

## La leptine : un signal pour le déclenchement de la puberté dans l'espèce humaine ?

La puberté correspond à la période de la vie pendant laquelle l'organisme acquiert la capacité de se reproduire. Dans l'espèce humaine, elle commence généralement à l'âge de 11-12 ans et s'étale sur plusieurs années avec, cependant, des variations importantes selon le sexe et les individus. Elle se caractérise par une augmentation des concentrations des gonadotrophines hypophysaires et des hormones stéroïdes sexuelles qui vont permettre le développement des gonades, l'apparition des caractères sexuels secondaires et la maturation de la fonction reproductrice. Ces modifications hormonales sont sous le contrôle de neurones hypothalamiques qui sécrètent la GnRH (*gonadotropin releasing hormone*). Une augmentation de l'activité fonctionnelle de ces neurones est nécessaire au déclenchement de la puberté [1]. Les facteurs agissant sur les neurones qui produisent la GnRH et qui sont responsables de l'induction de la puberté restent mal connus. On sait cependant depuis longtemps que le déclenchement de la puberté est influencé par les conditions nutritionnelles, la proportion de graisse et/ou la répartition de la graisse dans l'organisme. La carence alimentaire entraîne un retard dans l'apparition de la puberté, et une infertilité est souvent observée chez les femmes ayant un faible pourcentage de masse adipeuse, telles que les coureuses de fond, les danseuses de ballet et les patientes souffrant d'anorexie mentale. L'hypothèse d'une masse adipeuse critique, nécessaire au déclenchement de la puberté, a été proposée [2]. Cependant, le lien moléculaire entre masse adipeuse et hormones gonadotrophiques a longtemps fait défaut et cette hypothèse est restée largement controversée [3].

### La leptine chez la souris et les hommes

La leptine, découverte en 1994 (*m/s n°10, vol. 11, p. 1463*) [4], est une protéine sécrétée par l'adipocyte qui informe le cerveau de l'état des réserves adipeuses. Elle agit par l'intermédiaire de récepteurs membranaires situés, en particulier, au niveau de l'hypothalamus. Chez le rongeur, elle joue un rôle clé dans la régulation du poids corporel. Lorsque la masse adipeuse augmente, la leptine produite par le tissu adipeux inhibe la prise alimentaire et stimule la dépense énergétique (*m/s n° 10, vol. 12, p. 1337*). Elle s'oppose donc ainsi à une prise de poids excessive.

Chez la souris *ob/ob*, l'absence de leptine dans le sérum, due à des mutations dans le gène *ob*, entraîne une hyperphagie et une diminution de la dépense énergétique, conduisant à une obésité massive. Ces souris ont un phénotype complexe comprenant une baisse du tonus sympathique, une intolérance au froid, une résistance à l'insuline ainsi que d'autres perturbations métaboliques et endocriniennes [5]. Elles présentent, en particulier, une infertilité, due à une insuffisance hormonale hypothalamo-hypophysaire. Le traitement de souris *ob/ob* avec de la leptine recombinante corrige les altérations de prise de poids et de dépense énergétique, et restaure également leur capacité reproductrice [6]. En outre, l'injection répétée de leptine recombinante à de jeunes souris normales accélère l'apparition de la puberté [7]. Ainsi, chez le rongeur, la leptine semble être un bon candidat pour faire le lien entre la proportion de graisse dans le corps et la mise en place de

la fonction de reproduction : elle signalerait au cerveau que les réserves de l'organisme sont suffisantes pour pouvoir faire face aux besoins énergétiques liés à la reproduction.

Chez l'homme, le rôle de la leptine dans la maturation des fonctions reproductrices reste à démontrer. Les premiers travaux concernant la recherche de mutations dans le gène de la leptine humaine n'ont révélé aucun changement de séquence susceptible de conduire à une déficience en leptine chez les patients obèses (*m/s n° 2, vol. 12, p. 257*) [8]. Les concentrations de leptine dans le sérum sont généralement élevées chez les obèses humains et une corrélation positive entre degré d'obésité et concentration de leptine a été observée par de nombreux groupes. Plus récemment, une déficience congénitale en leptine, associée à une obésité sévère, a été décrite chez deux enfants âgés de 2 et 8 ans (*m/s n° 10, vol. 13, p. 1201*) [9]. Cependant, du fait du très jeune âge des patients, aucune conclusion n'a pu être tirée quant au rôle de la leptine dans la fonction reproductrice de l'espèce humaine.

### Des adultes humains déficients en leptine

Nous venons de décrire, pour la première fois, une déficience congénitale en leptine chez des patients adultes présentant une obésité massive [10]. Dans une population turque comprenant 203 patients obèses et non obèses, nous avons observé qu'un jeune homme, massivement obèse, dont l'indice de masse corporelle (BMI) était de 55,8 kg/m<sup>2</sup>, avait des concentrations plasmatiques

de leptine extrêmement faibles (0,9ng/ml). Le séquençage des parties codantes du gène de la leptine chez ce patient (n° 24) a révélé la mutation d'une cytidine en une thymidine au niveau du codon 105. Curieusement, cette mutation est identique à celle observée dans la région codante de la leptine chez la souris *ob/ob*. Chez la souris, cette mutation entraîne l'apparition d'un codon stop et la production d'une protéine tronquée, alors que dans l'espèce humaine, elle conduit au remplacement d'une arginine par un tryptophane.

La transfection de cellules COS1 avec les plasmides codant pour la protéine normale ou mutée a montré que la protéine mutée est synthétisée dans la cellule mais n'est pas sécrétée dans le milieu de culture. Ainsi, cette mutation ponctuelle pourrait empêcher le processus normal de sécrétion de la leptine, ce qui expliquerait l'absence quasi totale de leptine dans le sérum de ce patient.

Cette mutation entraînant la perte d'un site de restriction *Msp1*, nous avons mis au point un test de détection rapide de la mutation après amplification par PCR et digestion enzymatique qui nous a permis de rechercher la mutation chez les membres de la famille du patient. Deux autres membres de cette famille, homozygotes pour la mutation, étaient sévèrement obèses et avaient aussi des concentrations plasmatiques de leptine extrêmement faibles pour leur degré d'obésité

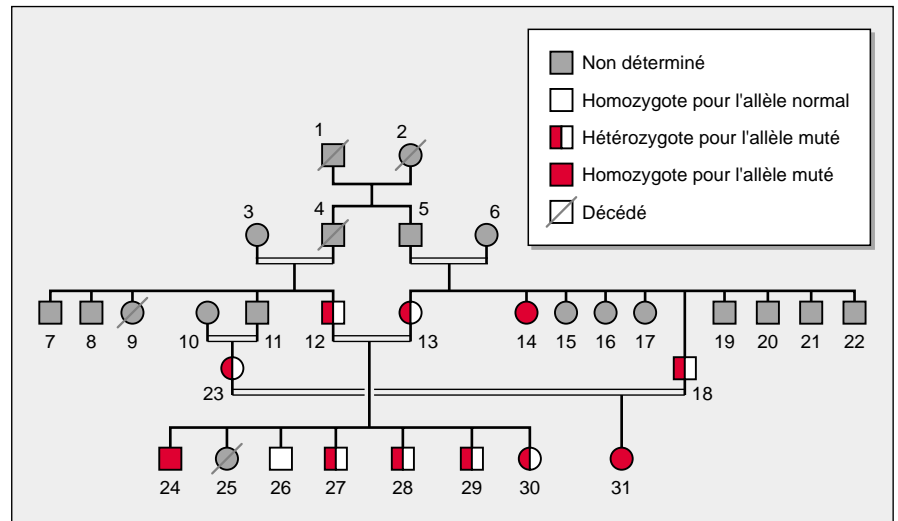


Figure 1. **Arbre généalogique du patient n°24.** Le patient homozygote n°24 est issu d'une famille fortement consanguine. La mutation, qui entraîne la perte d'un site de restriction *Msp1*, a été recherchée chez les membres de la famille par PCR et digestion enzymatique.

(figure 1 et Tableau I). D'autres membres de la famille, hétérozygotes pour la mutation, n'étaient pas obèses, indiquant que cette mutation est récessive et que cette obésité est probablement monogénique.

Les trois patients homozygotes pour l'allèle muté ont une hyperphagie prononcée. Chez ces patients, les concentrations plasmatiques d'insuline sont élevées (normale <30 µU/ml) et la patiente n° 14 est diabétique. Ces patients massivement obèses présentent donc une résistance à l'insuline qui peut évoluer vers un diabète non insulino-dépen-

dant. Une étude clinique plus détaillée a montré que le patient n° 24 a un caryotype normal (46, XY), un électroencéphalogramme normal, une absence de retard mental et d'anomalie du cerveau détectable par tomographie par ordinateur. Cependant, tout comme chez la souris *ob/ob*, on a mis en évidence une baisse du tonus sympathique.

Deux des trois patients homozygotes pour la mutation sont des adultes. La patiente n° 14, âgée de 34 ans, a une aménorrhée primaire. Le patient n° 24 est un jeune homme de 22 ans encore impubère et qui présente les

Tableau I

DONNÉES CLINIQUES (MEMBRES DE LA FAMILLE DU PATIENT N° 24 CHEZ LESQUELS ON A CHERCHÉ LA MUTATION)

Numéro d'identification du patient (en gras : homozygotes pour la mutation)	12	13	14	18	23	24	26	27	28	29	30	31
	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	-/-	+/+	+/-	+/-	+/-	+/-	-/-
Âge	48	50	34	30	25	22	18	27	11	23	20	6
Sexe	M	F	F	M	F	M	M	M	M	M	F	F
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24,2	19,5	46,9	20,8	23,9	55,8	23,4	27,0	18,9	23,4	22,2	32,5
glycémie (mg/dl)	99	87	169	102	78	95	93	84	85	74	69	103
insuline plasmatique (µU/ml)	21	22,3	41,2	29,3	11,3	30	13,9	15	14,9	23,4	14,4	40,1
leptine (ng/ml)	2,6	2,2	1,6	1,5	1,5	0,9	1,6	1,8	1,9	1,9	7,1	1,1

Les colonnes roses concernent les homozygotes pour la mutation, les colonnes grises les hétérozygotes et la colonne blanche le sujet sans mutation. BMI (body mass index) : indice de masse corporelle.

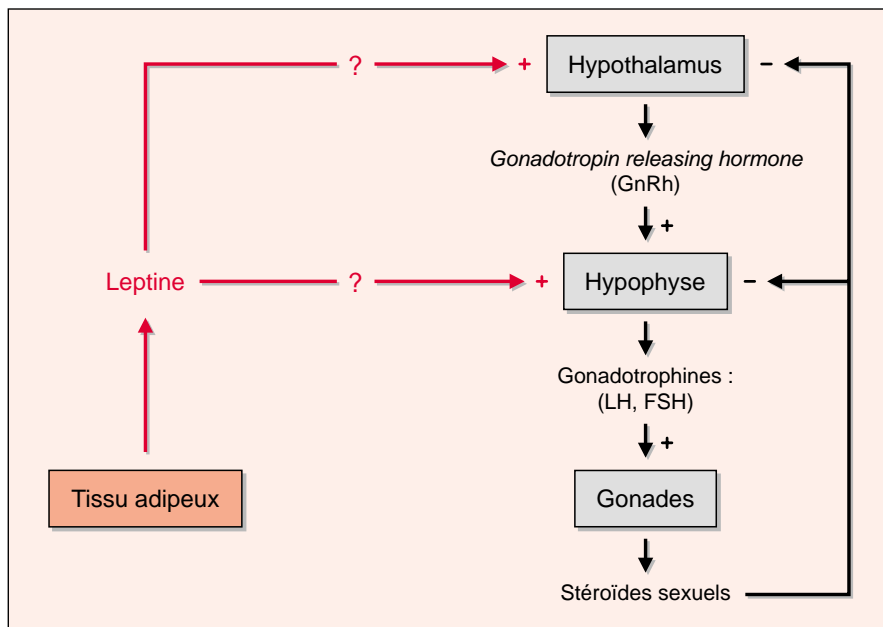


Figure 2. **Représentation schématique de l'axe hypothalamo-hypophyséogonadique.** La production des stéroïdes sexuels est sous le contrôle des hormones hypophysaires gonadotrophiques FSH (folliculo-stimulating hormone) et LH (luteinizing hormone). La production des hormones gonadotrophiques est elle-même dépendante de l'activité de neurones hypothalamiques produisant la GnRH (gonadotropin releasing hormone). La leptine pourrait être un signal de déclenchement de la puberté en stimulant la sécrétion de GnRH et des gonadotrophines FSH et LH.

traits cliniques caractéristiques d'un hypogonadisme (taille réduite des organes génitaux, gynécomastie bilatérale, caractères sexuels secondaires peu développés). Les niveaux de testostérone chez ce patient sont faibles mais peuvent être augmentés par administration d'hormone chorionique gonadotrophique humaine (test utilisé pour évaluer la capacité sécrétoire des cellules de Leydig). De plus, l'administration de GnRH entraîne une augmentation normale de FSH et de LH chez ce patient. Ces tests indiquent que l'hypogonadisme est probablement d'origine hypothalamique.

## Conclusion

Cette étude démontre, pour la première fois dans l'espèce humaine, que l'absence de leptine a des conséquences dramatiques sur le développement de la fonction reproductrice. La leptine pourrait agir en stimulant la sécrétion de GnRH par certains

neurones hypothalamiques ou la sécrétion de gonadotrophines par les cellules de l'hypophyse antérieure (figure 2) [11]. La sécrétion de leptine par le tissu adipeux se fait d'ailleurs sur un mode pulsatile semblable à celui des hormones de l'axe hypothalamo-hypophysaire [12]. De plus, il a été montré récemment que l'augmentation normale de testostérone au moment de la puberté chez des jeunes garçons est précédée d'un pic de sécrétion de leptine [13]. L'ensemble de ces résultats indique que cette hormone, produite par le tissu adipeux, pourrait constituer un signal crucial pour l'induction de l'entrée en puberté chez l'homme ■

## RÉFÉRENCES

1. Styne DM. Physiology of puberty. *Horm Res* 1994; 2: 3-6.
2. Frisch RE, Revelle R. Height and weight at menarche and a hypothesis of critical body weights and adolescent events. *Science* 1970; 169: 397-9.

3. Scott EC, Johnston FE. Critical fat, menarche, and the maintenance of menstrual cycles: a critical review. *J Adolesc Health Care* 1982; 2: 249-60.

4. 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.

5. Bray GA, York DA. Hypothalamic and genetic obesity in experimental animals: an autonomic and endocrine hypothesis. *Physiol Rev* 1979; 59: 719-809.

6. Chehab FF, Lim ME, Lu R. Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin. *Nat Genet* 1996; 12: 318-20.

7. Ahima RS, Dushay J, Flier SN, Prabakaran D, Flier JS. Leptin accelerates the onset of puberty in normal female mice. *J Clin Invest* 1997; 99: 391-5.

8. Considine RV, Considine EL, Williams CJ, Nyce MR, Zhang P, et al. Mutation screening and identification of a sequence variation in the human ob gene coding region. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 220: 735-9.

9. Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, et al. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* 1997; 387: 903-8.

10. Strobel A, Issad T, Camoin L, Ozata M, Strosberg AD. A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nat Genet* 1998; 18 (sous presse).

11. Yu WH, Kimura M, Walczewska A, Karanth S, McCann SM. Role of leptin in hypothalamic-pituitary function. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 1023-8.

12. Licinio J, Mantzoros C, Negrao AB, Cizza G, Wong ML, et al. Human leptin levels are pulsatile and inversely related to pituitary-adrenal function. *Nat Med* 1997; 3: 575-9.

13. Mantzoros CS, Flier JS, Rogol AD. A longitudinal assessment of hormonal and physical alterations during normal puberty in boys. V. Rising leptin levels may signal the onset of puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 1066-70.

**Tarik Issad**

**Andreas Strobel**

**Luc Camoin**

**Metin Ozata**

**A. Donny Strosberg**

ICGM, Cnrs UPR 415, 22, rue Méchain, 75014 Paris, France.