

Leptine et gestation Encore une hormone placentaire ?

Depuis sa découverte en 1994 [1], de nombreux travaux suivis de près par *m/s* (n° 1, 1997, p. 99) [2, 3] ont montré que la leptine, protéine de 16 kDa, produite par le gène *ob* dans les adipocytes, exerce un rôle clef dans le contrôle du poids corporel en inhibant la prise alimentaire (hormone de la satiété) tout en activant la dépense énergétique. Toutefois, plusieurs observations chez les rongeurs et chez l'homme, indiquent que la leptine n'est pas étrangère à la fonction de reproduction. Outre l'hypothalamus (*m/s* n° 1, 1996, p. 117), une de ses cibles est d'ailleurs l'ovaire.

Chez la souris *ob/ob*, l'obésité est associée à la stérilité; l'administration de leptine lui permet non seulement de retrouver un poids normal mais restaure aussi la fertilité et partiellement la lactation. Le maintien de l'état gestationnel ne paraît pas, en revanche, affecté par l'absence de leptine. Dans l'espèce humaine on observe généralement une situation différente. L'expression du gène *OBESSE* et la production de leptine sont accrues chez les obèses, rendant compte d'un état de résistance à la leptine, ce qui suggère des altérations du mécanisme d'action de la protéine. Néanmoins, les dysfonctionnements du cycle menstruel et la stérilité, constatés chez ces sujets, permettaient d'émettre l'hypothèse de relations entre la leptine et des hormones plus spécifiques de la reproduction. Cela vient d'être vérifié à deux reprises: une anomalie du gène codant pour la leptine dans une famille était associée à l'absence de puberté chez tous les sujets homozygotes [4]; une mutation dans le récepteur de la leptine avait, à l'état homozygote, le même effet [5].

Plus récemment, un rôle de la leptine dans la gestation a été envisagé, principalement à partir de données décrivant l'augmentation de sa concentration dans le plasma périphérique maternel. La démarche a été de rechercher d'autres sites de production et d'action de cette protéine, en particulier au sein de l'unité fœto-placentaire. Ces études ont pour le moment été menées chez la souris, la ratte et la femme.

Leptine et gestation murines

• Chez la souris

Une augmentation importante des concentrations plasmatiques maternelles de leptine a été observée à partir de la mi-gestation [6]. Cette hyperleptinémie, maximale en fin de gestation, serait significative d'une situation de résistance chez la mère à l'action de la leptine au moment où les besoins nutritionnels du fœtus deviennent les plus intenses. Elle serait due à la liaison de la leptine à une protéine qui, purifiée et partiellement séquencée, révèle une identité de structure avec le domaine extracellulaire du récepteur de la leptine. Cette protéine correspondrait, en fait, à une isoforme soluble du récepteur Ob-Re, produite en quantité importante par le placenta en fin de gestation. La formation accrue du complexe leptine-protéine de liaison, conférant à la leptine une grande stabilité, serait seule responsable de l'état d'hyperleptinémie. En effet, par *Northern blot*, les transcrits du gène de la leptine n'ont été détectés ni dans le placenta ni dans les membranes fœtales et n'étaient pas augmentés dans le tissu adipeux maternel. Ces résultats contrastent

avec ceux d'une autre équipe [7] qui a mis en évidence chez la souris une présence notable des ARNm du gène de la leptine (RT-PCR et hybridation *in situ*) et de la protéine (*Western blot* et immunocytochimie) dans le placenta et dans un certain nombre de tissus chez le fœtus tels que les tissus cartilagineux et osseux. C'est avec les mêmes approches expérimentales que l'expression de récepteurs de la leptine dans le placenta et plusieurs tissus fœtaux a été observée chez la souris. Ce résultat conforte une étude précédente [8] dans laquelle était déjà suggéré un rôle important de la leptine dans le développement précoce du système hématopoïétique et la fonction de reproduction. Dans le placenta, la présence d'un transcrite de la forme courte du récepteur (Ob-Ra) impliqué dans le transport de la leptine et de celui de la forme longue du récepteur (Ob-Rb) qui appartient à la famille des récepteurs des cytokines et active la voie de transduction Jak-STAT (*m/s* n° 1, 1997, p. 99), renforce l'hypothèse du rôle de la leptine dans la croissance et le développement de l'unité fœto-placentaire [7]. Il serait maintenant intéressant de savoir quelles populations cellulaires sont, dans le placenta murin, responsables de ces régulations.

• Chez la ratte

Les concentrations plasmatiques maternelles de leptine augmentent avec la gestation mais, à la différence de la souris, ils ne font que doubler à l'approche du terme; une chute significative précède la parturition et est maintenue pendant la lactation. A l'exception du tissu adipeux maternel, dans lequel l'expression des

transcrits du gène de la leptine est plus élevée pendant la gestation et chute pendant la lactation, aucun transcrit n'a été identifié par *Northern blot* dans le placenta et la décidue [9]. En ce qui concerne les récepteurs de la leptine, leurs ARNm ont été détectés par hybridation *in situ* et RT/PCR semi-quantitative dans l'endomètre, le trophoblaste placentaire et, surtout, dans le myomètre où leur concentration s'accroît avec l'âge gestationnel et où les transcrits des isoformes Ob-Ra et Ob-Rc seraient majoritairement exprimés. En revanche, le transcrit de la forme longue Ob-Rb n'a pas été identifié dans le myomètre [10]. Ces résultats suggèrent une fonction possible de la leptine au moment de la parturition qui pourrait coïncider avec une réaction de satiété.

Leptine et gestation dans l'espèce humaine

• Leptine maternelle

La concentration de leptine dans la circulation maternelle périphérique s'élève modérément au cours des deux premiers trimestres (multipliée par 1,6 à 4 selon les études), reste à une valeur élevée et constante jusqu'au terme, diminuant au moment du post-partum, que la mère allaite ou non [11, 12]. Elle n'est pas corrélée au poids maternel [12, 13]. Exprimée par unité de masse adipeuse, elle reste plus élevée à 36 semaines de grossesse qu'au moment du post-partum, suggérant que d'autres facteurs que la masse adipeuse contrôlent l'expression du gène *OBESE* et la concentration plasmatique de leptine chez la femme enceinte [12]. L'association entre hyperinsulinémie et hyperleptinémie suggère une régulation par l'insuline du gène *OBESE* pendant la grossesse. Des expériences chez l'animal en dehors de la gestation soulignent toutefois la complexité des relations entre ces deux hormones (*m/s n° 2, 1998, p. 227*). La relation inverse observée entre les concentrations de leptine et de prolactine pendant l'allaitement ne permet pas d'exclure l'existence d'interactions au niveau de l'axe hypothalamo-hypophysaire maternel [12].

• Leptine fœtale

La leptine est également présente en fin de grossesse dans le liquide amniotique et le sang du cordon ombilical (veine et artères). Plusieurs équipes ont observé une corrélation positive entre le poids du nouveau-né ou celui du placenta et la concentration de leptine dans le sang du cordon [13-16]. En revanche, il n'apparaît pas de corrélation entre les concentrations plasmatiques de leptine maternelle et du nouveau-né [14], pas plus qu'avec le poids de ce dernier ou celui du placenta [13]. Ces résultats ont permis d'envisager que, dans l'espèce humaine, l'unité fœto-placentaire produirait sa propre leptine et que, dans cette fonction, elle semblerait faire preuve d'une certaine autonomie vis-à-vis de l'organisme maternel.

• Leptine placentaire

Dans les membranes fœtales, les cellules amniotiques sont un des sites de production de la leptine [11]. En 1995, une première étude a révélé que le gène *OBESE* est également exprimé par le placenta humain [17] ce qui a été confirmé depuis [11, 14, 18, 19]. Cependant, les résultats obtenus par ces équipes sont divergents quant au niveau du taux des ARNm placentaires comparé à celui du tissu adipeux. Cela peut être dû non seulement aux diverses approches expérimentales mais aussi au fait que les prélèvements sont effectués à des endroits différents du placenta dont on connaît la grande hétérogénéité structurale et fonctionnelle.

Une forte expression du gène *OBESE* est observée dans les villosités chorionales à la 8^e semaine de grossesse. Des expériences d'immunocytochimie indiquent que la leptine est localisée dans le trophoblaste avec une intensité de marquage beaucoup plus forte dans le syncytiotrophoblaste que dans les cytotrophoblastes. A l'inverse, aucun marquage n'est constaté au niveau des cellules de Hofbauer (macrophages) et des fibroblastes placentaires [11]. Les tumeurs trophoblastiques bénignes (môles hydatiformes) ou malignes (choriocarcinomes) synthétisent la leptine en grande quantité, au point d'en élever la concentration plasma-

rique des patientes [20]. La production de leptine par des lignées cellulaires humaines de choriocarcinomes confirme l'origine trophoblastique de la leptine. Dans les cellules BeWo qui se différencient vers un syncytium sous l'action de l'AMPc, l'ajout de forskoline reproduit cet effet et stimule la production de leptine, ce qui pose la question du rôle de cette protéine dans la physiologie et la physiopathologie trophoblastique [11]. C'est dans plusieurs de ces lignées tumorales que l'étude de la régulation de l'expression du gène *OBESE* vient de débiter. Dans les cellules BeWo, une séquence liant des protéines nucléaires spécifiques de ces cellules a été identifiée en amont de la partie 5' du gène *OBESE* [21]. C'est sur cette même séquence que le motif *enhancer* efficace a été localisé dans les cellules de choriocarcinomes JEG-3 et JAR [18]. Sur ce motif, spécifique de ces cellules, trois sites indépendants (*placental leptin enhancer elements*) PLE1, PLE2, PLE3 ont été caractérisés. La liaison sur PLE3, et sans doute sur PLE1, de protéines nucléaires provenant du placenta humain ou des cellules JEG-3 augmente la transcription du gène *OBESE* alors que PLE2 lierait Sp1 sans augmenter la transcription. La protéine se liant à PLE3 correspondrait à un nouveau facteur transcriptionnel placentaire encore non identifié. Il reste à savoir si ces régulations, mises en évidence dans les tumeurs trophoblastiques sont les mêmes dans le trophoblaste normal. Le motif *enhancer* serait localisé à l'intérieur d'un élément répétitif MER11 (*medium reiteration frequency repeat*) introduit au cours de l'évolution dans le génome humain. Cette insertion qui correspondrait au renforcement du fonctionnement du gène *OBESE* est absente du génome murin.

L'expression du gène *B219/OBR*, qui code pour des récepteurs de la leptine, a été mise en évidence dans le placenta et plusieurs tissus du fœtus humain (poumon, foie, rein), sans qu'il soit déterminé si l'une ou plusieurs des isoformes mises à jour pouvaient être fonctionnelles et entrer en compétition avec la forme longue du récepteur [8].

• Contrôle du poids maternel et fœtal ?

Les mécanismes impliqués au cours de la gestation dans le contrôle des poids corporels de la mère et du fœtus sont peu connus. Un déficit dans le gain adipeux est cause de morbidité chez la mère et le nouveau-né. À côté de facteurs hormonaux déjà identifiés, tels l'insuline et les IGF, l'implication de la leptine est maintenant proposée. En dehors du tissu adipeux maternel, le placenta apparaît comme un site de production majeur de cette protéine chez la femme enceinte. La diversité qui a été observée entre les espèces pourrait être une conséquence de modes de placentation et de propriétés du trophoblaste différents. Il existe en effet plusieurs manières selon l'espèce d'optimiser les échanges materno-fœtaux *via* le placenta. Toutefois, les données chez l'animal restent fragmentaires et contradictoires. Chez la femme enceinte, le gène *OBESÉ* de la leptine est exprimé dans les membranes fœtales et par le trophoblaste. De par sa position stratégique à l'interface fœto-maternelle, ce tissu placentaire assure et contrôle les échanges nutritionnels entre la mère et le fœtus. Par ailleurs, l'une de ses caractéristiques les plus marquantes est la capacité de synthétiser et de sécréter dans les circulations maternelle et fœtale des quantités importantes de molécules biologiquement actives, extrêmement diverses : hormones stéroïdes et polypeptidiques, protéines, eicosanoïdes, neurotransmetteurs, facteurs de croissance, cytokines...). Synthétisant également la plupart des récepteurs spécifiques de ces substances, le trophoblaste apparaît, de ce fait, comme un système remarquablement intégré d'interactions neuro-immuno-endocriniennes [22].

De multiples questions se posent maintenant. Quelle est, dans ce système, la place de la leptine ? Quelles fonctions placentaires sont contrôlées et par quels mécanismes ? Le rôle de la leptine est-il uniquement de contribuer au contrôle de l'énergie nécessaire à la croissance de l'unité fœto-placentaire ? En quelle

proportion la leptine placentaire est-elle libérée dans la circulation fœto-placentaire et quelles fonctions contrôlerait-elle chez le fœtus ? Ainsi que cela a été mis en évidence pour d'autres substances d'origine placentaire, la leptine libérée dans la circulation maternelle intervillosaire pourrait également, par le biais d'interactions de type paracrine/autocrine, contrôler localement le développement et l'activité motrice de l'utérus adjacent. Chez la femme enceinte diabétique traitée par l'insuline une production accrue de leptine par le placenta vient d'être mise en évidence [19]. Lors de retards de croissance intra-utérins, la concentration de leptine plasmatique est significativement abaissée chez le nouveau-né [16]. Des études physiopathologiques s'appuyant sur des situations où la croissance et le développement du fœtus sont compromis, sont aussi une des clés qui permettraient de mieux comprendre le rôle de la leptine placentaire.

F.F.

1. 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: 425-32.
2. Kahn A. Une confirmation : le produit du gène *ob* est bien une hormone agissant comme un lipostat. *Med Sci* 1995; 11: 1463-4.
3. Guerre-Millo M, Saladin R, Staels B, Auwerx J. Les facteurs régulateurs du gène *ob*. *Med Sci* 1996; 12: 383-5.
4. Issad T, Strobel A, Camoin L, Ozata M, Strosberg A. La leptine : un signal pour le déclenchement de la puberté dans l'espèce humaine ? *Med Sci* 1998; 14: 349-51.
5. Clément K, Vaisse C, Basdevant A, Guy-Grand B, Froguel P. La mutation du gène du récepteur de la leptine entraîne chez l'homme une obésité massive associée à des anomalies hypothalamo-hypophysaires. *Med Sci* 1998; 14: 675-8.
6. Gavrilova O, Barr V, Marcus-Samuels B, Reitman M. Hyperleptinemia of pregnancy associated with the appearance of a circulating form of the leptin receptor. *J Biol Chem* 1997; 272: 30546-51.
7. Hoggard N, Hunter L, Duncan JS, Williams LM, Trayhurn P, Mercer JG. Leptin and leptin receptor mRNA and protein expression in the murine fetus and placenta. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 11073-8.
8. Cioffi JA, Shafer AW, Zupancic TJ, Smith-Gbur J, Mikhail A, Platika D, Snodgrass HR. Novel

- B219/OB receptor isoforms: possible role of leptin in hematopoiesis and reproduction. *Nat Med* 1996; 2: 585-9.
9. Kawai M, Yamaguchi M, Murakami T, Shima K, Murata Y, Kishi K. The placenta is not the main source of leptin production in pregnant rat: gestational profile of leptin in plasma and adipose tissues. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 240: 798-802.
10. Chien EK, Hara M, Rouard M, Yano H, Philippe M, Polonsky KS, Bell GI. Increase in serum leptin and uterine leptin receptor messenger RNA levels during pregnancy in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 237: 476-80.
11. Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, Hosoda K, Matsumoto T, et al. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat Med* 1997; 3: 1029-33.
12. Butte NF, Hopkinson JM, Nicolson MA. Leptin in human reproduction: serum leptin levels in pregnant and lactating women. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 585-9.
13. Schubring C, Kiess W, Englro P, Rascher W, Dötsch J, Hanitsch S, Attanasio A, Blum WF. Levels of leptin in maternal serum, amniotic fluid, and arterial and venous cord blood: relation to neonatal and placental weight. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 1480-3.
14. Hassink SO, de Lancey E, Sheslow DV, Smith-Kirwin SM, O'Connor DM, et al. Placental leptin: an important new growth factor in intrauterine and neonatal development ? *Pediatrics* 1997; 100: 1-6.
15. Koistinen HA, Koivisto VA, Andersson S, Karonen SL, Kontula K, Oksanen L, Teramo KA. Leptin concentration in cord blood correlates with intrauterine growth. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3328-30.
16. Jaquet D, Léger J, Lévy-Marchal C, Oury JF, Czernichow P. Ontogeny of leptin in human fetuses and newborns: effect of intrauterine growth retardation on serum leptin concentrations. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 1243-6.
17. Green ED, Maffei M, Braden VV, Proenca R, DeSilva U, Zhang Y, Chua Jr SC, Leibel RL, Weissenbach J, Friedman JM. The human *obese* (*OB*) gene: RNA expression pattern and mapping on the physical cytogenetic, and genetic maps of chromosome 7. *Genome Res* 1995; 5: 5-12.
18. Bi S, Gavrilova O, Gong DW, Mason MM, Reitman M. Identification of a placental enhancer for the human leptin gene. *J Biol Chem* 1997; 272: 30583-8.
19. Lepercq J, Cauzac M, Lahlou N, Timsit J, Girard J, Auwerx J, Hauguel-de-Mouzon S. Overexpression of placental leptin in diabetic pregnancy: a critical role for insulin. *Diabetes* 1998; 47: 847-50.
20. Sagawa N, Mori T, Masuzaki H, Ogawa Y, Nakao K. Leptin production by hydatidiform mole. *Lancet* 1997; 350: 1518-9.
21. Ebihara K, Ogawa Y, Isse N, Mori K, Tamura N, et al. Identification of the human leptin 5'-flanking sequences involved in the trophoblast-specific transcription. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 241: 658-63.
22. Ferré F. Le placenta, site privilégié d'échanges entre la mère et le fœtus. *Gynécologie* 1995; 3: 73-7.