur présent à la surface de ces cellules. *In vitro*, en présence de leptine ces cellules sont anergiques et peu sensibles aux signaux environnants, alors que la neutralisation de l'hormone par ajout d'anticorps spécifiques rétablit une activité cellulaire en induisant la phosphorylation des kinases ERK 1 et 2 et la dégradation du facteur inhibiteur du cycle cellulaire p27<sup>kip1</sup>. *In vitro*, il a également été démontré que ces cellules étaient capables de sécréter la leptine montrant là aussi l'existence d'une boucle de régulation autocrine. Ainsi en stimulant les lymphocytes T effecteurs et en inhibant les lymphocytes T régulateurs la leptine a un effet proinflammatoire et favorise le développement des maladies inflammatoires à médiation auto-immune (Figure 51).

## 2. Rôles dans le déroulement de la gestation

La leptine joue également un rôle important dans le maintien de l'homéostasie énergétique pendant la gestation, qui constitue un état de demande énergétique accru pour l'organisme maternel. Chez l'homme et la souris, la leptinémie augmente durant les deux derniers tiers de la gestation, en conséquence d'une augmentation de la sécrétion par le tissu adipeux et par le placenta et d'une augmentation de la sécrétion des formes de transports du récepteur (Ob-Re) par le placenta (64). En parallèle, l'expression des formes longues et courtes du récepteur diminue dans l'hypothalamus, ce qui se traduit par un état de résistance à l'effet central de la leptine sur la prise alimentaire (30). L'augmentation de la leptinémie pendant la gestation ne se traduit donc pas par une diminution de la prise alimentaire chez la mère mais constitue un signal pour l'organisme maternel permettant de favoriser la mobilisation des réserves de graisses et ainsi augmenter la disponibilité énergétique afin de subvenir aux besoins nécessaires à la croissance fœtale. Après la mise-bas, la leptinémie chute rapidement et constitue un signal permettant à l'organisme maternel de reconstituer ses réserves.

La leptine agit également localement, au niveau du placenta et de l'utérus, et joue un rôle dans la fonction et la croissance du placenta et dans l'implantation de l'embryon (30,64). Elle stimule la production d'HCG par les cellules du trophoblaste, la capture des acides



**Figure 52 : Rôles de la leptine dans la gestation**



$\alpha$  aminés, la synthèse des protéines de la matrice extracellulaire et des métalloprotéinases. Ob-Rb est également exprimé par l'oocyte et la leptine stimule la maturation nucléaire via l'activation de la voie MAPK et favorise le développement embryonnaire précoce en protégeant les cellules du blastocyste de l'apoptose (30). Durant l'implantation elle favorise l'adhésion du blastocyste au trophoblaste et son invasion (30). Durant la vie fœtale, la leptine est impliquée dans le développement du tissu osseux, l'hématopoïèse, la lymphopoïèse, la maturation de la muqueuse intestinale et pourrait être impliquée dans le développement du cerveau et du poumon (1). Le tissu adipeux fœtal est capable de synthétiser la leptine et la leptinémie du nouveau-né est étroitement corrélée à sa masse adipeuse. La leptine participerait également à la mise en place des circuits neuronaux hypothalamiques impliqués dans la régulation de la prise alimentaire et une concentration anormale de leptine pendant la gestation pourrait être associée à une altération de l'homéostasie énergétique dans la vie adulte prédisposant à des problèmes d'obésité et de diabète (15,68). Néanmoins l'absence de leptine de 0.5 à 19.5 jours de gestation chez la souris ob/ob portant un fœtus ob/ob n'a aucun effet délétère sur la croissance fœtale si bien que l'importance exacte de la leptine durant la gestation reste encore à déterminer (30).

### **3. Rôle de la leptine dans la régulation de la pression artérielle physiologique, dans le système cardiovasculaire et dans l'angiogénèse.**

Les souris ob/ob sont hypotendues et l'administration de leptine exogène à ces animaux rétablit une pression artérielle physiologique. Chez l'homme il existe une corrélation positive entre la leptinémie et la pression artérielle chez les individus normotendus et hypertendus. Il semble donc que la leptine joue un rôle important dans la régulation physiologique de la pression artérielle chez les rongeurs et chez l'homme, via son action sur le système nerveux sympathique. La stimulation sympathique du rein augmente la vasoconstriction rénale et la réabsorption tubulaire du sodium, ce qui se traduit par une augmentation de la pression artérielle systémique. La leptine pourrait donc être le lien entre l'hypertension et l'obésité chez l'homme, l'hyperleptinémie étant associée à une stimulation sympathique chronique des reins, elle-même responsable de l'apparition du syndrome d'hypertension (128). Par opposition les expériences *in vitro* sur des spécimens isolés d'aorte et d'artères coronaires ont montré que la leptine augmentait la sécrétion de NO par les cellules

endothéliales avec comme conséquence une vasodilatation rapide, qui s'opposerait à l'augmentation de la pression artérielle (86,128,143). Néanmoins cet effet n'apparaît qu'à des concentrations élevées de leptine et ne semble donc pas avoir d'implication *in vivo* (86).

Ob-Rb est exprimé par les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses des vaisseaux et les cardiomyocytes ce qui suggère un rôle direct de cette hormone dans le système cardio-vasculaire. Néanmoins les expériences réalisées à ce jour ne permettent pas d'établir un rôle précis et il semblerait que la leptine n'ait une action directe sur ces organes qu'à doses supérieures aux concentrations physiologiques, ce qui impliquerait plus un rôle dans la physiopathologie des maladies cardio-vasculaires liées à l'obésité que dans le fonctionnement normal du système cardio-vasculaire (143). Notamment, l'hyperleptinémie semble être impliquée dans la formation des plaques d'athérosclérose, dans l'hypertrophie du myocarde, et la diminution de l'efficacité du travail cardiaque (143).

Le récepteur Ob-Rb est exprimé par les cellules endothéliales chez les rongeurs et chez l'homme et il a été montré que la leptine stimule l'angiogénèse chez ces espèces. *In vivo* l'administration de leptine induit une néovascularisation de la cornée chez les rats normaux mais pas chez les rats déficients en récepteurs Ob-R (rats fa/fa) (149), *in vitro* elle stimule la multiplication des cellules endothéliales et leur organisation en structures tubulaires de type capillaire (48,51). La leptine pourrait donc favoriser la néovascularisation nécessaire à la croissance de la masse adipeuse. L'hyperplasie et l'hypertrophie des adipocytes qui accompagnent la croissance rapide du tissu adipeux peuvent générer des zones d'hypoxie et il a été montré que l'hypoxie stimule la sécrétion de leptine et d'autres facteurs angiogéniques, tels que HIF-1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ ) et VEGF (vascular endothelial growth factor) (100). HIF-1 $\alpha$  est activé par l'hypoxie, migre dans le noyau et se lie aux promoteurs des gènes de VEGF et de la leptine, qui sont ainsi activés. VEGF, comme la leptine, active dans la cellule les protéines STAT qui sont impliquées dans le mécanisme de l'angiogénèse. Ainsi les interactions entre VEGF, HIF-1 $\alpha$  et la leptine semblent jouer un rôle clé dans l'angiogénèse et la néovascularisation du tissu adipeux, ce qui pourrait avoir d'autres implications, notamment dans le développement des tumeurs. Néanmoins, les souris ob/ob, déficientes en leptine, ne présentent pas d'anomalie de la vascularisation de leur tissu adipeux malgré leur obésité, si bien que l'importance de ce rôle de la leptine est probablement mineur (51).

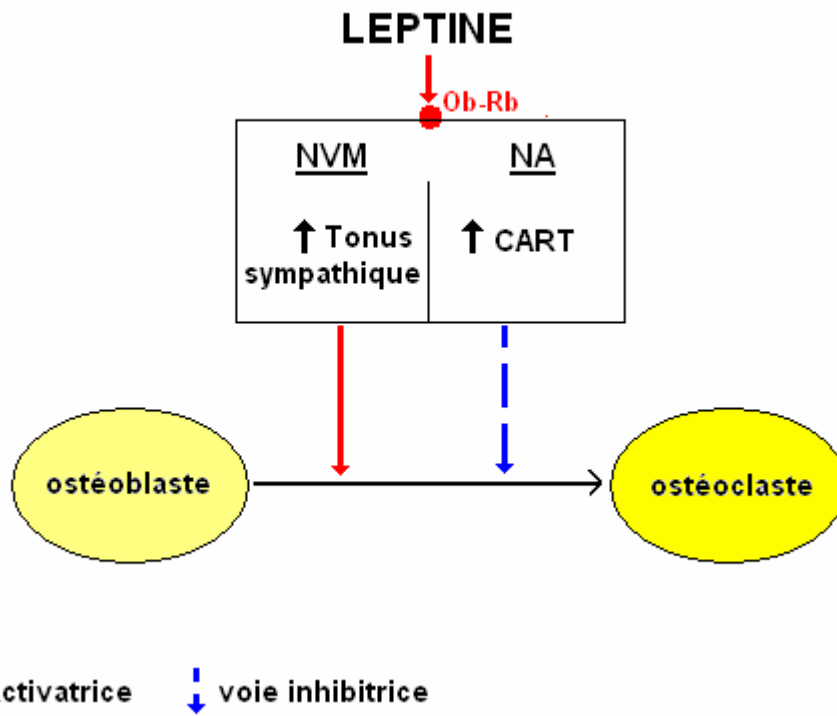
#### 4. Rôle dans la cancérogenèse

La leptine a des capacités angiogéniques et mitogéniques (cf. *supra*) et chez l'homme l'obésité et le surpoids, qui s'accompagnent d'une hyperleptinémie, sont associés à une augmentation de l'incidence des cancers, si bien qu'il a été envisagé un rôle pour cette hormone dans la cancérogenèse (53). Néanmoins, chez le chien, il n'y a aucune corrélation entre le poids et l'incidence des cancers et aucune étude poussée n'a été réalisée sur ce sujet dans cette espèce (168).

Le rôle de la leptine a été particulièrement étudié dans le cancer du sein et le cancer du côlon. Les souris déficientes en leptine (souris ob/ob) et déficientes en récepteur Ob-Rb (souris db/db) sont moins susceptibles au développement des tumeurs mammaires induites par les oncogènes (35). La leptine et son récepteur sont surexprimés par les cellules mammaires cancéreuses par rapport aux cellules normales. *In vitro* les lignées cellulaires cancéreuses exprimant le récepteur des oestrogènes ER $\alpha$  (MC-7 et T47D) expriment un nombre plus élevé de récepteurs Ob-Rb que les cellules ER $\alpha$  négatives et *in vivo* il a été montré que seules les tumeurs ER $\alpha$ -positives étaient associées à un pronostic sombre en cas d'obésité. L'ajout de leptine à une culture de cellules T47D stimule la prolifération cellulaire en activant les voies cellulaires JAK/STAT, MAPK et PI<sub>3</sub>K et leur permet de se multiplier même sans ancrage. Elle participe également à la régulation du cycle cellulaire en induisant une augmentation des concentrations de cdk2 (cyclin-dépendant kinase 2), facteur essentiel au contrôle des phases S et M, et de la cycline D1, impliquée dans le passage de la phase G<sub>0</sub> à la phase G<sub>1</sub>, ainsi qu'une inactivation du facteur inhibiteur pRb par hyperphosphorylation (53). Malgré ces observations il n'a pas encore été démontré à ce jour que l'hyperleptinémie était associée à une augmentation du risque de cancer du sein et à un assombrissement du pronostic au stade précoce (53,57).

Le récepteur Ob-Rb est également exprimé par les cellules cancéreuses du côlon et la leptine induit la prolifération de ces cellules par l'intermédiaire de l'activation de NF- $\kappa$ B et de l'augmentation de l'expression de c-fos. Il a, par ailleurs, été démontré que la leptine stimulait les capacités d'invasions de ces cellules cancéreuses au stade précoce par l'intermédiaire de voies PI<sub>3</sub>K, Rho et Rac dépendantes. Néanmoins, comme pour le cancer du sein, aucune association n'a pu être démontrée entre la leptinémie et le développement du cancer du côlon (53).

Malgré les nombreuses études faites à ce sujet l'implication de la leptine dans la tumorigenèse chez l'homme reste probablement annexe.



**Figure 53** : Rôle bivalent de la leptine dans la régulation centrale du métabolisme osseux

NA : Noyau Arqué ; NVM : Noyau ventro-médian ; CART : cocaïne and amphetamine related peptide ;  
Ob-Rb : Forme longue du récepteur de la leptine

## 5. Rôles dans le métabolisme osseux

Les souris ob/ob ont une masse osseuse 40 % plus élevée que les souris non déficientes et l'administration de leptine à ces souris rétablit une masse osseuse normale (37). Des expériences récentes ont montré que l'administration prolongée de leptine intracérébroventriculaire diminuait significativement l'activité ostéoblastique et la masse de l'os spongieux chez le mouton (124).

La régulation du remodelage de la masse osseuse se fait au niveau central, via le système nerveux sympathique, plus particulièrement au niveau du noyau ventro-médian de l'hypothalamus. Certaines études suggèrent aussi une implication du noyau arqué (37). Les ostéoblastes expriment des récepteurs adrénergiques  $\beta_2$ , et leur activation par la noradrénaline induit la transformation des ostéoblastes en pré-ostéoclastes qui deviennent ensuite des ostéoclastes, principaux effecteurs de la résorption osseuse.

Il semble que la leptine ait une action bivalente sur le remodelage osseux (Figure 53). En augmentant directement le tonus sympathique au niveau du noyau ventro-médian elle stimule la formation des ostéoclastes et donc la résorption osseuse, et en stimulant la production de CART par le noyau arqué elle inhiberait l'activité ostéoclastique et s'opposerait à la résorption osseuse (37). Les souris déficientes en récepteurs adrénergiques  $\beta_2$  présentent une augmentation de la masse osseuse conséquence d'une trop faible activité ostéoclastique, et les souris déficientes en CART présentent une diminution sévère de la masse osseuse conséquence d'une trop forte activité ostéoclastique. L'intervention des deux systèmes, régulés par la leptine, apparaît donc nécessaire au maintien de la balance entre la synthèse et la résorption osseuse.

Plus récemment un rôle de NPY a été également démontré dans le métabolisme osseux (2). Les souris déficientes en récepteurs de NPY (souris  $Y2^{-/-}$ ), présentent, comme les souris déficientes en leptine (ob/ob), une augmentation de la masse osseuse, attribuable à une augmentation de l'activité ostéoblastique et une diminution de l'activité ostéoclastique. Néanmoins les premières études réalisées semblent montrer que cette régulation emprunte une voie différente, indépendante de la leptine. Aucun mécanisme cellulaire permettant d'expliquer le rôle de NPY n'a encore été identifié, d'autres études sont donc nécessaires pour comprendre l'implication respective de NPY et de la leptine dans le métabolisme osseux et identifier une éventuelle interaction entre ces deux facteurs.

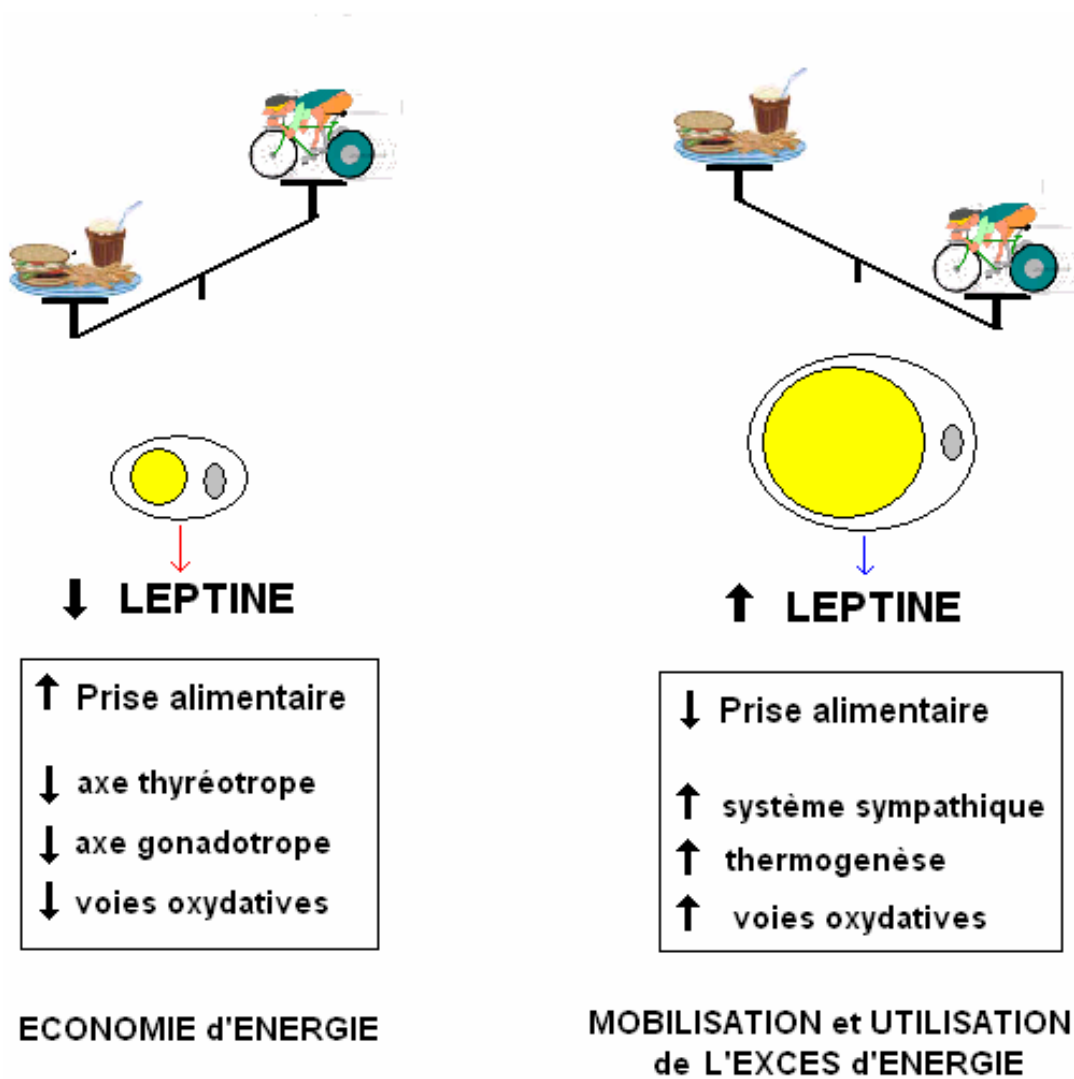


Figure 54 : Bilan des rôles de la leptine dans le maintien de l'homéostasie énergétique

**La leptinémie est un marqueur de l'état de la balance énergétique et le principal rôle de la leptine est de réguler les apports et les dépenses de l'organisme afin d'assurer le maintien de l'homéostasie énergétique (Figure 54).**

**La leptine permet de réguler la prise alimentaire en fonction des besoins de l'organisme grâce à son action centrale au niveau de l'hypothalamus. Elle régule la mobilisation et le stockage de l'énergie en agissant directement sur les adipocytes et régule l'utilisation périphérique du glucose en agissant directement sur le tissu musculaire au même titre que l'insuline, dont elle pourrait également réguler la sécrétion. Ainsi elle permet d'adapter la quantité d'énergie circulante aux besoins du métabolisme.**

**De la même manière, la leptine permet de réguler le fonctionnement de l'organisme en fonction de l'apport alimentaire et de l'état des réserves. En situation d'hypoleptinémie, qui traduit un défaut d'apport énergétique ou des réserves adipeuses trop faibles, elle réduit la dépense d'énergie globale et favorise la reconstitution des réserves, notamment en diminuant l'activité des axes thyroïdienne et gonadotrope, et en inhibant les voies oxydatives dans le muscle et le tissu adipeux. Au contraire un état d'hyperleptinémie, qui traduit un excès d'apport énergétique ou un excès de réserves adipeuses, provoque une augmentation du métabolisme de base, conséquence d'une activation de système sympathique, de la thermogenèse et des voies oxydatives en général, qui permet à l'organisme de mobiliser et d'utiliser l'excédent d'énergie. Ainsi, la leptine assure la conservation physiologique d'une quantité de réserves énergétiques malgré les variations de l'apport alimentaire et protège ainsi l'organisme du jeûne et de l'obésité.**

**Un état d'euleptinémie, qui traduit un état d'équilibre de la balance énergétique et un état des réserves adéquat, constitue un facteur permissif pour la fonction de reproduction, autorisant celle-ci seulement lorsque l'organisme est capable de supporter le déroulement d'une gestation.**

**La leptine intervient également dans d'autres fonctions annexes à l'homéostasie énergétique. Elle joue un rôle important dans les réponses inflammatoire et immune et serait considérée comme une cytokine proinflammatoire. Elle participe également à la régulation du métabolisme osseux et de la pression artérielle, via son action sur le système nerveux sympathique. Enfin elle possède des capacités mitogéniques et**

**angiogéniques si bien qu'un rôle dans l'angiogénèse et la cancérogenèse est fortement suspecté.**

**Encore très peu d'études concernant les rôles de la leptine chez les carnivores domestiques ont été spécifiquement réalisées. Même si le rôle dans la régulation de l'homéostasie énergétique apparaît commun à toutes les espèces il est donc important d'envisager la possibilité de variations spécifiques dans le mode d'action périphérique de cette hormone chez le chat et le chien.**



### **III. Applications médicales et perspectives**

Les souris déficientes en leptine (souris ob/ob) ainsi que celles déficientes en récepteurs Ob-R (db/db) sont obèses (20), si bien que la leptine a d'abord été considérée comme l'hormone « anti-obésité », représentant un nouvel espoir dans le traitement de l'obésité (62). Néanmoins, nous avons montré dans les parties précédentes que la leptine intervenait principalement dans la régulation de la prise alimentaire et dans la régulation des métabolismes glucidique et lipidique en coopération avec d'autres systèmes hormonaux, et qu'un état d'obésité pouvait être associé à un déficit absolu ou relatif en leptine ou à une situation de résistance à l'hormone (situation la plus fréquente). La mise au point du dosage de la leptine dans la circulation sanguine permet de distinguer ces deux cas et d'évaluer l'implication de cette hormone dans différents troubles métaboliques (obésité, déficit de la réponse immunitaire, reproduction).

#### **1. Intérêt du dosage de la leptinémie**

Le dosage de la leptinémie est réalisable chez plusieurs espèces, dont les carnivores domestiques (cf. *supra*). Néanmoins les techniques développées à ce jour ne permettent pas sa réalisation quotidienne, et le dosage de la leptine est encore presque exclusivement réservé au domaine de la recherche scientifique.

Même si la leptinémie est étroitement corrélée à la masse adipeuse, le dosage de la leptinémie offre peu d'intérêt en médecine courante, pour l'évaluation de la masse grasse. En effet, dans les conditions physiologiques, la concentration plasmatique de cette hormone subit des variations importantes au cours de la journée en fonction de la prise alimentaire et de la dépense énergétique, et chez le chien par exemple, un jeun de 24h apparaît nécessaire pour obtenir une valeur interprétable (cf. *supra*).

Toutefois, face à un cas d'obésité avéré, le dosage de la leptinémie permet de faire la différence entre deux situations : la déficience en leptine, caractérisée par une leptinémie inférieure au seuil de détection, et la résistance à la leptine caractérisée par une hyperleptinémie.

## 2. Leptine et statut corporel

L'obésité est le désordre nutritionnel le plus courant en médecine vétérinaire (114,169,183), avec une prévalence de 20 à 35 %, selon les études, chez le chien et le chat. L'obésité est associée à plusieurs problèmes de santé et à une diminution de l'espérance de vie. Chez le chat, comme chez le chien, elle prédispose au développement du diabète sucré, aux problèmes locomoteurs d'origine articulaire et problèmes dermatologiques. Chez le chien, elle prédispose en plus à l'hypertension et à des pathologies cardio-vasculaires (114,169), et chez le chat, elle est associée à une augmentation du risque d'obstruction urétrale et de lipidose hépatique (183). De nombreux facteurs semblent contribuer au développement de l'obésité, notamment la stérilisation, l'âge, le niveau d'activité relié au milieu de vie et le mode d'alimentation (102,183). Une étude australienne réalisée en 2005 semble montrer que dans la population canine, les animaux à risque sont les animaux castrés, sans influence du sexe, adultes avec un pic à 10 ans, vivant à la campagne et nourris avec des restes de table (102). Dans la population féline les animaux à risque sont les animaux castrés, vivant en à l'intérieur et nourris à volonté, avec une diète de maintenance (169,183). Malgré l'importance de ce problème sanitaire les solutions thérapeutiques sont encore limitées chez les animaux de compagnie, et consistent plutôt en un traitement hygiénique : changement et rationnement de l'alimentation associé à une supplémentation en carnitine et augmentation de l'exercice. Malheureusement ces mesures sont souvent insuffisantes pour régler les cas de surpoids ou d'obésité avérée (169).

### a) Cas de déficits en leptine

Certaines situations d'obésité peuvent être induites par un déficit en leptine de nature congénitale ou acquise.

La déficience congénitale en leptine, associée à une anomalie du gène *Ob*, a été identifiée chez la souris (souris ob/ob) et chez l'homme où elle représente une maladie génétique rare (9 cas répertoriés) (97). Elle n'a pas été identifiée chez les carnivores domestiques.

La déficience congénitale en leptine est associée à des anomalies de la prise alimentaire et de la dépense énergétique qui résultent principalement en une obésité sévère précoce, un état d'insulinorésistance, plus ou moins compliqué d'un diabète de type II et une infertilité liée à un hypogonadisme (97,172). L'administration journalière sous-cutanée de leptine recombinante humaine à des individus porteurs de cette anomalie génétique a permis

de restaurer une concentration de leptine circulante physiologique. Après 18 mois, on a pu noter une perte poids spectaculaire (diminution de l'index de masse corporelle de 51.2 kg/m<sup>2</sup> à 26.9 kg/m<sup>2</sup>), principalement liée à la perte de masse grasse, une augmentation de la dépense énergétique et une résolution de l'insulinorésistance et de l'hypogonadisme (97). Des résultats équivalents ont pu être observés chez tous les individus porteurs de cette anomalie génétique traités avec de la leptine exogène (172). L'administration de leptine exogène apparaît donc être un traitement efficace et sûr de l'obésité associée à la déficience congénitale en leptine.

Il existe aussi des cas de déficits en leptine acquis, décrits dans l'espèce humaine, apparaissant sur des sujets adultes. Le diabète lipoatrophique représente un modèle de déficience en leptine acquise chez l'homme. C'est une pathologie rare, d'origine inconnue, qui correspond à une perte généralisée du tissu adipeux, associée à une hypertriglycémie, une stéatose hépatique et un diabète de type II (116). D'après les expériences réalisées sur des modèles animaux de lipoatrophie, la déficience presque totale en leptine de ces individus semble être responsable en partie des anomalies métaboliques observées (172). L'administration sous-cutanée bijournalière de leptine exogène à ces individus pendant 4 mois a permis de restaurer progressivement une concentration de leptine circulant physiologique avec comme conséquence une amélioration du contrôle de la glycémie, une diminution de la triglycémie et une diminution de la masse du foie (116,172). D'autres expériences conduites sur 12 mois ont permis d'obtenir des résultats équivalents montrant que l'administration de leptine exogène est un traitement efficace et sûr du diabète lipo-atrophique chez l'homme (172). Cependant la leptine n'est pas la seule hormone sécrétée par les adipocytes et déficiente dans les états de lipoatrophie, et des expériences récentes ont montré que l'administration combinée de leptine et d'adiponectine (qui joue également un rôle dans la régulation du poids, de la glycémie et du catabolisme lipidique et augmente la sensibilité des cellules à l'insuline) conduisait à un contrôle plus efficace de la glycémie que la leptine seule chez les modèles de lipoatrophie murins. Il n'existe pas encore d'adiponectine recombinante utilisable chez l'homme mais la thérapie combinée leptine/adiponectine représente une perspective intéressante pour le traitement du diabète lipoatrophique (172).

L'anorexie nerveuse, désordre psychologique caractérisé par une déformation de l'image corporelle et une sévère auto restriction de la prise alimentaire, représente un second modèle de déficience acquise en leptine chez l'homme (32). Le déficit alimentaire sévère entraîne un épuisement des réserves adipeuses et un effondrement de la leptinémie, associés à

une diminution des concentrations plasmatiques d'oestrogènes (ce qui entraîne une aménorrhée), d'hormone thyroïdiennes et d'IGF-1 et à une augmentation des concentrations plasmatiques de cortisol et d'hormone de croissance (32). Ces modifications des axes neuroendocrines ont un effet délétère sur l'organisme, en particuliers sur le métabolisme osseux. L'ostéoporose, conséquence du déficit en oestrogènes et en IGF-1, est une complication dans 50% des cas (32). Le traitement classique de l'anorexie nerveuse est la réalimentation progressive qui permet de restaurer progressivement un index de masse corporel et une leptinémie physiologiques, avec comme conséquence une normalisation des axes neuroendocrines. Néanmoins le temps nécessaire à ce retour à la normale peut être long et chez certaines patientes l'aménorrhée persiste malgré le regain de poids, ce qui augmente le risque de réduction de la densité osseuse. C'est pourquoi l'administration de leptine exogène à ces patientes est aujourd'hui envisagée, en complément de la thérapie nutritionnelle, pour rétablir précocement le fonctionnement de l'axe gonadotrope et limiter les risques d'ostéoporose secondaire. Néanmoins, la dose de leptine à administrer chez ces patientes devra être soigneusement calculée afin de s'affranchir de son effet potentiel sur l'appétit et le poids.

#### **b) Situations de résistance à la leptine**

Les cas d'obésité chez le chien, l'homme et la plupart des animaux sont le plus souvent associés à une hyperleptinémie et une résistance à la leptine plutôt qu'à une déficience en leptine ou en ses récepteurs, par conséquent, l'administration de leptine aux individus obèses n'a aucun effet sur le poids (107,114,172,181). Malgré les nombreuses études réalisées sur ce sujet les mécanismes responsables du développement de cet état de résistance ne sont pas encore parfaitement établis, mais une diminution de la capacité de transport de l'hormone jusqu'à l'hypothalamus, une diminution de l'expression des formes longues du récepteur dans l'hypothalamus et des anomalies dans la transduction cellulaire du signal pourraient survenir et être responsables de l'inefficacité de l'hormone (181 - cf. *supra*). Une étude récente, utilisant l'induction de l'expression d'un transgène de la leptine dans l'hypothalamus de souris, a permis de montrer que l'élévation chronique de la leptinémie était responsable de l'apparition du phénomène de résistance et du développement de l'obésité. Chez ces souris, l'augmentation chronique de la leptinémie dans l'hypothalamus est d'abord suivie d'une diminution de la prise alimentaire et d'une augmentation de la dépense énergétique, responsables d'une perte de poids, mais rapidement ces animaux deviennent

insensibles au signal leptine, et retrouvent un poids comparable aux animaux témoins (181). Ces animaux sont alors bien plus sensibles à l'obésité induite par l'alimentation que les souris témoins. Finalement la résistance à la leptine apparaît être une cause et une conséquence de l'obésité, l'augmentation de la masse grasse induisant d'abord un état d'hyperleptinémie chronique qui induit l'apparition du phénomène de résistance, lequel prédispose ensuite à l'aggravation de l'obésité. Etant donné ces résultats, il apparaît évident que l'administration de leptine exogène ne peut avoir qu'un effet néfaste sur la progression de l'obésité et certainement pas un effet curatif. Il semble, par contre, que le système des mélanocortines ne soit pas affecté par ce problème de résistance. Ainsi l'administration intracérébrale d'un analogue synthétique de la MSH $\alpha$ , MTII, induit une diminution de la prise alimentaire et une perte de poids conséquente même chez les individus résistants à la leptine. Le système des mélanocortines pourrait donc représenter une nouvelle cible dans le traitement de l'obésité (181).

L'obésité chez le chien, le chat, l'homme et les rongeurs est aussi associée à un état d'insulinorésistance et une augmentation du risque de diabète de type II (4,172). Le mécanisme par lequel l'obésité conduit à l'insulinorésistance est encore inconnu mais pourrait impliquer la leptine. En effet, la leptine induit une diminution de la sensibilité à l'insuline des cellules adipeuses (cf. *supra*), qui semble induire secondairement un état d'insulinorésistance au niveau des muscles et du foie (4). Chez la souris, la résistine, une hormone également synthétisée par les adipocytes en réponse à un régime riche en graisse, semble être le médiateur de cette insulinorésistance. Par contre, chez l'homme la résistine est synthétisée par les cellules immunitaires et ne semble pas intervenir dans l'homéostasie du glucose, ce qui suggère des variations entre les espèces (63) et la nécessité d'études spécifiques chez les carnivores domestiques pour évaluer le rôle exact de ces hormones dans le développement de l'insulinorésistance. Il a, par contre, été montré que l'augmentation de la leptinémie est associée à une diminution de l'insulinosensibilité chez le chat, indépendamment de la masse adipeuse (4). Par ailleurs, l'insulinorésistance induit une augmentation de l'insulinémie qui a un effet stimulant sur la sécrétion de leptine par les adipocytes (cf. *supra*). Il est toutefois difficile de dire si l'augmentation de la leptinémie est une cause ou une conséquence de l'insulinorésistance (4) et une meilleure compréhension des mécanismes d'interaction entre ces hormones est nécessaire avant d'envisager une utilité thérapeutique de la leptine dans le traitement de l'insulinorésistance associée à l'obésité.

Chez le chien, comme chez l'homme, l'augmentation du poids et de la masse adipeuse lors d'obésité est associée à une augmentation de la demande de perfusion des tissus et du volume circulant, qui conduisent à une augmentation du débit cardiaque et du travail cardiaque en général. Ceci résulte en une augmentation de la masse du myocarde, une hypertrophie des cardiomyocytes et une dilatation des chambres cardiaques qui conduisent à une augmentation du risque d'insuffisance cardiaque congestive (169). Chez l'homme, certaines études montrent une corrélation entre l'hyperleptinémie et la tachycardie, l'hypertrophie des cardiomyocytes et l'épaississement du myocarde observés chez les individus présentant un surpoids (143). De même, chez les insuffisants cardiaques il semble exister une corrélation positive entre la leptinémie et l'intolérance à l'exercice, indépendante de l'adiposité. De plus, il a été montré *in vitro* que l'hyperleptinémie avait un effet prohypertrophique sur les cardiomyocytes et induisait une augmentation de la production d'oxydes réactifs par ces cellules (143). Toutes ces observations suggèrent l'implication de la leptine dans le développement de l'insuffisance cardiaque et la progression de ses signes cliniques chez l'homme, et on peut donc se poser la question d'un rôle équivalent chez le chien. Néanmoins, pour le moment, aucune étude cherchant à étudier le rôle de la leptine dans les maladies cardiovasculaires chez le chien n'ont été réalisées et cette hypothèse reste à explorer.

De plus, la leptine semble être impliquée dans la formation des plaques d'athérosclérose chez l'homme (143) et dans l'apparition des coronaropathies associées à l'obésité (86) ; l'hyperleptinémie correspond à un facteur de risque pour l'infarctus du myocarde (143). Ces pathologies sont rares en médecine vétérinaire (169), et il est donc peu probable que l'hyperleptinémie ait un effet équivalent chez le chien.

Malgré les espoirs thérapeutiques initialement associés à la découverte de la leptine, cette hormone se révèle être inutile dans le traitement de la plupart des cas d'obésité. Par contre, il apparaît évident que l'hyperleptinémie joue un rôle dans les nombreuses dysfonctions métaboliques associées à l'obésité. Néanmoins l'importance exacte de ce rôle est difficile à établir étant donné la complexité des mécanismes de régulation et de compensation mis en place lors de l'augmentation du poids. Des études sont encore nécessaires pour évaluer l'impact exact de l'hyperleptinémie sur le développement de l'insulinorésistance, de l'hypertension et des problèmes cardiovasculaires associés à l'excès de poids chez l'homme et chez les carnivores domestiques, afin d'envisager une éventuelle utilité thérapeutique

d'antagonistes de la leptine dans la limitation de la progression des anomalies métaboliques liées au surpoids.

### 3. Leptine et immunité

Etant donné les propriétés régulatrices et activatrices de la leptine sur la réponse immunitaire non spécifique et spécifique à médiation cellulaire (cf. *supra*), cette hormone est reconnue comme un éventuel candidat au traitement des états d'immunodéficience associés à la cachexie chez l'homme comme l'anorexie nerveuse, l'infection par le VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine) ou les cancers (107). Chez les animaux domestiques on peut imaginer des applications médicales équivalentes dans le suivi médical des patients cancéreux et infectés par les virus immunosuppresseurs félines (FIV et FeLV). Chez l'homme et la souris, l'administration de leptine exogène a montré un effet positif sur l'activation et la prolifération des lymphocytes T chez les individus déficients en leptine et une augmentation des concentrations de cytokines circulantes chez les sportifs présentant une hypoleptinémie acquise chronique (108). Néanmoins, aucune étude n'a été entreprise pour évaluer l'effet thérapeutique de l'administration de leptine chez les individus cachectiques et le risque d'effets néfastes apparaît élevé, notamment l'effet anorexigène chez des patients déjà anorexiques et l'effet proinflammatoire possibles.

Etant donné son rôle de cytokine proinflammatoire et son implication dans le développement des maladies auto-immunes, la modulation de la concentration de leptine circulante pourrait être une option thérapeutique intéressante dans le traitement des maladies auto-immunes impliquant une suractivation de la réponse cellulaire (107). Le contrôle de la leptinémie peut se faire par l'intermédiaire de la régulation de l'apport alimentaire et il a été observé chez les individus atteints d'arthrite rhumatoïde que le jeûne diminuait la concentration des marqueurs de l'inflammation et augmentait la sécrétion d'IL-4 avec comme conséquence une amélioration des signes cliniques. Le jeûne prolongé étant délétère pour l'organisme, cette option thérapeutique n'est pas envisageable à long terme, par contre l'administration d'antagonistes du récepteur Ob-Rb pourrait être une option intéressante (107). Récemment, un mutant de la leptine capable d'interférer avec le signal leptine a été identifié et représente aujourd'hui un modèle de recherche en vue de développer un antagoniste de faible poids moléculaire ayant les caractéristiques nécessaires à de futurs essais thérapeutiques (121). Si les antagonistes de la leptine trouvaient une place dans le traitement des maladies auto-immunes chez l'homme, on peut espérer une application similaire chez les

carnivores domestiques, chez qui les maladies auto-immunes systémiques représentent aussi un problème médical important. Cependant, aucune étude n'a documenté à ce jour une implication de la leptine dans les maladies auto-immunes chez ces espèces et le lien entre auto-immunité et leptine reste encore à prouver chez le chien et le chat.

Enfin, étant donné que la leptine oriente la réponse du système immunitaire en Th1 elle pourrait aussi constituer un adjuvant intéressant dans les protocoles de vaccination (107).

#### **4. Leptine et reproduction**

Il a été montré chez l'homme et les rongeurs que la leptine joue un rôle important dans la fonction de reproduction et la gestation (cf. *supra*). Malheureusement aucune étude à ce sujet n'a été réalisée chez les carnivores domestiques.

Chez l'homme le rôle exact de la leptine dans la fonction de reproduction doit encore être clarifié avant d'envisager des applications médicales à l'utilisation de la leptine exogène (157). Néanmoins des résultats ont déjà été obtenus dans le traitement de l'aménorrhée hypothalamique, dysfonction métabolique également associée à un état d'hypoleptinémie qui pose des problèmes importants d'infertilité et d'ostéoporose, et on peut donc imaginer une utilité de la leptine dans le traitement de certaines autres formes d'infertilité (32,157).

Chez la femme les grossesses pathologiques, telles que celles compliquées de pré-éclampsie ou de diabète gestationnel semblent être associées à des concentrations anormales de leptine ce qui pourrait également constituer une perspective intéressante pour cette hormone en médecine humaine, comme outil diagnostique pendant la grossesse. Une meilleure compréhension du rôle exact de la leptine dans le maintien de la gestation, la croissance fœtale et la physiopathologie de ces grossesses anormales est nécessaire avant d'envisager des applications médicales (30,64).

Enfin, étant donné son rôle dans les stades précoces du développement embryonnaire et dans l'implantation, il est également intéressant d'envisager une application pour cette hormone dans les protocoles de reproduction assistée et de transfert embryonnaire (30).



**Pour le moment les applications médicales de la leptine sont encore très réduites et se résument principalement à la correction des états de déficience congénitale chez l'homme. Néanmoins le succès thérapeutique et la sécurité observés lors d'administration exogène de leptine humaine recombinante à ces individus est encourageant. La leptine offre aujourd'hui de nouvelles perspectives chez l'homme dans le suivi des individus souffrant de lipo-atrophie, et dans le traitement des problèmes d'infertilité associés à une dysfonction hypothalamique. La découverte récente d'un antagoniste de la leptine ouvre de nouveaux espoirs pour le contrôle des maladies inflammatoires à médiation auto-immune et le suivi des individus obèses. Néanmoins le rôle de la leptine dans la physiopathologie de l'obésité doit encore être précisé avant d'envisager une telle application.**

**Aucune application médicale n'a encore été envisagée en médecine vétérinaire, car certainement les rôles de la leptine chez les carnivores domestiques n'ont encore été que très peu étudiés.**



## CONCLUSION

Un peu plus de 10 ans après sa découverte, cette étude a permis de clarifier le mode d'action et les rôles principaux de la leptine.

Il faut retenir que la leptine est un marqueur sensible de l'état de la balance énergétique et des réserves adipeuses, la corrélation positive entre la masse grasse et la leptinémie ayant été démontrée chez toutes les espèces étudiées (rongeurs, carnivores et herbivores). La leptine apparaît aujourd'hui être le garant de l'équilibre entre les apports et les dépenses énergétiques dans les conditions physiologiques, protégeant ainsi l'organisme du jeûne et de l'obésité en favorisant la conservation d'une quantité de réserves énergétiques physiologiques. Par contre en cas de surpoids, l'hyperleptinémie et le phénomène de résistance centrale qui en découle représentent des facteurs prédisposant à l'obésité. L'hyperleptinémie est également impliquée dans la physiopathologie du syndrome obésité, notamment elle semble participer à la mise en place de l'insulinorésistance, de l'hypertension et des problèmes cardiovasculaires associés à l'excès de poids. Néanmoins son rôle exact dans l'apparition de ces anomalies métaboliques n'est pas encore parfaitement établi étant donné la complexité des mécanismes de régulation et de compensation mis en place lors de l'augmentation du poids. Notamment il apparaît nécessaire de clarifier le rôle des autres facteurs adipocytaires impliqués dans la régulation du poids et de l'insulino-sensibilité, tels que l'adiponectine, la résistine et la sécrétine.

De part sa structure, la leptine appartient à la famille des cytokines à hélices et il est maintenant démontré qu'elle participe à la réponse inflammatoire et immunitaire. Elle joue également un rôle important dans la régulation de fonctions annexes à l'homéostasie énergétique, comme le métabolisme osseux et la gestation.

Les rôles de la leptine ont été largement étudiés chez l'homme pendant ces dix dernières années. Par contre chez les carnivores domestiques, bien que le gène ait été identifié et séquencé, les études spécifiques sur cette hormone sont peu nombreuses. Chez ces espèces il a été démontré que la leptine est sécrétée par le tissu adipeux proportionnellement à la masse adipeuse et que l'obésité est associée à une résistance à l'hormone, comme chez les autres espèces. Par contre aucune étude sur ses rôles spécifiques n'a été réalisée. D'autres expériences doivent, par conséquent, être conduites pour mettre en évidence les tissus cibles et les effets de la leptine chez le chien et le chat. Notamment ses implications dans le contrôle de la prise alimentaire et la dépense métabolique, la régulation des axes neuroendocrines, la

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, A. MILON, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que

**Melle Bénédicte, Marie, Hélène FAURE**

a été admis(e) sur concours en : 2002

a obtenu son certificat de fin de scolarité le : 12 Juillet 2007

n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussignée, Lydie BRET-BENNIS, Maître de Conférences, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, autorise la soutenance de la thèse de :

**Melle Bénédicte, Marie, Hélène FAURE**

intitulée :

*Contribution à l'étude bibliographique de la leptine chez les carnivores domestiques*

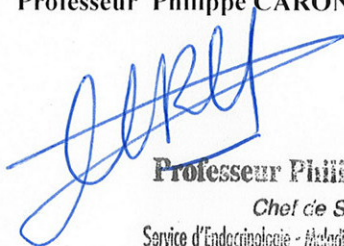
Le Professeur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Docteur Lydie BRET-BENNIS



Vu :  
Le Directeur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse  
Professeur Alain MILON



Vu :  
Le Président de la thèse :  
Professeur Philippe CARON




**Professeur Philippe CARON**

*Chef de Service*

Service d'Endocrinologie - Maladies Métaboliques - Nutrition  
CHU TOULOUSE - Hôpital Larrey  
24, chemin de Pourville - TSA 30030  
31059 TOULOUSE Cedex 9 - Tél. 05 61 77 17 01

Vu le : 21 NOV. 2007  
Le Président  
de l'Université  
Professeur Jean-François SAUTEREAU



réponse inflammatoire et immune, la gestation et le métabolisme osseux doivent être précisées.

Pour le moment il est admis que les données établies chez l'homme et les rongeurs de laboratoire sont extrapolables étant donnée la forte conservation de la protéine au cours de l'évolution. Néanmoins les expériences déjà réalisées ont montré des variations spécifiques dans les effets de l'hormone entre l'homme et les rongeurs et il est donc probable que de telles différences existent aussi chez les carnivores domestiques. Tout reste donc encore à démontrer, pour espérer comprendre l'implication métabolique de la leptine spécifiquement chez les carnivores domestiques et envisager d'éventuelles applications au dosage ou à l'utilisation de cette hormone en médecine vétérinaire.



## **BIBLIOGRAPHIE**

- 1 : ALEXE DM, SYRIDOU G, PETRIDOU ET : Determinants of early life leptin levels and later life degenerative outcomes, *Clin. Med. Res.*, 2006, **4**(4), 326-335.
- 2 : ALLISON SJ, BALDOCK PA, HERZOG H : The control of bone remodeling by neuropeptide Y receptors, *Peptides*, 2007, **28**(2), 320-325.
- 3 : APPLETON DJ, RAND JS, SUNVOLD GD : Plasma leptin concentration in cats : reference range, effect of weight gain and relationship with adiposity as measured by dual energy X-ray absorptiometry, *J. Feline Med. Surg.*, 2000, **2**(4), 191-199.
- 4 : APPLETON DJ, RAND JS, SUNVOLD GD : Plasma leptin concentrations are independently associated with insulin sensitivity in lean and overweight cats, *J. Fel. Med. Surg.*, 2002, **4**(2), 83-93.
- 5 : BACKUS RC, HAVEL PJ, GINGERICH RL, ROGERS QR : Relationship between serum leptin immunoreactivity and body fat mass as estimated by use of a novel gas-phase Fourier transform infrared spectroscopy deuterium dilution method in cats, *Am. J. Vet. Res.*, 2000, **61**(7), 796-801.
- 6 : BADO A, LAVASSEUR S, ATTOUB S, KERMORGANT S, LAIGNEAU JP, BORTOLUZZI MN, MOIZO L, LEHY T, GUERRE-MILLO M, LE MARCAHND-BRUSTEL Y, LEWIN MJ : The stomach is a source of leptin, *Nature*, 1998, **394**(6695), 790-793.
- 7 : BANKS WA : The many lives of leptin, *Peptides*, 2004, **25**(3), 331-338.
- 8 : BASKIN DG, SCHWARTZ MW, SEELEY RJ, WOODS SC, PORTE D, BREININGER JF, JONAK Z, SCHAEFER J, KROUSE M, BURGHARDT C, CAMPFIEL LA, BURN P, KOCHAN JP : Leptin receptor long-form splice-variant protein expression in neuron cell bodies of the brain and co-localization with neuropeptide Y mRNA in the arcuate nucleus, *J. Histochem. Cytochem.*, 1999, **47**(3), 353-362.
- 9 : BAZAN JF : Structural design and molecular evolution of a cytokine receptor superfamily, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, **87**(18), 6934-6938.
- 10 : BECK B, STRICKER-KRONGRAD A, RICHY S, BURLET C : Evidence that hypothalamic neurotensin signals leptin effects on feeding behavior in normal and fat-preferring rats., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1998, **252**(3), 634-638.
- 11 : BENOIT SC, CLEGG DJ, SEELEY RJ, WOODS SC : Insulin and leptin as adiposity signals, *Recent. Prog. Horm. Res.*, 2004, **59**, 267-285.
- 12 : BERNOTIENE E, PALMER G, GABAY C : The role of leptin in innate and adaptative immune responses, *Arthr. Res. Ther.*, 2006, **8**(5), 217-225.
- 13 : BJORBAEK C, ELMQUIST JK, FRANTZ JD, SHOELSON SE, FLIER JS : Identification of SOCS-3 as a potential mediator of central leptin resistance, *Mol. Cell.*, 1998, **1**(4), 619-625.

- 14 : BJORBAEK C, EL-HASCHIMI K, FRANTZ JD, FLIER JS : The role of SOCS-3 in leptin signaling and leptin resistance, *J. Biol. Chem.*, 1999, **274**(42), 30059-30065.
- 15 : BOURET SG, DRAPER SJ, SIMERLY RB : Trophic action of leptin on hypothalamic neurons that regulate feeding, *Science.*, 2004, **304**(5667), 108-110
- 16 : BRADLEY RL, CHEATHAM B : Regulation of *ob* gene expression and leptin secretion by insulin and dexamethasone in rat adipocytes, *Diabetes*, 1999, **48**(2), 272-278.
- 17 : BRADLEY RL, KOKKOTOU EG, MARATOS-FLIER E, CHEATHAM B : Melanin-concentrating hormone regulates leptin synthesis and secretion in rat adipocytes, *Diabetes*, 2000, **49**(7), 1073-1077.
- 18 : BRADLEY RL, CHEATHAM B, CLEVELAND KA : The adipocyte as a secretory organ: mechanisms of vesicle transport and secretory pathways, *Recent. Prog. Horm. Res.*, 2001, **56**, 329-358.
- 19 : BRAUN JP : La biochimie des hormones, Département des sciences biologiques et fonctionnelles Département des sciences biologiques et fonctionnelles, ENVT, 2002.
- 20 : BRAY GA, YORK DA : Hypothalamus and genetic obesity in experimental animals : an autonomic and endocrine hypothesis, *Physiol. R.*, 1979, **59**(3), 719-809.
- 21 : BRET-BENNIS L : Ligands, Département des sciences biologiques et fonctionnelles, ENVT, 2005.
- 22 : BURGUERA B, COUCE ME, LONG J, LAMSAM J, LAAKSO K, JENSEN MD, PARISI JE, LLOYD RV : The long form of the leptin receptor (OB-Rb) is widely expressed in the human brain, *Neuroendocrinology*, 2000, **71**(3), 187-195.
- 23 : BUYSE M, APARICIO T, GUILMEAU S, GOIOT H, SOBHANI I, BADO A : Paracrine actions of the stomach-derived leptin, *Med. Sci.*, 2004, **20**(2), 183-188.
- 24 : CASES JA, GABRIELY I, MA XH, YANG XM, MICHAELI T, FLEISHER N, ROSSETI L, BARZILAI N : Physiological increase in plasma leptin markedly inhibits insulin secretion *in vivo*, *Diabetes*, 2001, **50**(2), 348-352.
- 25 : CAMMISOTTO PG, RENAUD C, GINGRAS D, DELVIN E, LEVY E, BENDAYAN M : Endocrine and exocrine secretion of leptin by the gastric mucosa, *J. Histochem. Cytochem.*, 2005, **53**(7), 851-860.
- 26 : CAMMISOTTO PG, GELINAS Y, BUKOWIECKI LJ, DESHAIES Y : Regulation of leptin secretion from white adipocytes by insulin, glycolytic substrates, and amino acids, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2005, **289**(1), E166-E171.
- 27 : CAMMISOTTO PG, BUKOWIECKI LJ, DESHAIES Y, BENDAYAN M : Leptin biosynthetic pathway in white adipocytes, *Biochem. Cell. Biol.*, 2006, **84**(2), 207-214.
- 28 : CASANUEVA FF, DIEGUEZ C : Neuroendocrine regulation and actions of leptin, *Front. Neuroendocrinol.*, 1999, **20**(4), 317-363.



- 29 : CEDDIA RB : Direct metabolic regulation in skeletal muscle and fat tissue by leptin : implications for glucose and fatty acids homeostasis, *Inter. J. Obes.*, 2005, **295**(10), 1175-1183.
- 30 : CERVERO A, DOMINGUEZ F, HORCAJADAS JA, QUINONERO A, PELLICER A, SIMON C : The role of leptin in reproduction, *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.*, 2006, **18**(3), 297-303.
- 31 : CHAN JL, HEIST K, DE PAOLI AM, VELDHUIS JD, MANTZOROS CS : The role of falling leptin levels in the neuroendocrine and metabolic adaptation to short-term starvation in healthy men, *J. Clin. Invest.*, 2003, **111**(9), 1409-1421.
- 32 : CHAN JL, MANTZOROS CS : Role of leptin in energy-deprivation states : normal human physiology and clinical implications for hypothalamic amenorrhoea and anorexia nervosa, *Lancet*, 2005, **366**(9479), 74-85.
- 33 : CHMURZYNSKA A, ZAJAC M, SWITONSKI M : Molecular evolution of the leptin exon 3 in some species of the family Canidae, *Genet. Sel. Evol.*, 2003, **35**(5), 573-580.
- 34 : CINTI S, MATTEIS RD, PICO C, CERESI E, OBRADOR A, MAFFEIS C, OLIVER J, PALOU A : Secretory granules of endocrine and chief cells of human stomach mucosa contain leptin, *Inter. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2000, **24**(6), 789-793.
- 35 : CLEARY MP, JUNEJA SC, PHILLIPS FC, HU X, GRANDE JP, MAIHLE NJ : Leptin receptor-deficient MMTV-TGF $\alpha$ /Lepr<sup>db</sup>Lepr<sup>db</sup> female mice do not develop oncogen-induced mammary tumors, *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, 2004, **229**(2), 182-193.
- 36 : COHEN P, MIYAKASI M, SOCCI ND, HAGGE-GREENBERG A, SOUKAS AA, SHARMA R, HUGGINS LC, NTAMBI JM, FRIEDMAN JM : Role for Stearoyl-CoA desaturase 1 in leptin mediated weight loss, *Science.*, 2002, **297**(5579), 240-243.
- 37 : COHEN MM : Role of leptin in regulation appetite, neuroendocrine function, and bone remodelling, *Am. J. Med. Genet. A.*, 2006, **140**(5), 515-524.
- 38 : COMBARNOUS Y : Biochimie des communications cellulaires, 2<sup>e</sup> édition, Lavoisier TEC et DOC, 1996.
- 39 : COUTURIER C, JOCKERS R : Activation of the leptin receptor by a ligand-induced conformational change of constitutive receptor dimmers, *J. Biol. Chem.*, 2003, **278**(29), 26604-26611.
- 40 : COWLEY MA, SMART JL, RUBINSTEIN M, CERDAN MG, DIANO S, HORVATH TL, CONE RD, LOW MJ : Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus, *Nature*, 2001, **411**(6836), 480-484.
- 41 : CUMIN F, BAUM HP, LEVENS N : Leptin is cleared from the circulation primarily by the kidney, *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 1996, **20**(12), 1120-1126.
- 42 : CUMIN F, BAUM HP, LEVENS N : Mechanism of leptin removal from the circulation by kidney, *J. Endocrinol.*, 1997, **155**(3), 577-585.

- 43: CUMIN F, BAUM HP, DE GASPARO M, LEVENS N : Removal of endogenous leptin from the circulation by the kidney, *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 1997, **21**(6), 495-501.
- 44 : DE ROSA V, PROCACCINI C, CALI G, PIROZZI G, FONTANA S, ZAPPACOSTA S, LA CAVA A, MATARESE G : A key role of leptin in the control of regulatory T cell proliferation, *Immunity*, 2007, **26**(2), 241-255.
- 45 : DONAHOO WT, JENSEN DR, YOST TJ, ECKEL RH : Isoproterenol and somatostatin decrease plasma leptin in humans: a novel mechanism regulating leptin secretion, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1997, **82**(12), 4139–4143.
- 46 : DUNN SL, BJORNHOLM M, BATES SH, CHEN Z, SEIFERT M, MYERS MG : Feedback inhibition of leptin receptor/Jak2 signaling via Tyr<sub>1138</sub> of the leptin receptor and suppressor of cytokine signaling 3, *Mol. Endocrinol.*, 2005, **19**(4), 925-938.
- 47 : EYCKERMAN S, BROEKAERT D, VERHEE A, VANDEKERCKHOVE J, TAVERNIER J : Identification of the Y985 and Y1077 motifs as SOCS3 recruitment sites in the murine leptin receptor, *FEBS Lett.*, 2000, **486**(1), 33-37.
- 48 : FANTUZZI G, FAGGIONI R : Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis, *J. Leukoc. Biol.*, 2000, **68**(4), 437-446.
- 49 : FEI H, OKANO HJ, LI C, LEE GH, ZHAO C, DARNELL R, FRIEDMAN JM : Anatomic localization of alternatively spliced leptin receptors (Ob-R) in mouse brain and other tissues, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 1997, **94**(13), 7001–7005.
- 50 : FONG TM, HUANG RR, TOTA MR, MAO C, SMITH T, VARNERIN J, KARPITSKIY VV, KRAUSE JE, VAN DER PLOEG LH : Localization of leptin binding domain in the leptin receptor, *Mol. Pharmacol.*, 1998, **53**(2), 234-40.
- 51 : FRUHBECK G : Intracellular signalling pathways activated by leptin, *Biochem. J.*, 2006, **393**(Pt 1), 7-20.
- 52 : GAMBA M, PRALONG FP : Control of GnRH neuronal activity by metabolic factors: The role of leptin and insulin, *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2006, **254-255**, 133-139.
- 53 : GAROFALO C, SURMACZ E : Leptin and cancer, *J. Cell. Physiol.*, 2006, **207**, 12-22.
- 54 : GAUCHER EA, MIYAMOTO MM, BENNER SA : Evolutionary, structural and biochemical evidence for a new interaction site of the leptin obesity protein, *Genetics*, 2003, **163**(4), 1549-1553.
- 55 : GEFFROY S, DE VOS P, STAELS B, DUBAN B, AUWERX J, DE MARTINVILLE B : Localization of the human *ob* gene at chromosome 7q32, *Genomics*, 1995, **28**(3), 603-604.
- 56 : GONG DW, BI S, PRATLEY RE, WEINTRAUB BD : Genomic structure and promoter analysis of the human *obese* gene, *J. Biol. Chem.*, 1996, **271**(8), 3971-3974.

- 57 : GOODWIN PJ, ENNIS M, FANTUS IG, PRITCHARD KI, TRUDEAU ME, KOO J, HOOD N : Is leptin a mediator of adverse prognosis effects of obesity in breast cancer ? *J. Clin. Oncol.*, 2005, **23**(25), 6037-6042.
- 58 : GUALILLO O, LAGO F, GARCIA M, MENENDEZ C, SENARIS R, CASANUEVA FF, DIEGUEZ C : Prolactin stimulates leptin secretion by rat white adipose tissue, *Endocrinology*, 1999, **140**(11), 5149-5153.
- 59 : GUESNET P, DEMARNE Y : La régulation de la lipogenèse et de la lipolyse chez les mammifères, Editions INRA, Lavoisier TEC et DOC, 1987.
- 60 : GUILMEAU S, BUYSE M, BADO A, TSOCCAS A, LAIGNEAU JP : Duodenal leptin stimulates cholecystokinin secretion: evidence of a positive leptin-cholecystokinin feedback loop, *Diabetes*, 2003, **52**(7), 1664-1672.
- 61 : GUILMEAU S, BUYSE M, BADO A : Gastric leptin: a new manager of gastrointestinal function, *Curr. Opin. Pharmacol.*, 2004, **4**(6), 561-566.
- 62 : HALAAS JL, GAJIWALA KS, MAFFEI M, COHEN SL, CHAIT BT, RABINOWITZ D, LALLONE RL, BURLEY SK, FRIEDMAN JM : Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene, *Science*, 1995, **269**(5223), 543-546.
- 63 : HALUSIK M, HALUSIKOVA D : The role of resistin in obesity-induced insulin resistance, *Curr. Opin. Investig. Drugs*, 2006, **7**(4), 306-311.
- 64 : HAUGUEL-DE MOUZON S, LEPERCQ J, CATALANO P : The known and the unknown of leptin in pregnancy, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2006, **194**(6), 1537-45.
- 65 : HE Y, CHEN H, QUON MJ, REITMAN M : The mouse obese gene: genomic organization, promoter activity, and activation by CCAAT/enhancer-binding protein, *J. Biol. Chem.*, 1995, **270**(48), 28887-28891.
- 66 : HEIMAN ML, AHIMA RS, CRAFT LS, SCHONER B, STEPHENS TW, FLIER JS : Leptin inhibition of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in response to stress, *Endocrinology*, 1997, **138**(9), 3859-3863.
- 67 : HEKERMAN P, ZEIDLER J, BAMBERG-LEMPER S, KNOBELSPIES H, LAVENS D, TAVERNIER J, JOOST HG, BECKER W : Pleiotropy of leptin receptor signalling is defined by distinct roles of the intracellular tyrosines, *FEBS J.*, 2005, **272**(1), 109-119.
- 68 : HENSON MC, CASTRACANE VD : Leptin in pregnancy : an update, *Biol. Reprod.*, 2006, **74**(2), 218-229.
- 69 : HESSEMENN M : La leptine chez le chien, Thèse d'exercice vétérinaire ENVN, Février 2002.
- 70 : HILEMAN SM, TORNOE J, FLIER JS, BJORBAEK C : Transcellular transport of leptin by the short leptin receptor isoform ObRa in madin-darby canine kidney cells, *Endocrinology*, 2000, **141**(6), 1955-1961.

- 71 : HILL RA, MARGETIC S, PEGG GG, GAZZOLA C : Leptin: its pharmacokinetics and tissue distribution, *Inter. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 1998, **22**(8), 765-770.
- 72 : HOUSEKNECHT KL, MANTZOROS CS, KULIAWAT R, HADRO E, FLIER JS, KAHN BB : Evidence for leptin binding to proteins in serum of rodents and humans: modulation with obesity, *Diabetes*, 1996, **45**(11),1638-1643.
- 73 : HOUSEKNECHT KL, PORTOCARRERO CP, JI S, LEMENAGER R, SPURLOCK ME : Growth hormone regulates leptin gene expression in bovine adipose tissue : correlation with adipose IGF-1 expression, *J. Endocrinol.*, 2000, **164**(1), 51-57.
- 74 : HUANG Q, TIMOFEEVA E, RICHARD D : Regulation of corticotropin-releasing factor and its types 1 and 2 receptors by leptin in rats subjected to treadmill running-induced stress, *J. Endocrinol.*, 2006, **191**(1), 179-188.
- 75 : IMAGAWA K, NUMATA Y, KATSUURA G, SAKAGUCHI I, MORITA A, KIKUOKA S, MATUMOTO Y, TSUJI T, TAMAKI M, SASAKURA K, TERAOKA H, HOSODA K, OGAWA Y, NAKAO K : Structure-function studies of human leptin, *J. Biol. Chem.*, 1998, **273**(52), 35245-35249.
- 76 : ISHIOKA K, SOLIMAN MM, SHIBATA H, HONJOH T, KIMURA K, SAITO M : Dexamethasone increases serum leptin concentration in dogs, *Vet. J.*, 2002, **164**(3), 295-297.
- 77 : ISHIOKA K, SOLIMAN MM, SAGAWA M, NAKAMODO F, SHIBATA H, HONJOH T, HASHIMOTO A, KITAMURA H, KIMURA K, SAITO M : Experimental and clinical studies on plasma leptin in obese dogs, *J. Vet. Med. Sci.*, 2002, **64**(4), 349-353.
- 78 : ISHIOKA K, HATAI H, KOMABAYASHI K, SOLIMAN MM, SHIBATA H, HONJOH T, KIMURA K, SAITO M : Diurnal variations of serum leptin in dogs : effects of fasting and re-feeding, *Vet. J.*, 2005, **169**(1), 85-90.
- 79 : ISHIOKA K., HOSOYA K, KITAGAWA H, SHIBATA H, HONJOH T, KIMURA K, SAITO M : Plasma leptin concentration in dogs: effects of body condition score, age, gender and breeds, *Res. Vet. Sci.*, 2007, **82**(1), 11-15.
- 80 : ISSE N, OGAWA Y, TAMURA N, MASUSAKI H, MORI K, OKAZAKI T, SATOH N, SHIGEMOTO M, YOSHIMASA Y, NISHI S : Structural organization and chromosomal assignment of human *obese* gene. *J. Biol. Chem.*, 1995, **270**(46), 27728-27733.
- 81 : IWASE M, KIMURA K, SASAKI N, KOMAGOME R, ISHIOKA K, HONJOH T, SAITO M ; Sandwich enzyme-linked immunosorbent assay of canine leptin. *J. Vet. Med. Sci.*, 2000, **62**(2), 207-209.
- 82 : IWASE M, KIMURA K, SASAKI N, KOMAGOME R, ISHIOKA K, MORIMATSU M, MURAKAMI T, SAITO M : Canine leptin: cDNA cloning, expression and activity of recombinant protein, *Res. Vet. Sci.*, 2000, **68**(2), 109-114.
- 83 : JEUSETTE IC, DETILLEUX J, SHIBATA H, SAITO M, HONJOH T, DELOBEL A, ISTASSE L, DIEZ M : Effects of chronic obesity and weight loss on plasma ghrelin and leptin concentrations in dogs, *Res. Vet. Sci.*, 2005, **79**(2), 169-175.

- 84 : JIN L, ZHANG S, BURGUERA BG, COUCE ME, OSAMURA RY, KULIG E, LLOYD RV : Leptin and leptin receptor expression in rat and mouse pituitary cells, *Endocrinology*, 2000, **141**(1), 333-339.
- 85 : KIEFFER TJ, HABENER JF : The adipoinsular axis : effects of leptin on pancreatic  $\beta$ -cells, *Am. J. Endocrinol. Metab.*, 2000, **278**(1), E1-E14.
- 86 : KNUDSON JD, DINCER UD, ZHANG C, SWAFFORD AN, KOSHIDA R, PICCHI A, FOCARDI M, DICK GM, TUNE JD : Leptin receptors are expressed in coronary arteries, and hyperleptinemia causes significant coronary endothelial dysfunction, *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.*, 2005, **289**(1), H48-H56.
- 87 : KOSAKI A, YAMADA K, KUZUYA H : Reduced expression of the leptin gene (*ob*) by catecholamine through a G(S) protein-coupled pathway in 3T3-L1 adipocytes, *Diabetes*, 1996, **45**(12),1744-1749.
- 88 : KUMANO S, MATSUMOTO H, TAKATSU Y, NOGUSHI J, KITADA C, OHATAKI T : Changes in hypothalamic expression levels of galanin-like peptide in rat and mouse models Support that it is a leptin-target peptide, *Endocrinology*, 2003, **144**(6), 2634-2643.
- 89 : LANDT M : Leptin binding and binding capacity in serum, *Clin. Chem.*, 2000, **46**(3), 379-384.
- 90 : LANDT M, HOROWITZ JF, COPPACK SW, KLEIN S : Effect of short-term fasting on free and bound leptin concentrations in lean and obese women, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001, **86**(8), 3768-3771.
- 91 : LANDT M, LUDBROOK PA, BILLADELLO JJ : Role of protein binding in renal elimination of leptin, *Clin. Endocrinol.*, 2003, **59**(1), 44-51
- 92 : LA PAGLIA N, STEINER J, KIRSTEINS L, EMANUELE M, EMANUELE N : Leptin alters the response of the growth hormone releasing factor–growth hormone–insulin-like growth factor-I axis to fasting, *J. Endocrinol.*, 1998, **159**(1), 79–83.
- 93 : LEE GH, PROENCA R, MONTEZ JM, CARROLL KM, DARVISHZADEH JG, LEE JI, FRIEDMAN JM : Abnormal splicing of the leptin receptor I diabetic mouse, *Nature*, 1996, **379**(6566), 632-635.
- 94 : LEWIN B : Genes VII, Oxford university, Press 2000.
- 95 : LI H, MATHENY M, NICOLSON M, TUMER N, SCARPACE PJ : Leptin gene expression increases with age independent of increasing adiposity in rats, *Diabetes*, 1997, **46**(12), 2035-2039.
- 96 : LI H, MATHENY M, SCARPACE PJ :  $\beta_3$ -Adrenergic-mediated suppression of leptin gene expression in rats. *Am. J. Physiol.*, 1997, **272**(6 Pt 1), E1031–E1036.
- 97 : LICINIO J, CAGLAVAN S, OZATA M, YILDIZ BO, DE MIRANDA PB, O'KIRWAN F, WHITBY R, LIANG L, COHEN P, BHASIN S, KRAUSS RM, VELDHUIS JD, WAGNER AJ, DEPAOLI AM, McCANN SM, WONG ML : Phenotypic effects of leptin

replacement on morbid obesity, diabetes mellitus, hypogonadism, and behaviour in leptin-deficient adults, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, **101**(3), 4531-4536.

98 : LIN KC, SAGAWA N, YURA S, ITOH H, FUJII S : Simultaneous increases of leptin and gonadotropin-releasing hormone following exogenous estrogen administration in women with normally menstrual cycle, *Endocr. J.*, 2005, **52**(4), 449-454.

99 : LINCO RESEARCH, Multi-species leptin RIA kit protocol, Date de révision : 9/26/05.

100 : LOLMEDE K, DURAND DE SAINT FRONT V, GALITZKI J, LAFONTAN M, BOULOUMIE A : Effects of hypoxia on the expression of proangiogenic factors in differentiated 3T3-F442A adipocytes, *Inter. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2003, **27**(10), 1187-1195.

101 : LUQUE RM, HUANG ZH, SHAH B, MAZZONE T, KINEMAN RD : Effects of leptin replacement on hypothalamic-pituitary growth hormone axis function and circulating ghrelin levels in ob/ob mice, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2007, **292**(3), E891-E899.

102 : MC GREEVY PD, THOMSON PC, PRIDE C, FAWCETT A, GRASSI T, JONES B : Prevalence of obesity in dogs examined by Australian veterinary practices and the risk factors involved, *Vet. Rec.*, 2005, **156**(22), 695-702.

103 : MACHINAL F, DIEUDONNE MN, LENEVEU MC, PECQUERY R, GIUDICELLI Y : *In vivo* and *in vitro* ob gene expression and leptin secretion in rat adipocytes: evidence for a regional specific regulation by sex steroid hormones, *Endocrinology*, 1999, **140**(4), 1567-1574.

104 : MARGETIC S, GAZZOLA C, PEGG GG, HILL RA : Leptin : a review of its peripheral actions and interactions, *Int. J. Obes. Metab. Disord.*, 2002, **26**(11), 1407-1433.

105 : MARZULLO P, BUCKWAY C, PRATT KL, COLAO A, GUEVARA-AGUIRRE J, ROSENFELD RG : Leptin concentrations in GH deficiency : the effect of GH insensitivity, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002, **87**(2), 540-545.

106 : MASUZAKI H, OGAWA Y, SAGAWA N, HOSODA K, MATSUMOTO T, MISE H, NISHIMURA H, YOSHIMASA Y, TANAKA I, MORI T, NAKAO K : Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans, *Nature Med.*, 1997, **3**(9), 1029-1033.

107 : MATARESE G, SANNA V, FONTANA S, ZAPPACOSTA S : Leptin as a novel therapeutic target for immune intervention, *Curr. Drug. Targets Inflamm. Allergy.*, 2002, **1**(1), 13-22.

108 : MATARESE G, MOSCHOS S, MANTZOROS CS : Leptin in immunology, *J. Immunol.*, 2005, **174**(6), 3137-3142.

109 : MERCER JG, HOGGARD N, WILLIAMS LM, LAWRENCE CB, HANNAH LT, TRAYHURN P : Localization of leptin receptor mRNA and the long form splice variant (Ob-Rb) in mouse hypothalamus and adjacent brain regions by in situ hybridization, *FEBS Lett.* 1996, **387**(2-3), 113-6.

- 110 : MILLER SG, DEVOS P, GUERRE-MILLO M, WONG K, HERMANN T, STAELS B, BRIGGS MR, AUWERX J : The adipocyte specific transcription factor C/EBPalpha modulates human ob gene expression, *Proc. Natl. Acad. Sci*, 1996, **93**(11), 5507-5511.
- 111 : MONNEREAU L : Cours polycopiés d'anatomie du système nerveux, Département des sciences biologiques et fonctionnelles, ENVT, 2004.
- 112 : MORENO-ALIAGA MJ, MARTINEZ JA, STANHOPE KL, FERNANDEZ-OTERO MP, HAVEL PJ : Effects of Trecadrine®, a  $\beta$ 3-adrenergic agonist, on leptin secretion, glucose and lipid metabolism in isolated rat adipocytes, *Int. J. Obes. Metab. Disord.*, 2002, **26**(7), 912-919.
- 113 : NISHII N, TAKASU M, OHBA Y, MAEDA S, KITO H, OHTSUKA Y, HONJO T, SAITO M, KITAGAWA H : Effects of administration of glucocorticoids and feeding status on plasma leptin concentrations in dogs, *Am. J. Vet. Res.*, 2006, **67**(2), 266-270.
- 114 : NISHII N, NODAKE H, TAKASU M, SOE O, OHBA Y, MAEDA S, OHTSUKA Y, HONJO T, SAITO M, KITAGAWA H : Postprandial changes in leptin concentration of cerebrospinal fluid in dogs during development of obesity, *Am. J. Vet. Res.*, 2006, **67**(12), 2006-2011.
- 115 : NIV-SPECTOR L, GONEN-BERGER D, GOURDOU I, BIENER E, GUSSAKOVSKI EE, BENOMAR Y, RAMANUJAN KV, TAOUIS M, HERMAN B, CALLEBAUT I, DJIANE J, GERTLER A : Identification of the hydrophobic strand in the A-B loop of leptin as major binding site III: implications for large-scale preparation of potent recombinant human and ovine leptin antagonist, *Biochem. J.*, 2005, **391**(Pt 2), 221-230.
- 116 : ORAL EA, SIMHA V, RUIZ E, ANDEWELT A, PREMKUMAR A, SNELL P, WAGNER AJ, DE PAOLI AM, REITMAN ML, TAYLOR SI, GORDEN P, GARG A : Leptin replacement therapy for lipodystrophy, *N. Engl. J. Med.*, 2002, **346**(8), 570-578.
- 117 : OTERO M, LAGO R, GOMEZ R, DIEGUEZ C, LAGO F, GOMEZ-REINO J, GUALILLO O : Towards a proinflammatory and immunomodulatory role of leptin, *Rheumatology*, 2006, **45**(8), 944-950.
- 118 : PEELMAN F, VAN BENEDEN K, ZABEAU L, ISERENTANT H, ULRICHTS P, DEFEAU D, VERHEE A, CATTEEUW D, ELEWAUT D, TAVERNIER J : Mapping of the leptin Binding sites and design of a leptin antagonist, *J. Biol. Chem.*, 2004, **279**(39), 41038-41046.
- 119 : PEELMAN F, ISERENTANT H, VANDEKERCKHOVE J, DEFEAU D, ZABEAU L, TAVERNIER J : Mapping of the interface between leptin and the leptin receptor CRH2 domain, *J. Cell Sci.*, 2005, **118**, 2519-2527.
- 120 : PEELMAN F, ISERENTANT H, DE SMET AS, VANDEKERCKHOVE J, ZABEAU L, TAVERNIER J : Mapping of binding site III in the leptin receptor and modeling of a hexameric leptin-leptin receptor complex, *J. Biol. Chem.*, 2006, **281**(22), 15496-15504.

- 121 : PEELMAN F, COUTURIER C, DAM J, ZABEAU L, TAVERNIER J : Techniques : new pharmacological perspectives for the leptin receptor, *Trends Pharmacol. Sci.*, 2006, **27**(4), 218-225.
- 122 : PETERS JH, SIMASKO SM, RITTER RC : Modulation of vagal afferent excitation and reduction of food intake by leptin and cholecystokinin, *Physiol. Behav.*, 2006, **89**(4), 477-485.
- 123 : PISSIOS P, BRADLEY RL, MARATOS-FLIER E : Expanding the Scales: The multiple roles of MCH in regulating energy balance and other biological functions, *Endocr. Rev.*, 2006, **27**(6), 606-620.
- 124 : POGODA P, EGERMANN M, SCHNELL JC, PRIEMEL M, SCHILLING AF, ALINI M, SCHINKE T, RUEGER JM, SCHNEIDER E, CLARKE I, AMLING M : Leptin inhibits bone formation not only in rodents, but also in sheep, *J. Bone Miner. Res.*, 2006, **21**(10), 1591-1599.
- 125 : POPA C, NETEA MG, RADSTAKE TR, VAN RIEL PL, BARRERA P, VAN DER MEER JW : Markers of inflammation are negatively correlated with serum leptin in rheumatoid arthritis, *Ann. Rheum. Dis.* 2005, **64**(8), 1195-1198.
- 126 : POPOVIC V., DUNTAS LH : Leptin, TRH and ghrelin: influence on energy homeostasis at rest and during exercise, *Horm. Metab. Res.*, 2005, **37**(9), 533-537.
- 127 : RADETTI G, TINELLI C, PAGANINI C, DRAGHI M, SCARCELLA D, BOZZOLA E, AIMARETTI G, RONDINI G, TATO L : Serum leptin levels are not influenced by arginine and insulin infusion and by acute changes of GH, *J. Endocrinol. Invest.*, 2002, **25**(9), 769-72.
- 128 : RAHMOUNI K, HAYNES WG : Leptin and the cardiovascular system, *Recent. Progr. Horm. Res.*, 2004, **59**, 225-244.
- 129 : RAUGHT B, GINGRAS AC, SONENBERG N : The target of rapamycin (TOR) proteins, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 2001, **98**(13), 7037-7044.
- 130 : RICE AM, FAIN JN, RIVKEES SA : A1 adenosine receptor activation increases adipocyte leptin secretion, *Endocrinology*, 2000, **141**(4), 1442-1445.
- 131 : RICHARDS MP, CAPERNA TJ, ELSASSER TH, ASHWELL CM, MC MURTRY JP : Design and application of a polyclonal peptide antiserum for the universal detection of leptin protein, *J. Biochem. Biophys. Methods.*, 2000, **45**(2), 147-156.
- 132 : ROH C, HAN J, ZATSOS A, KANDROR KV : Nutrient-sensing mTOR-mediated pathway regulates leptin production in isolated rat adipocytes, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2003, **284**(2), E322-E330.
- 133 : ROHDE J, HEITMAN J, CARDENAS ME : The TOR kinases link nutrient sensing to cell growth, *J. Biol. Chem.*, 2001, **276**(13), 9583-9586.
- 134 : SAAD MF, DAMANI S, GINGERICH RL, RIAD-GABRIEL MG, KHAN A, BOYADJIAN R, JINAGOUDA SD, EL-TAWIL K, RUDE RK, KAMDAR V : Sexual



dimorphism in plasma leptin concentration, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1997, **82**(2), 579–584.

135 : SAGAWA MM, NAKAMODO F, HONJOH T, ISHIOKA K, SAITO M : Correlation between plasma leptin concentration and body fat content in dogs, *Am. J. Vet. Res.*, 2002, **63**(1), 7-10.

136 : SAHU A : Leptin decreases food intake induced by melanin-concentrating hormone (MCH), galanin (GAL) and neuropeptide Y (NPY) in the rat, *Endocrinology*, 1998, **139**, 4739–4742.

137 : SAHU A : Minireview: a hypothalamic role in energy balance with special emphasis on leptin, *Endocrinology*, 2004, **145**(6), 2613-2620.

138 : SANDOWSKI Y, RAVER N, GUSSAKOVSKY EE, SHOCHAT S, DYM O, LIVNAH O, RUBINSTEIN M, KRISHNA R, GERTLER A : Subcloning, expression, purification, and characterization of recombinant human leptin-binding domain, *J. Biol. Chem.*, 2002, **277**(48), 46304-46309.

139 : SANNA V, DI GIACOMO A, LA CAVA A, LECHLER RI, FONTANA S, ZAPPACOSTA S, MATERESE G : Leptin surge precedes onset of autoimmune encephalomyelitis and correlates with development of pathogenic T cell responses, *J. Clin. Invest.*, 2003, **111**(2), 241-250.

140 : SARRAF P, FREDERICH RC, TURNER EM, MA G, JASKOWIAK NT, RIVET DJ, FLIER JS, LOWELL BB, FRAKER DL, ALEXANDER HR : Multiple cytokines and acute inflammation raise mouse leptin levels: potential role in inflammatory anorexia, *J. Exp. Med.*, 1997, **185**(1), 171-176.

141 : SASAKI N, SHIBATA H, HONJOH T, KIMURA K, SAITO M, OHISHI I : cDNA cloning of feline leptin and its mRNA expression in adipose tissue, *J. Vet. Med. Sci.* 2001, **63**(10), 1115-1120.

142 : SCHNEIDER JE : Energy balance and reproduction, *Physiol. Behav.*, 2004, **81**(2), 289-317.

143 : SCHLZE PC, KRATZSCH J : Leptin as a new diagnostic tool in chronic heart failure, *Clin. Chim. Acta.*, 2005, **362**(1-2), 1-11.

144 : SCRIBA D, APRATH-HUSMANN I, BLUM WF, HAUNER H : Catecholamines suppress leptin release from in vitro differentiated subcutaneous human adipocytes in primary culture via beta1- and beta2-adrenergic receptors, *Eur. J. Endocrinol.*, 2000, **143**(3), 439-45.

145 : SEUFERT J : Leptin effects on pancreatic  $\beta$ -cell gene expression and function, *Diabetes*, 2004, **53**(suppl. 1), 152-158.

146 : SHALEV A, VOSMEER S, KELLER U : Absence of short-term effects of glucagon-like peptide-1 and of hyperglycemia on plasma leptin levels in man, *Metabolism.*, 1997, **46**(7), 723-725.

- 147 : SHIBATA H, SASAKI N, HONJOH T, OHISHI I, TAKIGUCHI M, ISHIOKA K, AHMED M, SOLIMAN M, KIMURA K, SAITO M : Feline leptin : immunogenic and biological activities of the recombinant protein and its measurement by ELISA, *J. Vet. Med. Sci.*, 2003, **65**(11), 1207-1211.
- 148 : SHIGEMURA N, MIURA H, KUSAKABE Y, HINO A, NINOMIYA Y : Expression of leptin receptor (Ob-R) isoforms and signal transducers and activators of transcription (STATs) mRNAs in the mouse taste buds, *Arch. Histol. Cytol.*, 2003, **66**(3), 253-260.
- 149 : SIERRA-HONIGMANN MR, NATH AK, MURAKAMI C, GARCIA-CARDENA G, PAPAPETROPOULOS A, SESSA WC, MAGDE LA, SCHECHNER JS, SCHWABB MB, POLVERINI PJ, FLORES-RIVEROS JR : Biological action of leptin as an angiogenic factor, *Science.*, 1998, **281**(5583),1683-1686.
- 150 : SINHA MK, OPENTANOVA I, OHANNESSIAN JP, KOLACZYNSKI JW, HEIMAN ML, HALE J, BECKER GW, BOWSER RR, STEPHENS TW, CARO JF : Evidence of free and bound leptin in human circulation studies in lean and obese subjects and during short-term fasting, *J. Clin. Invest.*, 1996, **98**(6),1277-1282.
- 151 : SITARAMAN S, LIU X, CHARRIER L, GU LH, ZIEGLER TR, GEWIRTZ A, MERLIN D : Colonic leptin: source of a novel proinflammatory cytokine involved in IBD, *FASEB J.*, 2004, **18**(6), 696-698.
- 152 : SLIEKER LJ, SLOOP KW, SURFACE PL, KRIAUCIUNAS A, LAQUIER F, MANETTA J, BUE-VALLESKEY J, STEPHENS TW : Regulation of Expression of *ob* mRNA and Protein by Glucocorticoids and cAMP, *J. Biol. Chem.*, 1996, **271**(10), 5301-5304.
- 153 : SMITH JT, WADDELL BJ : Leptin receptor expression in the rat placenta: changes in ob-ra, ob-rb, and ob-re with gestational age and suppression by glucocorticoids, *Biol. Reprod.*, 2002, **67**(4), 1204-1210.
- 154 : SMITH JT, MARK PJ, WADDELL BJ : Developmental increases in plasma leptin binding activity and tissue Ob-Re mRNA expression in the rat, *J. Endocrinol.*, 2005, **184**(3), 535-541.
- 155 : SOBHANI I, BADO A, VISSUZAINÉ C, BUYSE M, KERMORGANT S, LAIGNEAU JP, ATTOUB S, LEHY T, HENIN D, MIGNON M, LEWIN MJ : Leptin secretion and leptin receptor in the human stomach, *Gut*, 2000, **47**(2), 178-83.
- 156 : SOBHANI I, BUYSE M, GOIOT H, WEBER N, LAIGNEAU JP, HENIN D, SOUL JC, BADO A : Vagal stimulation rapidly increases leptin secretion in human stomach, *Gastroenterology*, 2002, **122**(2), 259-263.
- 157 : SORACE M, TRIPODI L, TRIPODI A, GROPPETTI D, CREMONESI F : Leptin : pharmacological aspects in gynecology, *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.*, 2006, **33**(2), 113-116.

- 158 : SWEENEY G : Leptin signalling, *Cell. Signal.*, 2002, **14**(8), 655-663.
- 159 : TANAKA M, NAKAYA S, KUMAI T, WATANABE M, TATEISHI T, SHIMIZU H, KOBAYASHI S : Effects of estrogen on serum leptin levels and leptin mRNA expression in adipose tissue in rats, *Horm. Res.*, 2001, **56**(3-4), 98-104.
- 160 : TARTAGLIA LA, DEMBSKI M, WENG X, DENG N, CULPEPPER J, DEVOS R, RICHARDS GJ, CAMPFIELD LA, CLARK FT, DEEDS J, MUIR C, SANKER S, MORIARTY A, MOORE KJ, SMUTKO JS, MAYS GG, WOOL EA, MONROE CA, TEPPER RI : Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R, *Cell.*, 1995, **83**(7), 1263-1271.
- 161 : TARTAGLIA LA : The leptin receptor, *J. Biol. Chem.*, 1997, **272**(10), 6093-6096.
- 162 : TRAYHURN P, DUNCAN JS, RAYNER DV : Acute cold-induced suppression of ob (obese) gene expression in white adipose tissue of mice: mediation by the sympathetic system, *Biochem. J.*, 1995, **311**, 729-733.
- 163 : TRUJILLO ME, LEE MJ, SULLIVAN S, FENG J, SCHNEIDER SH, GREENBERG AS, FRIED SK, TNF $\alpha$  and glucocorticoid synergistically increase leptin production in human adipose tissue – Role for p38 MAPK, *J. Clin. Endocrin. Metab.*, 2006, **91**(4), 1484-1490.
- 164 : VALET P : Communication personnelle, Unité de recherche sur les obésités, INSERM - UPS U586.
- 165 : WATANOBE H, HABU S : Leptin regulates growth hormone-releasing factor, somatostatin, and  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone but not neuropeptide Y release in rat hypothalamus in vivo: relation with growth hormone secretion, *J. Neurosci.*, 2002, **22**(14), 6265-6271.
- 166 : WANG J, LIU R, HAWKINS M, BARZILAI N, ROSSETTI L : A nutrient-sensing pathway regulates leptin gene expression in muscle and fat, *Nature*, 1998, **393**(6686), 684-688.
- 167 : WANG MY, ZHOU YT, NEWGARD CB, UNGER RH : A novel leptin receptor isoform in rat, *FEBS Lett.*, 1996, **392**(2), 87-90.
- 168 : WEETH LP, FASCETTI AJ, KASS PH, SUTER SE, SANTOS AM, DELANAY SJ : Prevalence of obese dogs in a population of dogs with cancer, *Am. J. Vet. Res.*, 2007, **68**(4), 389-398.
- 169 : WOLFSHEIMER KJ : Obesity in dogs, *The Compendium*, 1994, **16**(8), 981-998.
- 170 : WONG SL, DE PAOLI AM, LEE JH, MANTZOROS CS : 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), 2672-2677.
- 171 : XIONG Y, MIYAMOTO N, SHIBATA K, VALASEK MA, MOTOIKE T, KEDZIERDKI RM, YANAGISAWA M : Short-chain fatty acids stimulate leptin

production in adipocytes through the G protein-coupled receptor GPR41, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, 2004, **101**(4), 1045–1050.

172 : YILDIZ BO, HAZNEDAROGLU IC : Rethinking leptin and insulin action: therapeutic opportunities for diabetes, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2006, **38**(5-6), 820-830.

173 : YILMAZ Z, ILCOL YO, GOLCU E : Serum leptin and ghrelin levels in response to methylprednisolone injection in healthy dogs, *Res. Vet Sci.*, 2007, **82**(2), 187-194.

174 : ZABEAU L, LAVENS D, PEELMAN F, EYCKERMAN S, VANDEKERCKHOVE J, TAVERNIER J : The ins and outs of leptin receptor activation, *FEBS Lett*, 2003, **546**(1), 45-50.

175 : ZABEAU L, DEFEAU D, VAN DER HEYDEN J, ISERENTANT H, VANDEKERCKHOVE J, TAVERNIER J : Functional analysis of leptin receptor activation using a Janus kinase/signal transducer and activator of transcription complementation assay, *Mol. Endocrinol.*, 2004, **18**(1), 150-161.

176 : ZABEAU L, DEFEAU D, ISERENTANT H, VANDEKERCKHOVE J, TAVERNIER J, PEELMAN F : Leptin receptor activation depends on critical cysteine residues in its fibronectin type III subdomains, *J. Biol. Chem*, 2005, **280**(24), 22632-22640.

177 : ZENG J, PATTERSON BW, KLEIN S, MARTIN DR, DAGOGO-JACK S, KOHRT WM, MILLER SB, LANDT M : Whole body leptin kinetics and renal metabolism *in vivo*, *Am. J. Physiol.*, 1997, **273**(6Pt1), E1102-E1106.

178 : ZHANG P, KLENK ES, LAZZARO MA, WILLIAMS LB, CONSIDINE RV : Hexosamines regulate leptin production in 3T3-L1 adipocytes through transcriptional mechanisms, *Endocrinology*, 2002, **143**(1), 99–106.

179 : ZHANG Y, PROENCA R, MAFFEI M, BARONE M, LEOPOLD L, FRIEDMAN JM : Positional cloning of the mouse *obese* gene and its human homologue, *Nature*, 1994, **372**(6505), 425-431.

180 : ZHANG F, BASINSKI MB, BEALS JM, BRIGGS SL, CHURGAY LM, CLAWSON DK, DI MARCHI RD, FURMAN TC, HALE JE, HSIUNG HM, SCHONER BE, SMITH DP, ZHANG XY, WERY JP, SCHEVITZ RW : Crystal structure of the obese protein leptin-E100, *Nature*, 1997, **387**(6629), 206-209.

181 : ZHANG Y, SCARPACE PJ : The role of leptin in leptin resistance and obesity, *Physiol. Behav.*, 2006, **88**(3), 249-256.

182 : ZLOKOVIC BV, JOVANIC S, MIAO W, SAMARA S, VERMA S, FARELL CL : 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 fluid barrier, *Endocrinology*, 2000, **141**(4), 1434-1441.

183 : ZORAN DL : The carnivore connection to nutrition in cats, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 2002, **221**(11), 1559-1567.

Toulouse, 2007

NOM : FAURE

PRENOM : Bénédicte

TITRE : Contribution à l'étude bibliographique de la leptine chez les carnivores domestiques.

RESUME :

La leptine est une hormone polypeptidique polaire de 146 acides  $\alpha$  aminés découverte en 1994 par Zhang *et al.* Treize ans après, cette étude fait la synthèse des connaissances établies sur cette hormone. La leptine est sécrétée principalement par les adipocytes en fonction des réserves adipeuses et de la balance énergétique. Son rôle principal est de réguler les apports et les dépenses de l'organisme afin de garantir l'homéostasie énergétique. Chez l'homme, elle participe à la régulation centrale de la prise alimentaire, des axes thyroïdiens, gonadotropes et corticotropes par son action directe au niveau de l'hypothalamus, et au contrôle de la mobilisation, de l'utilisation et du stockage des réserves en agissant au niveau des tissus adipeux et musculaire essentiellement. Elle joue également un rôle dans les réponses inflammatoires et immunes, la gestation et le métabolisme osseux. Le surpoids est associé à une hyperleptinémie qui participe à la progression de l'obésité en entraînant un phénomène de résistance centrale à l'hormone. Chez les carnivores domestiques, les rôles de la leptine ont été peu étudiés et une meilleure compréhension de son implication dans le métabolisme de ces animaux est nécessaire avant d'envisager des applications médicales en médecine vétérinaire. A ce jour les applications médicales se limitent à la correction des états de déficience en leptine chez l'homme.

MOTS-CLES : leptine, chien, chat, balance énergétique, obésité

ENGLISH TITLE : Contribution to the bibliographical study of leptin in dog and cat.

SUMMARY :

Leptin is a 146 amino acids polar hormone discovered in 1994 by Zhang *et al.* Thirteen years later, this study is a synthesis of the current knowledge of this hormone. Leptin is produced principally by adipocytes according to the body fat content and energy balance. Its main role is regulation of energy entry and expenditure, in order to insure energy homeostasis. In human, it acts in the hypothalamus to regulate food intake, thyrotropic, gonadotrophic and adrenal axis, and in muscle and adipose tissue to control mobilisation, utilisation and storage of fat stores. Furthermore it plays a role in immune and inflammatory responses, pregnancy and bone metabolism. Elevated levels of serum leptin in overweight patient cause leptin resistance which is involved in obesity progression. In companion animals, little information about leptin roles are available and a better understanding of leptin participation in these species metabolism is required to consider clinical applications in veterinary medicine. Currently clinical applications are restricted to leptin deficiency correction in human.

KEY WORDS : leptin, dog, cat, energy balance, obesity