REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université de BLIDA - 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie et Physiologie des Organismes

Option : Biologie et Physiologie de la Reproduction

Mémoire présenté en vue de l'obtention du

Diplôme de Master

Thème

Effet de la leptine sur l'utérus chez le rat femelle Wistar

Présenté par :

Mlle BENKERCHA Zoulikha **Mlle ADRIA Ouahiba**

Soutenu le : 30 Septembre 2020

Devant le jury composé de :

Présidente	**: Mme ZATRA Yamina**	**MCB**	**FSNV, USD Blida - 1**
Examinatrice :	**Mme BIREM Zahia**	**MCB**	**FSNV, USD Blida - 1**
Promotrice	**: Mme GHOURI Imane**	**MCB**	**ISV, USD Blida - 1**
Co-promoteur :	**Mr KAIDI Rachid**	**Professeur**	**ISV, USD Blida - 1**
Invitée	**: Mme HADJ-BEKKOUCHE Fatima**	**Professeur**	**FSB, USTHB, Alger**

Année Universitaire : 2019 / 2020

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier tout d'abord ***Dieu*** *Le Tout Puissant de nous avoir donné la force et le courage pour accomplir ce travail.*

Nous tenons à témoigner notre reconnaissance à Mme HADJ-BEKKOUCHE Fatima, Professeur à la Faculté des Sciences Biologiques (USTHB, Alger), Directrice de Recherche et Chef du Projet de Recherche axé sur les interactions hormonales pour avoir proposé le thème du présent mémoire.

Nous tenons à adresser nos remerciements à notre Co-promoteur Pr KAIDI Rachid, Professeur à l'Institut des Sciences Vétérinaires de l'Université de Blida - 1, pour avoir accepté la codirection de ce Projet de Fin d'Etudes et nous avoir fait bénéficier de sa compétence et de ses conseils.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance et profonde gratitude à M^{me} GHOURI Imane, Maître de Conférences B à l'Institut des Sciences Vétérinaires de l'Université de Blida - 1 pour nous avoir proposé le thème de ce travail et nous avoir encadrées et dirigées, la confiance qu'elle nous a accordée et le temps qu'elle nous a consacré pour nous guider à accomplir ce travail.

Nous remercions M^{me} ZATRA Y., Maître de Conférences B à la Faculté des Sciences Biologiques à l'Université de Blida - 1, la présidente du jury, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury.

Nous remercions M^{me} BIREM Z., Maître de Conférences B à la Faculté des Sciences Biologiques à l'Université de Blida - 1, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous remercions le Pr ABDELLALI M., Chef de l'Unité d'Histologie du Centre Hospitalo-Universitaire Nafissa HAMMOUD (Ex. Parnet), ainsi que M^{me} KHELIFA Kenza et M^{me} ABDELLALI Madiha pour leur accueil chaleureux, leur aide et leur soutien.

Nous remercions les membres du Laboratoire d'Histologie de l'Institut des Sciences Vétérinaires pour leur accueil et leur aide.

Nous tenons à remercier également tous les chargés de cours de notre cursus universitaire et leur faire part de notre profond respect et admiration pour leurs compétences et leur dévouement.

Enfin, nous adressons nos sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

DEDICACES

Ce mémoire est l'accomplissement de toutes ces années d'études, il est le fruit de mon acharnement et de ma persévérance.

Je tiens à remercier et à dédier ce modeste travail à :

***Mes parentes ; à ma chère mère** : l'être le plus chère pour moi, celle qui représente pour moi le symbole de bonté par excellence et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.*

***A mon père**, mon modèle et mon idole, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours pour vous.*

Que Dieu vous protège pour moi et accorde la santé et la longue vie.

***Mes chers frères** : **Mohammed el Amine** et **Abdenour** pour leurs encouragements.*

***Mes merveilleuses sœurs** : **Samiha** et **Asmaa** qui sont toujours là pour moi.*

***Mes adorables neveux et nièces** : **Meriem**, **Bouchra**, **Maroua**, **Moundhir** et **Zakaria**.*

*Ma chère et merveilleuse binôme, **Zoulikha**, sœur et copine, qui était toujours à mes côtés, nous avons partagé ensemble les moments de stress et de joie, que Dieu te protège pour moi, tu es la meilleure.*

A mes chères amies et camarades.

A tous les membres de ma famille, petits et grands.

*A toi particulièrement **Imene**, ma chère cousine mille merci pour votre immense aide, patience et soutien.*

A tous ceux que je porte dans mon cœur.

Ouahiba

DEDICACES

Ce mémoire est l'accomplissement de toutes ces années d'études, il est le fruit de mon acharnement et de ma persévérance.

Je tiens à remercier et à dédier ce modeste travail à :

***Mes parentes ; à ma chère mère** : l'être le plus chère pour moi, celle qui représente pour moi le symbole de bonté par excellence et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.*

***A mon père**, mon modèle et mon idole, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai toujours pour vous.*

Que Dieu vous protége pour moi et accorde la santé et la longue vie.

Mes chers frères : SADEK, RABAH et HAMOUZOU.

*Ma chère et merveilleuse binôme, **OUAHIBA**, sœur et copine, pour ta sympathie, pour les haut et les bas qu'on a traversé ensemble, que Dieu te protège pour moi, tu es la meilleure.*

***A VOUS mes amies** : **IKRAM, NESRINE** et **AZHAR** les amies d'hier, d'aujourd'hui et de demain, vous avez su être la aux moments difficiles.*

A tous ceux que je porte dans mon cœur.

A la fin je souhaite que je n'ai pas oublié toute personne qui m'a aidée à arriver jusque-là.

Zoulikha

RESUME

La leptine est une hormone principalement produite par les adipocytes. Elle intervient dans le contrôle de la masse adipeuse par ces effets sur la prise alimentaire et le métabolisme énergétique. L'objectif de ce travail est d'étudier l'influence de la leptine sur l'utérus de rat femelle Wistar. L'expérimentation est réalisée sur des rattes immatures et adules. La leptine est injectée quotidiennement pendant 5 jours aux femelles expérimentales (E) par voie intrapéritonéale à raison de : 8 µg / 100 g de poids corporel, le même volume de solution saline est injecté aux femelles témoins (T). Les animaux sont sacrifiés 24 heures après la dernière injection par décapitation, les cornes utérines droites et gauches sont prélevées et pesées, les cornes droites sont fixées dans du formaldéhyde à 10% pour une étude histologique. Les résultats des poids moyens absolus et relatifs des cornes utérines semblent similaires chez les femelles immatures traitées par la leptine comparées aux témoins (0.1001 ± 0.0116 *vs* 0.0996 ± 0.0126 g et 0.0015 ± 0.0001 *vs* 0.0016 ± 0.0001 g, respectivement). Chez les femelles adultes traitées, les résultats montrent une augmentation non significative des poids moyens absolus et relatifs des cornes utérines comparées aux témoins (0.4756 ± 0.0693 *vs* 0.4542 ± 0.0650 g et 0.0034 ± 0.0005 *vs* 0.0031 ± 0.0004 g, respectivement). L'étude histologique n'ayant pas pu être menée à terme compte tenu de la situation sanitaire exceptionnelle liée à la COVID-19, l'analyse des articles scientifiques nous a permis de constater que la leptine est impliquée dans la régulation du poids utérin, qu'elle favoriserait l'implantation et la gestation et qu'elle aurait un effet inhibiteur physiologique sur la contractilité utérine. L'expression de la leptine est plus élevée dans l'endomètre des femmes atteintes du Syndrome des Ovaires Polykystiques, son implication dans l'endométriose reste controversée mais son dosage pourrait aider à identifier les femmes prédisposées à développer un diabète gestationnel.

Mots clés : *Leptine, utérus, poids, implantation, gestation, contractilité*

ABSTRACT

Leptin is a hormone mainly produced by adipose cells. It intervenes in the control of body fat by these effects on food intake and energy metabolism. The aim of this work is to study the influence of leptin on the uterus of female Wistar rat. The experiment is carried out on immature and adult female rats. Leptin is injected daily for 5 days to experimental females (E) intraperitoneally at 8 µg / 100 g of body weight, the same volume of saline solution is injected to control females (T). The animals were sacrificed 24 hours after the last injection decapitation, the right and left uterine horns were collected and weighed, the right horns were fixed in 10% formaldehyde for a histological study. The results of absolute and relative mean weights of uterine horns appear similar in immature females treated with leptin compared to controls (0.1001 ± 0.0116 *vs* 0.0996 ± 0.0126 g and 0.0015 ± 0.0001 *vs* 0.0016 ± 0.0001 g, respectively). In treated adult females, the results showed a non-significant increase in absolute and relative mean weights of uterine horns compared to controls (0.4756 ± 0.0693 *vs* 0.4542 ± 0.0650 g and 0.0034 ± 0.0005 *vs* 0.0031 ± 0.0004 g, respectively). As the histological study could not be completed given the exceptional health situation related to COVID-19, the analysis of scientific papers showed that leptin is involved in the regulation of uterine weight; it promotes implantation and gestation, and has a physiological inhibitory effect on uterine contractility. Leptin expression is higher in the endometrium of women with Polycystic Ovary Syndrome, its implication in endometriosis remains controversial, but its dosage could help identify women predisposed to developing gestational diabetes.

***Keywords**: Leptin, uterus, weight, implantation, gestation, contractility*

الملخص

اللبتين هرمون ينتج بشكل أساسي من الخلايا الدهنية، وهو يتدخل في ضبط دهون الجسم بفعل تأثيراته على استهلاك الغذاء واستقلاب الطاقة. الهدف من هذا العمل هو دراسة تأثير اللبتين على رحم جرذان إناث Wistar. أجريت التجربة على جرذان بالغة وغير بالغة. تم حقن اللبتين يوميا ولمدة 5 أيام للإناث المعالجة داخل الصفاق بجرعة 8 ميكروغرام/100 غ من وزن الجسم، تم حقن نفس الحجم من محلول كلوريد الصوديوم للإناث الشهود. تمت تضحية الحيوانات 24 ساعة بعد الحقنة الأخيرة بقطع الرأس، تم استخراج قرني الرحم الأيمن والايسر وتثبيتها في الفورمالديهايد بنسبة 10% للدراسة النسيجية. أظهرت نتائج متوسط الأوزان النسبية والمطلقة لقرني الرحم تشابها عند الاناث الغير ناضجات المعالجة بالبتين مقارنة بالشهود (0.1001 ± 0.0116 غ مقابل 0.0996 ± 0.0126 غ و 0.0015 ± 0.0001 غ مقابل 0.0016 ± 0.0001 غ، على التوالي). عند الاناث البالغة المعالجة، أظهرت النتائج زيادة غير محسوسة في متوسط الاوزان النسبية والمطلقة لقرني الرحم مقارنة بالشهود (0.4756 ± 0.0693 غ مقابل 0.4542 ± 0.0650 غ و 0.0034 ± 0.005 غ مقابل 0.0031 ± 0.0004 غ، على التوالي). تعذر إكمال الدراسة النسيجية نظرا للحالة الصحية الإستثنائية المرتبطة بالكوفيد-19. أظهر تحليل المقالات العلمية أن اللبتين يلعب دورا في تنظيم وزن الرحم، وأنه يعزز زرع الجنين والحمل، كما أن له تأثيرًا فيزيولوجيًا على انقباض الرحم. يكون تعبير اللبتين أعلى في بطانة الرحم عند النساء المصابات بمتلازمة المبيض المتعدد الكيسات، ولا يزال تأثيره على الانتباذ البطاني الرحمي محلا للجدل، لكن جرعته يمكن أن تساعد في تحديد النساء المعرضات للإصابة بسكري الحمل.

الكلمات المفتاحية: اللبتين، الرحم ، الوزن، زرع الجنين، الحمل، الانقباض

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS

DEDICACES

RESUME

ABSTRACT

الملخص

SOMMAIRE

LISTES DES FIGURES

LISTES DES TABLEAUX

LISTES DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION 1

1 Chapitre 1 : Généralités sur la leptine et son récepteur 3

1.1 Découverte de la leptine 3

1.2 Localisation et organisation du gène ob 5

1.3 De la séquence génique et protéique à la fonction 5

1.4 Récepteur de la leptine 7

1.4.1 Différentes isoformes de récepteur de la leptine 7

1.4.2 Répartition des différentes isoformes du récepteur 8

1.5 Voies de signalisation activées par le récepteur de la leptine 9

1.5.1 Voie JAK / STAT 9

1.5.2 Voie des MAPK 10

2 Chapitre 2 : Système reproducteur de la ratte 12

2.1 Appareil génital de la ratte 12

2.1.1 Ovaires 12

2.1.2 Oviductes 13
2.1.3 Utérus 13
2.1.4 Vagin 14
2.1.5 Vestibule vaginal 14
2.1.6 Vulve 14
2.2 Cycle œstral 15
2.2.1 Régulation du cycle œstral 15
2.2.2 Modifications de la structure utérine au cours du cycle œstral 16
2.3 Effet des stéroïdes sexuels, des prostaglandines et de l'ocytocine sur l'utérus 17
2.3.1 Œstrogènes 17
2.3.2 Progestérone 17
2.3.3 Prostaglandines (PG) 17
2.3.4 Ocytocine 19
3 Chapitre 3 : Actions physiologiques de la leptine sur la reproduction 20
3.1 Leptine et axe hyopthalamo-hypophyso-gonadique 20
3.2 Leptine et implantation 21
3.3 Leptine et gestation 22
3.4 Leptine et placenta 23
3.5 Leptine et contractions utérines 23
4 Matériel & Méthodes 24
4.1 Matériel 24
4.1.1 Matériel biologique 24
4.1.2 Matériel non biologique 24
4.2 Méthodes 24
4.2.1 Expérimentation 24
4.2.2 Protocole expérimental 24
4.2.3 Etude histologique 25
4.2.3.1 Fixation 25

4.2.3.2 Déshydratation 25
4.2.3.3 Inclusion 26
4.2.3.4 Coupe & Etalement 26
4.2.3.5 Coloration 27
4.2.3.6 Montage 28
4.2.4 Analyse statistique 28
5 Résultats & Discussion 30
5.1 Poids des cornes utérines 30
5.1.1 Femelles de 30 jours d'âge 30
5.1.2 Femelles de 60 jours d'âge 31
2. Présentation de sept articles scientifiques en rapport avec la leptine et l'utérus 33
CONCLUSION 44
PERSPECTIVES 45
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 46
ANNEXES

LISTES DES FIGURES

Figure 1 : Expériences de parabiose 4
Figure 2 : Taille et caractéristiques du gène obese murin et humain 5
Figure 3 : Structure tridimensionnelle de la leptine 6
Figure 4 : Les différentes isoformes du récepteur de la leptine 8
Figure 5 : Voie de signalisation STAT 10
Figure 6 : Voie de signalisation des MAPK 11
Figure 7 : Appareil reproducteur de la ratte 12
Figure 8 : Section d'une corne utérine de ratte albinos colorée à l'Hémalun Eosine 14
Figure 9 : Schéma simplifié de la régulation hormonale du cycle œstral 16
Figure 10 : Synthèse et actions des prostaglandines 18
Figure 11 : Effets de la leptine sur les tissus impliqués dans la reproduction 21
Figure 12 : Hypothèse générale des interactions du système de leptine humaine au niveau de l'interphase materno-embryonnaire pendant la phase de préimplantation et d'implantation .. 22
Figure 13 : Automate de déshydratation 25
Figure 14 : Inclusion des pièces dans de la paraffine 26
Figure 15 : Réalisation des coupes au microtome 27
Figure 16 : L'étalement des coupes sur des lames de verre 27
Figure 17 : Batterie pour la coloration au Trichrome de Masson 28
Figure 18 : Montage des lames colorées 28
Figure 19 : Schéma récapitulatif des différentes étapes histologique 29
Figure 20 : Représentation graphique du poids absolu des cornes utérines droites et gauches chez les femelles de 30 jours témoins (T) recevant du NaCl à 9‰ et expérimentales (E) traitées par la leptine à raison de 8µg / 100g de PC 30
Figure 21 : Représentation graphique du poids relatif des cornes utérines droites et gauches chez les femelles de 30 jours témoins (T) recevant du NaCl à 9‰ et expérimentales (E) traitées par la leptine à raison de 8 µg / 100g de PC 31
Figure 22 : Représentation graphique du poids absolu des cornes utérines droites et gauches chez les femelles de 60 jours témoins (T) recevant du NaCl à 9‰ et expérimentales (E) traitées par la leptine à raison de 8 µg / 100g de PC 32

Figure 23 : Représentation graphique du poids relatif des cornes utérines droites et gauches chez les femelles de 60 jours témoins (T) recevant du NaCl à 9 ‰ et expérimentales (E) traitées par la leptine à raison de 8 µg / 100g de PC 32

LISTES DES TABLEAUX

Tableau 1 : Poids et dimensions des organes génitaux chez la ratte 14
Tableau 2 : Poids absolus et relatifs des cornes utérines droites et gauches chez les femelles de 30 jours témoins et traitées par la leptine (Valeurs exprimées en g ± ESM) 30
Tableau 3 : Poids absolus et relatifs des cornes utérines droites et gauches chez les femelles de 60 jours témoins et traitées par la leptine (Valeurs exprimées en g ± ESM) 31

LISTES DES ABREVIATIONS

aa : acide aminé
ADN : Acide Désoxyribonucléique
AFSr : American Fertility Society revised
AMPc : Adénosine Monophosphate cyclique
AMPK : AMP-Activated Protein Kinase
ARNm : Acide Ribonucléique messager
CEE : Cellules Epithéliales Endométriales
COX 2 : Cyclooxygénase de type 2
COX1 : Cyclooxygénase de type 1
CU D : Corne utérine droite
CU G : Corne utérine gauche
db/db : Souris diabétique (Défaut dans le gène db)
E : Femelle expérimentale traitée par la leptine
eCG : equine chorionic gonadotropin
EP : Récepteur des prostaglandines E
ERa : Récepteurs à l'œstrogène alpha
ERb : Récepteurs à l'œstrogène bêta
ERK : Extracellular signal Regulated Kinase
FIV : Fécondation *in vitro*
FSH : Follicule Stimulating Hormone
g : gramme
G-CSF : Granulocyte stimulating factor
GDM : Gestational Diabetes Mellitus
GnRH : Gonadotrophine Releasing Hormone
gp130 : glycoprotéines 130
GPCR: G Protein Coupled-Receptor
Grb-2: Growth factor receptor binding protein
h : heure
HCG : Human Chorionique Gonadotrophin
IL-6 : Interleukine-6

IMC : Indice de Masse Corporelle

IP : Récepteurs des prostaglandines I

ISRE : Interferon Stimulating Response Element

JAK : Janus Kinase

Kb : Kilo bases

KDa : Kilo Dalton

LH : Luteinizig Hormone

LIF : Leukaemia Inhibitory Factor

LTH : Hormone Lutéotrope ou Prolactine

MAPK : Mitogen-Activated Protein Kinase

MEK : Mitogen-activated Kinase

mL : Millilitre

MMP : Métalloprotéases matricielles

mn: minute

ob/ob : Souris obèse

Ob-R : Récepteur de la leptine

OT : Ocytocine

pb : Paire de base

PC : Poids corporel

PG : Prostaglandines

PGD2 : Prostaglandine D2

PGE2 : Prostaglandine E2

PGF2α : Prostaglandine F2 alpha

PGFs : Prostaglandines F

PGG2 : Prostaglandine G2

PGH2 : Prostaglandine endoperoxyde H2

PGHS 1 et 2 : Prostaglandine endoperoxydase H synthases1 and 2

PGI2 : Prostaglandine I2

PI3K : Phosphoinositide 3-Kinase

PIH: Prolactin Inhibing Hormone

PKC : Protéine Kinase C

PRs : Récepteurs de prostaglandines

PSS : Solution Saline Physiologique

PVN : Noyau Paraventriculaire

RT-PCR : Réaction de polymérisation en chaine par transcription inverse

SH2 : Src Homology 2

SHP-2 : SH2 domain-containing protein tyrosine phosphatase

SON : Noyau Supraoptique

SOPK : Syndrome des Ovaires Polykystiques

SOS : Son Of Sevenless

STAT: Signal Transducer and Activator of Transcription

T : Femelle témoin

TxA2 : Thromboxane A2

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Chez les mammifères, la fonction reproductive est strictement dépendante des disponibilités énergétiques, et il est bien connu que des modifications aiguës de l'état métaboliques sont capables d'altérer la fonction de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique (Caprio, 2004).

La reproduction est un processus biologique qui est énergiquement couteux pour les organismes. Une bonne communication avec le système impliquant le métabolisme énergétique doit être mis en place pour s'assurer que la reproduction se déroule correctement jusqu'à son terme. Ainsi, des hormones endocriniennes produites par le tissu adipeux interagissent aussi bien au niveau central que périphérique de manières endocrine, paracrine, et autocrine afin de permettre le contrôle des tissus impliqués dans le métabolisme énergétique, ainsi que ceux impliqués dans la reproduction. Ces peptides bioactifs secrétés par le tissu adipeux sont nommés adipokines (Morin, 2019).

La découverte de la leptine en 1994 a ouvert de nouvelles perspectives dans l'étude des mécanismes qui contrôlent le métabolisme énergétique et le poids corporel (PC). Cette adipokine est une hormone protéique codée par le gène ob. Elle joue un rôle primordial dans le contrôle de l'appétit et de l'alimentation, c'est pourquoi, elle est qualifiée d'hormone de la satiété (Baudin, 2000). En effet, son absence pourrait être à l'origine d'une obésité chez l'homme et chez les rongeurs (Casanueva et Dieguez, 1999).

Depuis sa découverte, cette hormone est considérée comme un facteur clé informant le système nerveux central, et notamment l'hypothalamus sur le niveau des réserves énergétiques au niveau périphérique, et intervenant dans la régulation de la nutrition, du métabolisme énergétique et de plusieurs fonctions endocriniennes notamment la croissance et la reproduction (Casanueva et Dieguez, 1999).

Ce travail a été réalisé dans le cadre d'un Projet de Recherche axé sur les interactions hormonales, engagé par une équipe de l'Endocrinologie du Laboratoire de Biologie et de Physiologie des Organismes de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (U.ST.H.B.), dirigé par Madame Le Professeur HADJ-BEKKOUCHE F. L'objectif étant d'étudier l'influence de la leptine sur l'utérus chez le rat femelle Wistar après

injection de cette hormone à la dose de 8 µg / 100 g de poids corporel par jour pendant une période d'essai de 5 jours.

Ce document a été rédigé selon les recommandations du *« Guide du mémoire de Projet de Fin d'Etudes pour l'année universitaire 2019-2020 (Situation particulière liée à la Covid-19) »*. Il comporte deux parties : une synthèse bibliographique comprenant trois chapitres, le premier présente des généralités sur la leptine et son récepteur, le deuxième porte sur le système reproducteur de la ratte et le troisième traite des actions de la leptine sur la fonction reproductive. Dans la partie expérimentale sont exposés : le matériel et les méthodes utilisés, ainsi que les résultats de l'étude pondérale des utérus. L'étude histologique n'ayant pas pu être menée à terme compte tenu de la situation sanitaire exceptionnelle liée à la COVID-19, sept articles scientifiques traitant de l'effet de la leptine sur l'utérus chez les rongeurs et l'homme sont présentés et discutées. Enfin, des perspectives sont proposées à l'issue de ce modeste travail.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

1 Chapitre 1 : Généralités sur la leptine et son récepteur

1.1 Découverte de la leptine

Les expériences de Hetherington et Ranson (1942), puis d'Anand et Brobeck (1951) furent les premières démonstrations de l'importance de l'hypothalamus en tant que centre de contrôle de la prise alimentaire et de la dépense énergétique. La lésion de l'hypothalamus ventromédian induit une hyperphagie conduisant à une obésité morbide, ainsi qu'une altération de la thermorégulation. La lésion de l'hypothalamus latéral induit une forte réduction de la prise alimentaire conduisant à la mort par famine (Hetherington et Ranson, 1942 ; Anand et Brobeck, 1951).

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

Les travaux d'Hervey réalisés en 1959 marquèrent l'histoire de l'étude de la prise alimentaire. Grâce au processus chirurgical de parabiose, permettant l'union chronique de deux rats vivants en suturant ensemble leur péritoine et leurs muscles (Huff, 1950), il réunit la circulation sanguine d'un rat rendu obèse par lésion hypothalamique et d'un rat contrôle (Hervey, 1959). Suite à cette union, le comportement du rat obèse n'est pas modifié tandis que le rat contrôle cesse de s'alimenter. Hervey suggère alors l'existence d'un facteur de satiété circulant dont la concentration chez le rat obèse devait être augmentée par rapport au rat contrôle. L'absence d'effet observée chez le rat ayant subi une lésion hypothalamique suggère également la présence du récepteur de ce facteur de satiété circulant au niveau de l'hypothalamus. Cette simple expérience a permis de mettre en place les préceptes de la leptine, dont l'étude est toujours d'actualité.

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

changement chez la souris db/db ; néanmoins la souris ob/ob devient hypophagique et meurt. Coleman interprète ses résultats de la manière suivante : les souris ob/ob ne produisent pas le (ou un) facteur de satiété, tandis que les souris db/db le produisent mais y sont insensibles (Fig. 1). Il sera démontré plus tard que le gène obese code pour la leptine (Ob) et le gène diabètes pour son récepteur (Ob-R). En effet, grâce aux techniques de clonage moléculaire positionnel, la séquence des gènes *obese* murin et humain, a été identifiée par l'équipe de Friedman (Zhang et *al*., 1994). Ils retrouvent ainsi une mutation du gène *obese* chez les souris ob/ob. La même équipe montre que la protéine Ob est présente dans le plasma et que l'injection de celle-ci chez la souris produit une réduction de la prise alimentaire et de la masse adipeuse (Zhang et *al*., 1994). Le facteur de satiété découvert par Coleman vingt ans plus tôt était identifié, et l'équipe de Friedman baptise le produit du gène *obese* « leptine », du grec *leptos* signifiant fin ou maigre (Halaas et *al*., 1995)**.**

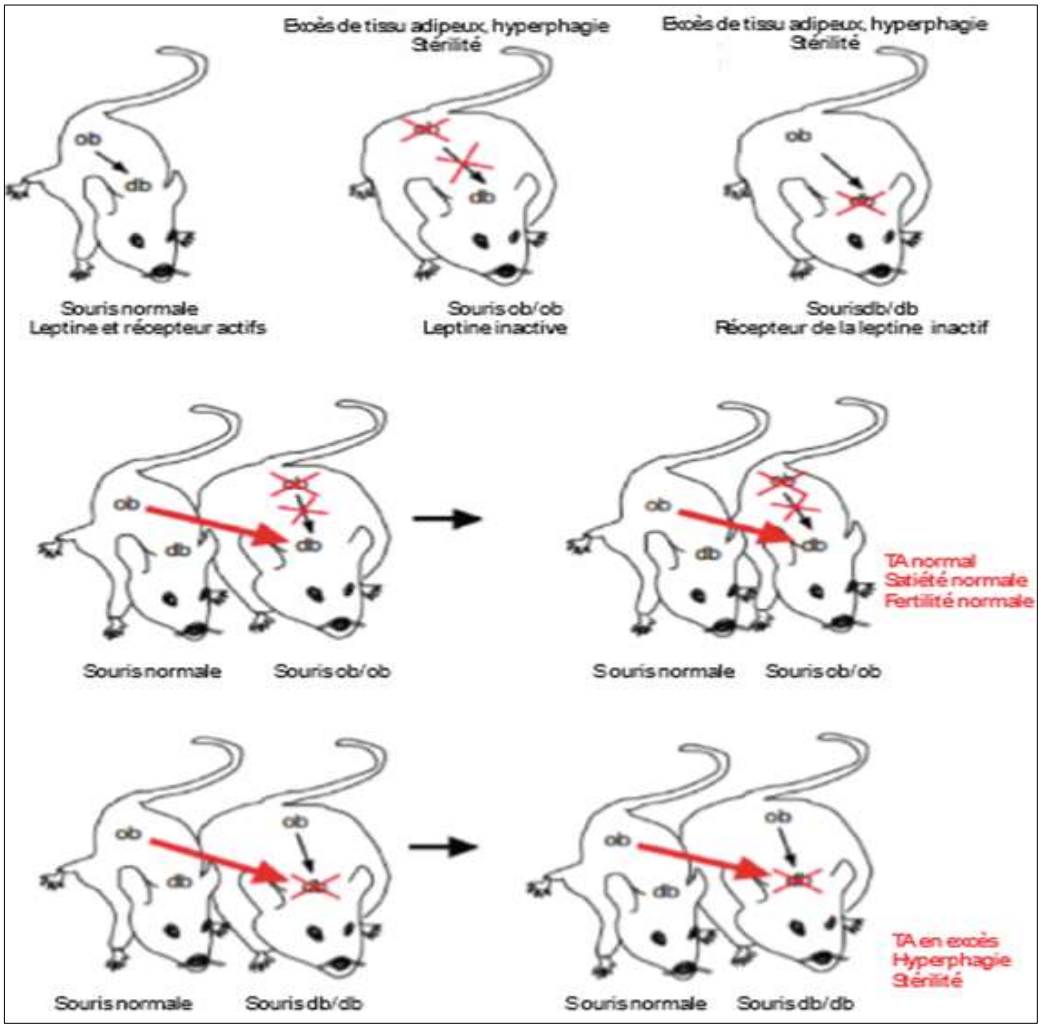

Figure 1 : Expériences de parabiose

Circulations croisées entre souris normales, souris ob/ob et souris db/db, qui démontrent l'existence potentielle d'une substance hormonale transportée par la circulation sanguine et qui pourrait réguler l'ingestion et l'accumulation de lipides corporels (TA : Tissu adipeux) : hypothèse du "lipostat", (d'après Coleman, 1973, 1978 et 1981, *in:* Chemineau et *al*., 1999)

1.2 Localisation et organisation du gène ob

Le gène « *obese* », codant pour la leptine, a été identifié pour la première fois chez la souris, sur le chromosome 6 (Zhang et *al*., 1994). Il est localisé sur le bras long du chromosome 7 chez l'homme (Geffroy et *al*., 1995) et sur le chromosome 4 chez le rat (Isse et *al.*, 1995).

Le gène ob est composé de 3 exons séparés par 2 introns. La séquence codante de la protéine Ob est localisée au niveau des exons 2 et 3 et code pour un ARNm de 4,5 kb environ chez le rat.

Chez la souris, la taille totale du gène obese est de 20 kb. La taille de l'exon 1 est de 26 pb, celle de l'exon 2 (qui possède l'ATG) est de 175 pb et celle de l'exon 3 (qui possède le TGA est de 2600 pb au minimum. Les introns 1 et 2 mesurent 7,5 et 1,7 kb respectivement (Fig. 2) (He et *al*., 1995).

Chez l'homme, le gène ob mesure environ 20 kb. La taille des différents exons chez l'homme et la souris est comparable. Les introns 1 et 2 sont cependant plus grands avec 10 kb et 2,3 kb respectivement (Fig.2) (Isse et *al*., 1995). Cette séquence correspond à un peptide, la proleptine, de 167 acides α aminés. Il se compose d'un peptide signal de 21 acides α aminés éliminé ultérieurement dans les citernes du réticulum suivi des 146 acides α aminés de la leptine qui subira comme seule modification post traductionnelle la formation des ponts disulfures (Faure, 2007).

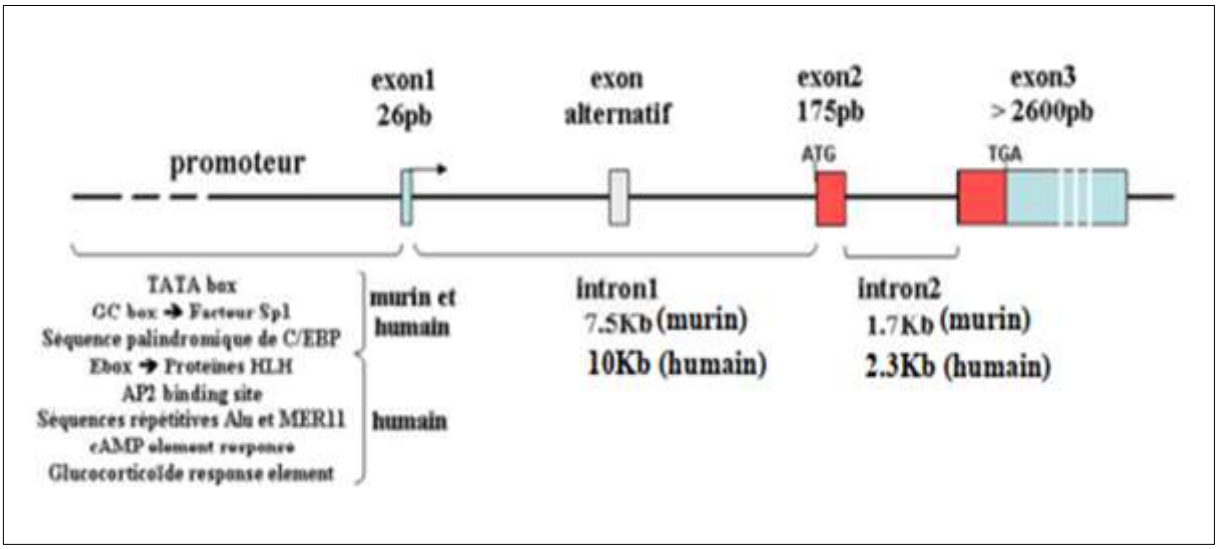

Figure 2 : Taille et caractéristiques du gène obese murin et humain (Isse et *al*., 1995)

1.3 De la séquence génique et protéique à la fonction

Suite à l'obtention de la séquence nucléotidique du gène ob, son analyse en fonction des critères de similitude ou d'homologie a permis l'identification d'une séquence caractéristique d'une protéine extracellulaire sécrétée (Zhang et *al*., 1994). L'équipe de Bryant (1995) a établi, à partir

de la séquence peptidique, les différentes structures 3D potentielles de la leptine, et recherché des similitudes dans des banques de données adaptées. Ils ont alors suggéré que le produit du gène ob code pour une protéine pouvant adopter une structure similaire aux cytokines hélicoïdales de type Interleukine-6 (IL-6) (Madej et *al*., 1995).

La leptine est une protéine de 16 KDa. 67% de sa séquence peptidique est conservée entre les différentes espèces. Il existe un fort taux d'homologie entre la leptine de rat et de souris et entre la leptine de souris et la leptine humaine avec respectivement 83 et 84% d'homologie (Zhang et *al*., 1997).

La structure de la leptine est caractérisée par quatre hélices alpha antiparallèles (A à D) connectées par deux longues boucles (AB et CD) et une plus courte (BC). La partie N-terminale de la protéine est indispensable à l'activité biologique de la leptine. Elle comporte un pont disulfure entre les cystéines 96 et 146, qui serait important pour la sécrétion, la stabilité et la solubilité de la leptine (Fig. 3) (Imagawa et *al*., 1998).

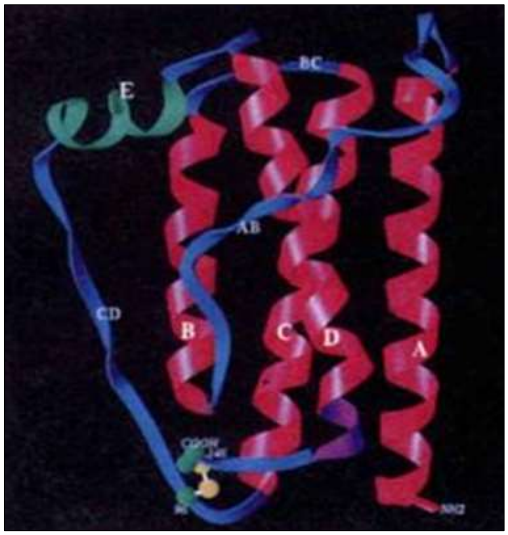

Figure 3 : Structure tridimensionnelle de la leptine (Zhang et *al*., 1997)

Les 4 helices alpha sont representées en rouge (A,B,C,D), l'extention C-terminale de l'hélice D est en rose, la petite helice E est en vert, les boucles de connexion entre les hélices sont en bleues (AB,BC,CD), le pont disulfure entre les cysteines 96 et 146 est representée en rouge.

Initialement, les adipocytes du tissu adipeux blanc étaient considérés comme les cellules productrices de leptine. Cependant, une synthèse physiologique de leptine a été mise en

évidence dans de nombreux tissus notamment le muscle, le foie, l'hypophyse, le placenta, l'estomac (Jin et *al*., 1999 & 2000 ; Morash et *al*., 1999), la glande mammaire, les glandes surrénales et les os (Budak et *al*., 2006). La régulation de la synthèse de leptine est différente

selon les tissus considérés et elle est soumise à un grand nombre de facteurs de régulation, dont l'importance relative dépend de l'état physiologique de l'organisme (Smallwood, 2007).

1.4 Récepteur de la leptine

Le récepteur de la leptine ou Ob-R a été identifié pour la première fois chez la souris par Tartaglia et *al.* en 1995. 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-XTrp-Ser (WSXWS), ainsi que plusieurs sous-domaines de type fibronectine III (Bazan, 1990). Ob-R présente une forte analogie structurale avec la Glycoprotéine 130 (gp 130) qui est un composant du récepteur de l'IL-6, avec le récepteur du G-CSF (Granulocyte Stimulating Factor) et avec le récepteur du LIF (Leukemia Inhibitory Factor) (Tartaglia et *al.*, 1995).

1.4.1 Différentes isoformes de récepteur de la leptine

Le récepteur Ob-R est codé par le gène db (Tartaglia et *al.,* 1995) qui peut subir des mécanismes d'épissage alternatif aboutissant à au moins 6 isoformes. Le gène diabetes codant pour Ob-R possède 17 exons communs à toutes les isoformes et plusieurs exons alternatifs. Toutes les isoformes d'Ob-R partagent le même domaine extracellulaire amino-terminal de 816 aa possédant le site de liaison du ligand, un domaine fibronectine de type III, un pont disulfure indispensable à l'interaction avec la leptine ainsi que le motif : Trp-Ser-X-Trp-Ser caractéristique de la famille des récepteurs de cytokines de classe I (Kishimoto et *al*., 1994 ; Ahima et Flier, 2000).

Les isoformes diffèrent au niveau des domaines membranaire ou intracellulaire carboxy-terminal et sont classées en trois catégories distinctes (Fig. 4) :

- l'isoforme longue : Ob-Rb ;
- les isoformes courtes : Ob-Ra, Ob-Rc, Ob-Rd et Ob-Rf possédant un domaine intracellulaire réduit ;
- l'isoforme circulante ou Ob-Re ne possédant ni domaine membranaire ni domaine intracellulaire.

Ob-Rb est fortement exprimée dans le noyau arqué de l'hypothalamus qui régule l'appétit, les dépenses énergétiques et la libération des gonadotrophines hypophysaires, mais aussi, à un moindre degré dans les autres structures hypothalamiques impliquées dans le métabolisme énergétique, les noyaux ventromédian et dorsomédian, et dans les méninges adjacentes, notamment le plexus choroïde et la leptoméninge (Mercer et *al*., 1996).

Ob-Ra est également impliquée dans le transport actif de la leptine du sang vers le cerveau. Cette isoforme est fortement exprimée au niveau des micro-vaisseaux cérébraux et du plexus choroïde,

structures qui constituent respectivement la barrière hémato-encéphalique et la barrière hémato-fluide cérébrospinal (Bjorbaek et *al*., 1998).

Les trois isoformes courtes Ob-Rc, Ob-Rd et Ob-Rf sont moins exprimées que Ob-Ra et le sont retrouvés uniquement dans certains tissus. De plus, contrairement à Ob-Ra, leurs séquences sont faiblement conservées entre les espèces (Ahima et Flier, 2000).

Ob-Re ne possède ni le domaine transmembranaire ni le domaine intracellulaire de Ob-R. Ce récepteur circulant correspond à la protéine de liaison soluble de la leptine ou « Binding protein» (Li et *al*., 1998).

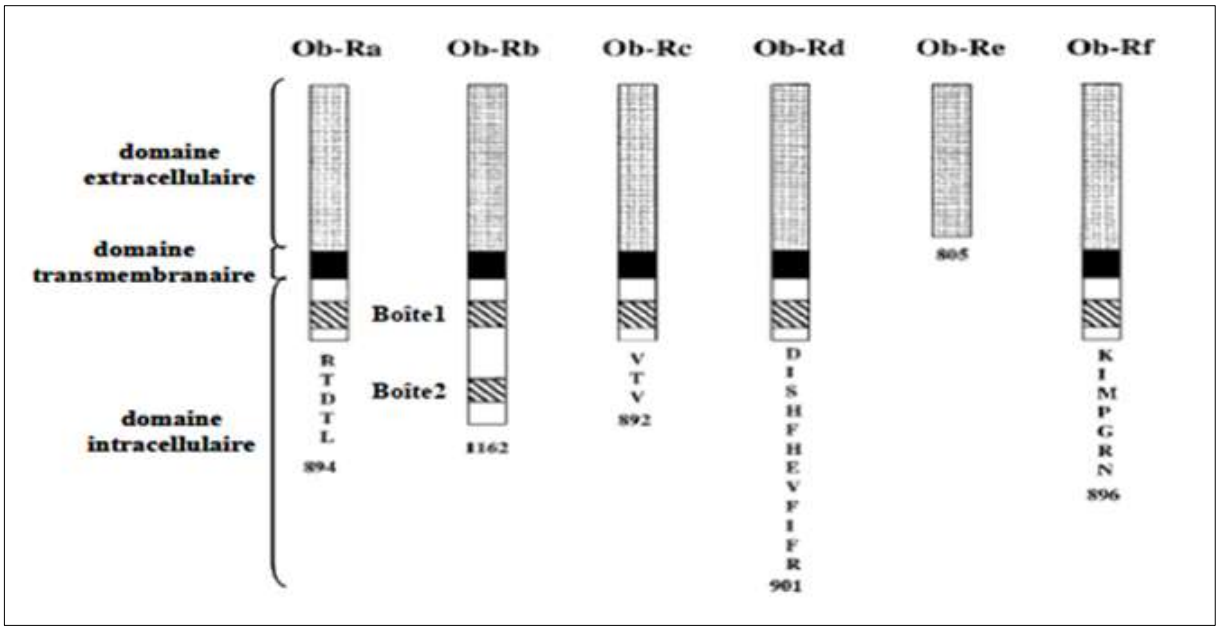

Figure 4 : Les différentes isoformes du récepteur de la leptine (Ahima et Flier, 2000)

1.4.2 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 (Faure, 2007).

Ob-Ra est l'isoforme la plus exprimée au niveau périphérique, en termes de quantité et de localisation, tandis qu'Ob-Rb est plus exprimée au niveau central. En effet, Ob-Ra semble exprimée dans l'ensemble des tissus périphériques étudiés (hypophyse, foie, muscles squelettique et lisse, cœur, reins, pancréas, os, poumons, intestin, testicule, ovaire, rate, glande médullosurrénale et tissus adipeux) suggérant une grande diversité dans les fonctions de la leptine et dans les processus biologiques qu'elle régule (Smallwood, 2007).

Initialement, l'expression d'Ob-Rb n'avait été montrée qu'au niveau central. Cependant, quelques études ont montré la présence de Ob-Rb au niveau de la médullosurrénale, du rein, du poumon, du muscle et du foie (Hoggard et *al*., 1997 ; Tsuchiya et *al*., 1999 ; Kim et *al*., 2000).

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 (Slieker et *al.*, 1996). Par ailleurs, 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 (Shigemura et *al.*, 2003).

1.5 Voies de signalisation activées par le récepteur de la leptine

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 (Faure, 2007).

Comme pour les autres récepteurs de la famille des récepteurs à cytokines, la voie JAK / STAT (Janus Kinases / Signal Transducers and Activators of Transcription) est activée, mais d'autres voies de signalisation ont également été mises en évidence, notamment l'activation de la voie MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase), de la voie PI3K (Phosphoinositide 3-Kinase) et de la voie AMPK ou AMP-Activated Protein Kinase (Faure, 2007).

1.5.1 Voie JAK / STAT

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 particuliers 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 d'OB-Rb (Y985, Y1077, Y1138). 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 (Fig. 5) (Hekerman et *al*., 2005).

Les isoformes courtes du récepteur ne possèdent pas les sites de phosphorylation nécessaires à la liaison des facteurs STATs et sont donc incapables d'activer cette voie (Catalono et *al.*, 2009).

Chez l'homme et les rongeurs, l'injection de leptine induit l'activation de STAT3 dans les principaux tissus impliqués dans le contrôle de la balance énergétique : le tissu adipeux (Bendinelli et *al*., 2000), le muscle et le foie (Kim et *al*., 2000), les îlots de Langerhans (Morton et *al*., 1999) et l'hypothalamus (Vaisse et *al*., 1996). STAT1 est également activée par la leptine *in vivo*, principalement au niveau du tissu adipeux (Bendinelli et *al*., 2000), ainsi que STAT5 au niveau de l'intestin (Morton et *al*., 1998).

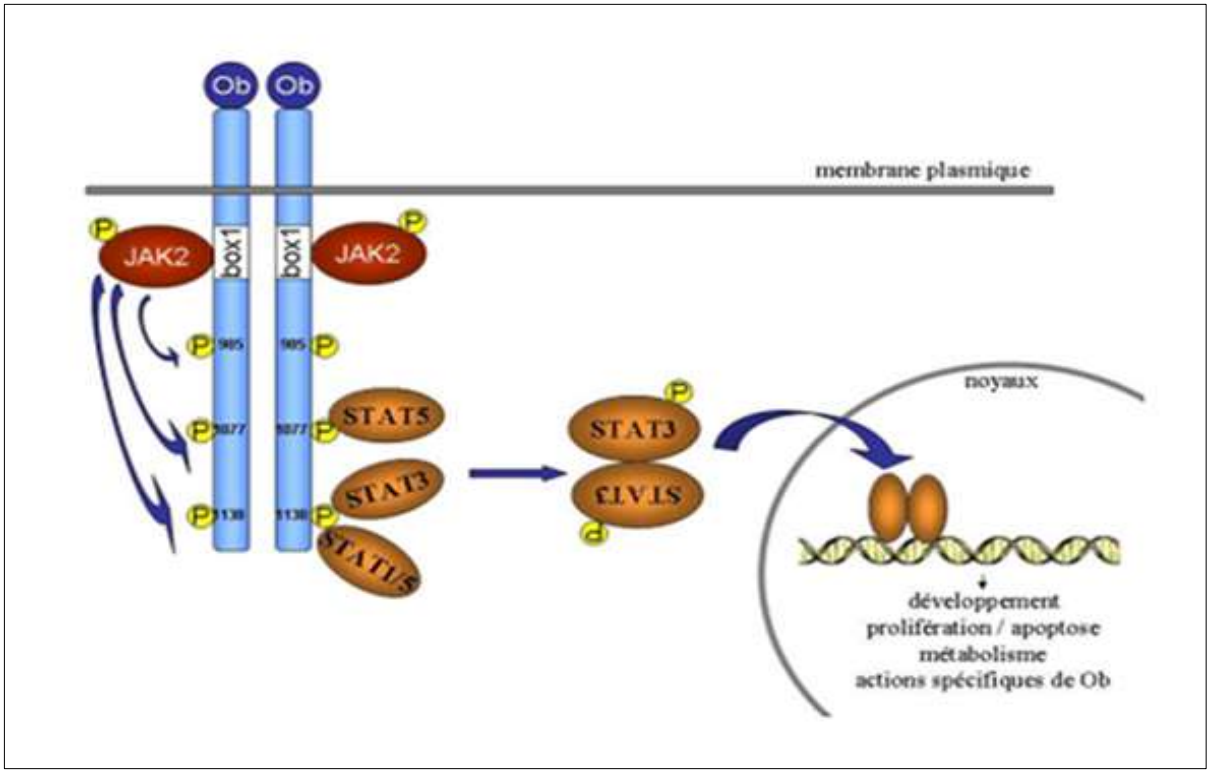

Figure 5 : Voie de signalisation STAT

La liaison de la leptine sur son récepteur entraine l'activation de JAK2, qui induit alors l'activation complète de Ob-Rb en phosphorylant ses résidus tyrosines 985, 1077 et 1138. Y1077 permet le recrutement et l'activation de STAT5 et Y1138 le recrutement et l'activation de STAT1, STAT3 et STAT5. Les protéines STAT activées s'homodimérisent et subissent une translocation nucléaire ou elles stimulent la transcription de leur gènes cibles (Smallwood, 2007).

1.5.2 Voie des MAPK

La voie des MAPK joue un rôle prépondérant dans l'homéostasie énergétique de la cellule. Elle stimule la production d'énergie en agissant par exemple sur le transport du glucose et l'oxydation des acides gras, et freine la consommation énergétique en inhibant la lipogenèse, la gluconéogenèse et la synthèse protéique. Contrairement à la voie JAK / STAT, la voie des MAPK peut être activée par l'isoforme longue et les isoformes courtes du récepteur de la leptine. Son

activation peut être initiée selon deux voies distinctes, via le domaine intracellulaire phosphorylé du récepteur ou indépendamment de celui-ci (Bjorbaek et *al*., 1997).

La famille des protéines MAPK comprend douze membres qui forment une véritable cascade de signalisation activée entre autres par les cytokines. Cette cascade est activée par la leptine via Ob-Rb et plus faiblement via Ob-Rs. En effet, la cascade Ras / Raf /…/ MEK / ERK (Mitogen-activated Kinase / Extracellular signal Regulated Kinase) peut être stimulée par l'intermédiaire du domaine intracellulaire phosphorylé de Ob-Rb ou indépendamment de celui-ci par JAK2. Cependant dans les deux cas, l'activation de la protéine SHP-2 (SH2 domain-containing protein tyrosine Phosphatase) est indispensable pour une activation maximale de cette voie de signalisation (Bjorbaek et *al*., 2001). SHP-2 est recrutée par Ob-Rb au niveau du résidu tyrosine Y985 (Li et Friedman, 1999) ou par JAK2 de façon directe ou indirecte. SHP-2 permet alors le recrutement de la protéine adaptatrice Grb-2 (Growth factor Receptor Binding protein 2) (Banks et *al*., 2000). Grb-2 active ensuite la protéine membranaire SOS (Son Of Sevenless), qui phosphoryle à son tour une autre protéine membranaire Ras, déclencheur de la cascade des MAPK. Les MEK-1/2 induit sa translocation nucléaire (Horgan et Stork, 2003) où en coopération avec des facteurs de transcription, elle régule l'expression de gènes-cibles tels que c-fos et egr-1 impliqués dans les processus de prolifération et de différenciation. La voie IRS/PI3K peut également activer la voie MAPK par l'intermédiaire de la protéine PKC ou Protéine Kinase C (Fig. 6) (Smallwood, 2007).

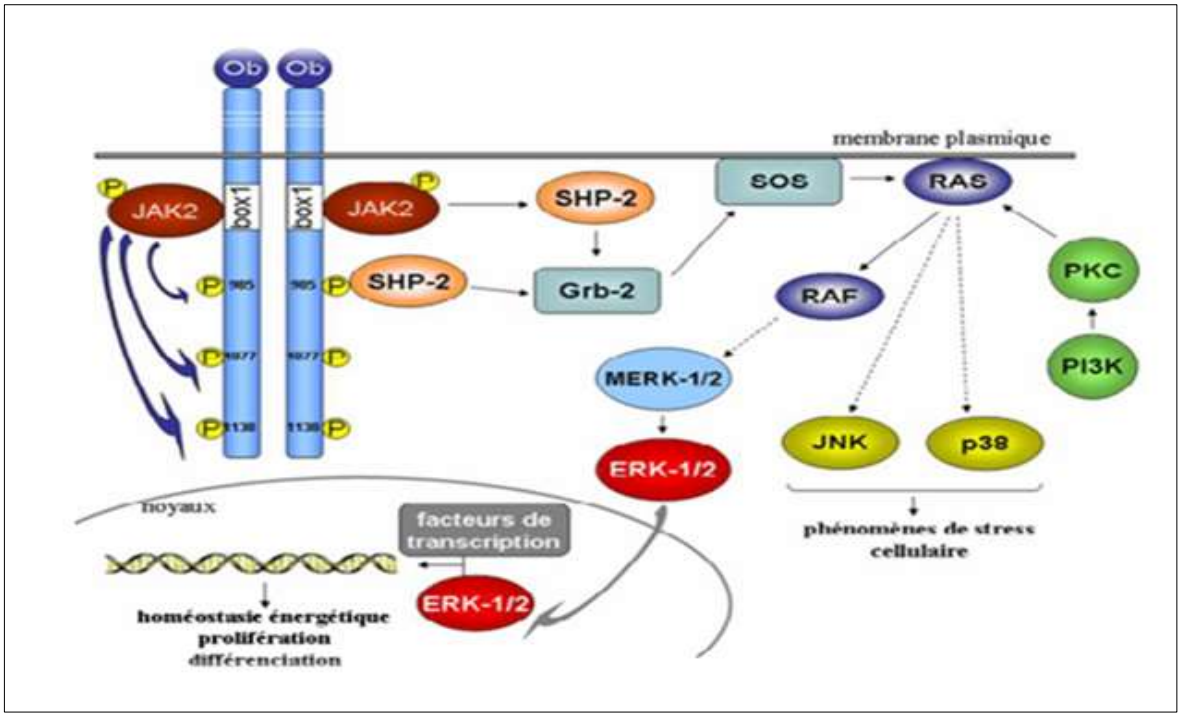

Figure 6 : Voie de signalisation des MAPK (Smallwood, 2007)

2 Chapitre 2 : Système reproducteur de la ratte

2.1 Appareil génital de la ratte

Le tractus génital femelle est composé de l'ovaire, de l'utérus en communication, d'une part avec deux oviductes par l'intermédiaire des cornes utérines, et d'autre part avec le vagin par l'intermédiaire du col utérin **(**Fig. 7).

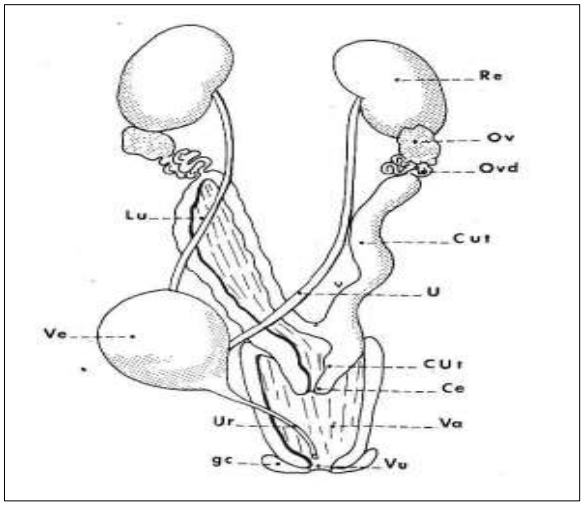

Figure 7 : Appareil reproducteur de la ratte (Rugh, 1968)

Ce : cervrix ; Cut : corne utérine ; CUT : corps utérin ; gc : glande clitoridienne ; Lu : lumière utérine ; Ov : ovaire ; Ovd : oviducte ; Re : Rein ; U : utérus ; Ur : urètre ; Va : vagin ; Ve : vessie ; Vu : vulve

2.1.1 Ovaires

Les ovaires sont des glandes paires situés juste sous les reins. Ils sont de forme, de dimension et de localisation variables selon l'espèce. Chaque ovaire est un organe ovoïde, bosselé, réuni au ligament large par un pédicule qui s'insère au niveau du hile et constitue le mésovarium (Barone, 1978 ; Waynforth et *al*., 1992).

La section sagittale de la gonade montre essentiellement deux parties (Barone, 1978) :

- Une zone périphérique corticale ou *cortex* ovarien comprenant un épithélium germinatif (de Balfour), la *tunica albugina*,, des formations cellulaires représentant les différents stades évolutifs du follicule ovarien ainsi qu'un stroma cortical constitué de cellules fusiformes groupées en faisceaux, de quelques cellules musculaires lisses et de cellules interstitielles volumineuses polygonales à fonction endocrine.
- Une zone centrale dite *medulla* contenant des nerfs, des vaisseaux lymphatiques et de très nombreux vaisseaux sanguins. Les artères ont un trajet tortueux, hélicoïdal lorsqu'elles pénètrent dans la corticale.

2.1.2 Oviductes

Les oviductes ou trompes de Fallope (ou salpinx) sont sinueux chez la ratte et liés au segment propre de l'ovaire (Raynaud, 1969). Ils assurent la fécondation, le transport des gamètes mâles et, en cas de fécondation, celui de l'embryon dans sa phase de vie libre (Vaissaire, 1977).

Chaque oviducte comporte quatre segments anatomiques (Vaissaire, 1977) : le pavillon (infundibulum), l'ampoule, l'isthme et une portion interstitielle s'ouvrant dans la cavité utérine par l'orifice utérin. La paroi de la trompe comprend trois couches disposées concentriquement de la lumière à la périphérie (Barone, 1978) : une muqueuse plissée, une musculeuse et une séreuse épaisse contenant des vaisseaux et des nerfs.

2.1.3 Utérus

Chez la ratte, l'utérus présente une morphologie de type *bicornis*. Par ses sécrétions et sa motricité, l'utérus est impliqué à la fois dans le transport des spermatozoïdes et/ou des ovules fécondés (Rousseau et Menezo, 1991), dans l'implantation et la croissance de l'embryon puis dans l'expulsion du fœtus à l'issue de son développement (Vaissaire, 1977).

De la lumière à la périphérie, la paroi utérine est composée de trois tuniques (Fig. 8) (Barone, 1978) :

- une muqueuse ou endomètre qui présente d'importantes variations structurales selon la portion d'utérus considérée et selon le stade du cycle sexuel ou de la vie génitale. L'endomètre joue un rôle important dans la nidation et dans la constitution du placenta.
- une musculeuse ou myomètre comportant :
  - ✓ une couche musculaire lisse interne très épaisse à orientation surtout circulaire ;
  - ✓ une couche superficielle externe plus mince constituée de faisceaux orientés longitudinalement.
  - ✓ Ces deux couches musculaires sont séparées par du tissu conjonctif contenant un important plexus vasculaire, de nombreuses fibres nerveuses végétatives et élastiques.
- une séreuse formée d'un tissu conjonctif lâche riche en fibres.

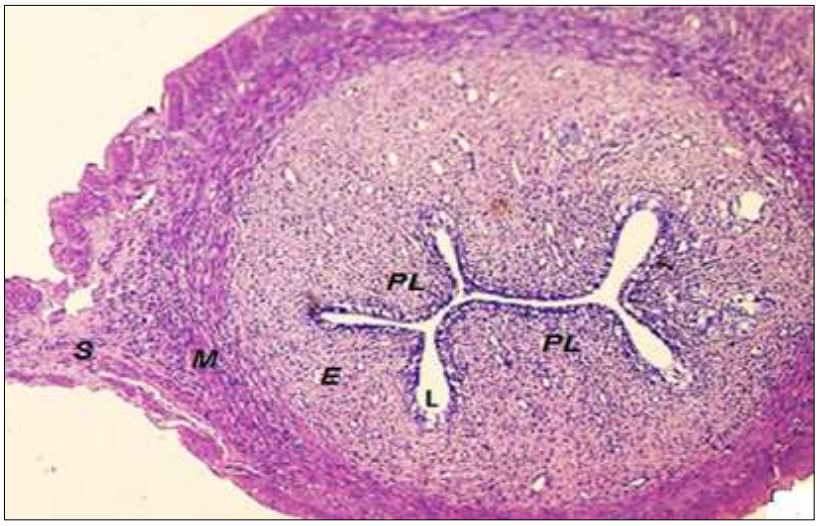

Figure 8 : Section d'une corne utérine de ratte albinos colorée à l'Hémalun Eosine (X100)

(El Morshedy *et al*., 2020)

E : Endomètre, L : Lumière, M : Myomètre, PL : Plis longitudinaux, S : Séreuse

2.1.4 Vagin

Le vagin est un tube musculaire qui s'étend du col au vestibule. La muqueuse présente des plis longitudinaux plats qui s'étendent sur toute la longueur du vagin (Preidklans et Leiser, 1998). Avec la vulve, il constitue l'organe copulateur de la femelle et livre passage au fœtus lors de la parturition. La paroi du vagin comporte trois couches disposées concentriquement de l'intérieur vers l'extérieur : une muqueuse, une musculeuse et une adventice (Barone, 1978).

2.1.5 Vestibule vaginal

C'est la partie la plus caudale du vagin où se rejoignent les systèmes reproducteur et urinaire. On retrouve dans le vestibule la fosse clitoridienne où se trouve le clitoris (Barone, 1978).

2.1.6 Vulve

Elle correspond au sinus uro-génital de la femelle (Barone, 1956). C'est la partie visible du système reproducteur femelle des mammifères (Barone, 1978).

D'une manière générale, le poids et la dimension des différentes parties du tractus génital, sont variables selon les espèces animales. Le tableau 1 indique les valeurs chez la ratte.

Tableau 1 : Poids et dimensions des organes génitaux chez la ratte (*In:* Vaissaire, 1977)

Ovaire			**Oviducte**	**Utérus**		**Vagin**
Poids (mg)	**Longueur (cm)**	**Largeur (cm)**	**Longueur (cm)**	**Poids (g)**	**Longueur (cm)**	**Longueur (cm)**
70 à 90	0.5	0.3	2.5-3	0.3-0.43	4.6	2.5
Chen (1968) Ber (1972)	Altman (1962)	Altman (1962)	Altman (1962)	Ber (1972)	Altman (1962)	Altman (1962)

2.2 Cycle œstral

2.2.1 Régulation du cycle œstral

Chez la ratte, le cycle œstral dure 5 à 6 jours (Vaissaire, 1977) et est sous le contrôle de trois hormones d'origine hypophysaire (Kenmonge, 2007) :

- FSH (Follicule Stimulating Hormone) : Elle stimule la croissance et la maturation folliculaire, et favorise également la synthèse des œstrogènes par les follicules ;
- LH (Luteinizig Hormone) : Elle achève la maturation folliculaire et provoque l'ovulation ;
- LTH (Hormone lutéotrope ou Prolactine) : Elle stimule chez la rate la formation du corps jaune et la sécrétion de progestérone.

L'hypothalamus intervient pour stimuler la sécrétion hypophysaire de gonadostimulines (FSH et LH) par le biais de la GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone ou Gonadolibérine) et inhibe la sécrétion hypophysaire de la LTH par la PIH (Prolactin Inhibing Hormone) (Santulli et Awogini, 1990 ; Oakberg, 1996). Les secrétions hypophysaires de FSH ou de LH dépendent du rythme de sécrétion de la GnRH, un rythme lent favorise la sécrétion de FSH et un rythme rapide celle de LH (Santulli et Awogini, 1990 ; Oakberg, 1996).

L'hypothalamus qui reçoit les informations du cortex agit par l'intermédiaire de la GnRH au niveau de l'hypophyse pour induire la sécrétion de la FSH qui provoque la croissance d'un ou de plusieurs follicules ovariens : c'est le phénomène de recrutement**.** Ces follicules produisent des œstrogènes qui atteignent un certain seuil et exercent un rétrocontrôle positif sur l'hypothalamus qui induit la libération hypophysaire de LH responsable de la maturation folliculaire (phénomène de croissance), l'ovulation (phénomène de dominance), et la formation du corps jaune (lutéogénèse). Le corps jaune produit la progestérone qui exerce une rétroaction négative sur l'hypothalamus et empêche la croissance terminale de nouveaux follicules. L'utérus produit à son tour la PGF2α (prostaglandine F2 α) qui provoque la régression du ou des corps jaunes et la chute du taux de progestérone à l'origine d'un nouveau cycle (Fig. 9) (Picard-Hagen et *al*., 1997).

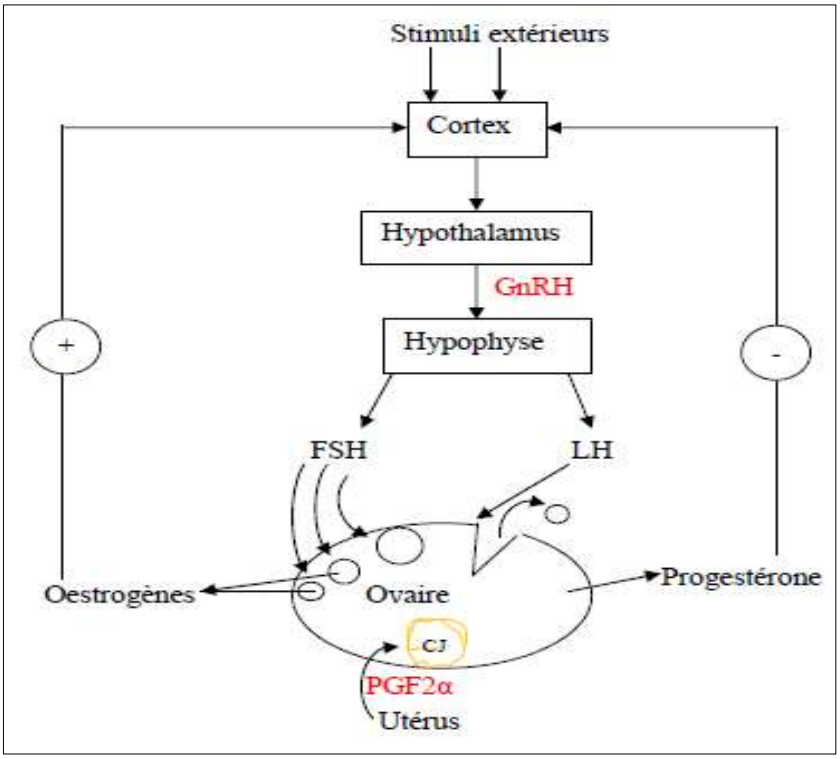

Figure 9 : Schéma simplifié de la régulation hormonale du cycle œstral (Picard-Hagen et *al*., 1997)

2.2.2 Modifications de la structure utérine au cours du cycle œstral

Au cours du cycle sexuel, le tractus génital subit des modifications structurales et de fonctionnement sous l'influence de diverses hormones. Les principales modifications histologiques de l'utérus au cours du cycle ont lieu au niveau de l'endomètre (Preidkalns et Leiser, 1998 ; Banks, 1993) :

- *Proœstrus* : Sous l'influence des œstrogènes, l'endomètre est restauré, la muqueuse commence à s'hypertrophier et les cellules épithéliales cylindriques deviennent plus hautes. La prolifération glandulaire débute mais le corps glandulaire est encore droit à ce stade et les glandes ne sont pas ramifiées. La vascularisation et la congestion du chorion augmentent, des hémorragies peuvent survenir. Quelques polynucléaires neutrophiles commencent à envahir l'épithélium.
- *Œstrus* : La prolifération épithéliale, superficielle et glandulaire continue. L'activité sécrétoire des cellules augmente. L'infiltration inflammatoire de l'épithélium se poursuit et devient mononuclée. Le chorion est caractérisé par une congestion maximale accompagnée d'œdème et d'hémorragies.
- *Metœstrus* : L'hyperplasie glandulaire se poursuit et les glandes deviennent contournées et ramifiées. L'activité sécrétoire est toujours maximale. En revanche, la congestion des vaisseaux et l'œdème du chorion régressent.

- *Diœstrus* **:** Sous l'influence de la progestérone, l'hyperplasie glandulaire est maximale et les glandes apparaissent très contournées. En l'absence de fécondation, sous l'effet de la régression du corps jaune, la vascularisation diminue et l'activité sécrétoire est arrêtée. L'épithélium de surface et les glandes subissent alors une involution.

Parallèlement aux modifications histologiques de l'endomètre, des variations de l'activité contractile du myomètre sont observées.

2.3 Effet des stéroïdes sexuels, des prostaglandines et de l'ocytocine sur l'utérus

2.3.1 Œstrogènes

Les œstrogènes, représentés par l'œstradiol, l'œstriol et l'œstrone sont des hormones stéroïdiennes qui dérivent du cholestérol. Ils sont synthétisés en grande partie dans les ovaires par l'activité aromatase des cellules de la granulosa et, lors de la gestation, par le placenta. Ils agissent via des récepteurs nucléaires (ERa et ERp) afin de modifier la transcription de certains gènes. L'isoforme p est la forme prédominante dans l'ovaire. Différents rôles ont été identifiés pour les deux isoformes : ERa inhiberait l'ovulation et la croissance utérine, tandis qu'ERp stimulerait la croissance folliculaire et augmenterait le nombre d'ovocytes relâchés à l'ovulation. Durant le cycle œstral, la synthèse d'estrogènes varie. Chez la ratte, des variations des niveaux d'œstrogènes ont été observées, leur concentration est maximale juste avant l'œstrus (Drummond, 2006).

2.3.2 Progestérone

La progestérone est une hormone synthétisée principalement au niveau de l'ovaire. Elle provient de la transformation du cholestérol en prégnénolone puis en progestérone sous l'action de deux enzymes (déshydrogénase et isomérase). La concentration de progestérone varie au cours du cycle œstral. Lors de la gestation, elle est sécrétée par le corps jaune et joue un rôle important dans le maintien de la gestation, et aussi par le placenta (Levasseur et *al*., 2001). La progestérone agit via des récepteurs nucléaires, lesquels sont présents au niveau de l'endomètre (Mulac-Jericevic *et al.* 2000 & 2003).

2.3.3 Prostaglandines (PG)

Les prostaglandines (PG) sont de petites molécules dérivées d'acides gras polyinsaturés et appartenant à la superfamille des eicosanoïdes. Le précurseur des prostanoïdes, l'acide arachidonique subit une oxydation puis une réduction par les enzymes COX1 et COX2 (Cyclooxygénases 1 et 2 alias PGHS1 et PGHS2 : Prostaglandin endoperoxydase H synthases1 and 2), pour être transformé en PGG2 (Prostaglandin endoperoxydase G2) puis en PGH2

(Prostaglandin endoperoxydase H2). La PGH2 est ensuite convertie par des PG synthases (PGDS, PGES, PGFS ou PGIS, ou TxAS : Thromboxane) en prostaglandines PGD2, PGE2, PGF2α, ou Prostacyline (PGI2) ou Thromboxane A2 (TxA2) respectivement. Ces molécules sont sécrétées et activent des récepteurs à 7 domaines transmembranaires, couplés aux protéines G, les GPCR (G Protein Coupled-receptor). Il en existe neuf membres : DP1 et DP2 (ou CRTH2) pour la PGD2, EP1-4 pour la PGE2, FP pour la PGF2α, IP pour la PGI2 et TP pour le TxA2, qui transduisent des signaux différents via la production des seconds messagers AMPc ou IP3 / Diacylglycérol / Ca^{++} (Fig. 10) (Breyer et *al*., 2001 ; Hata et Breyer, 2004).

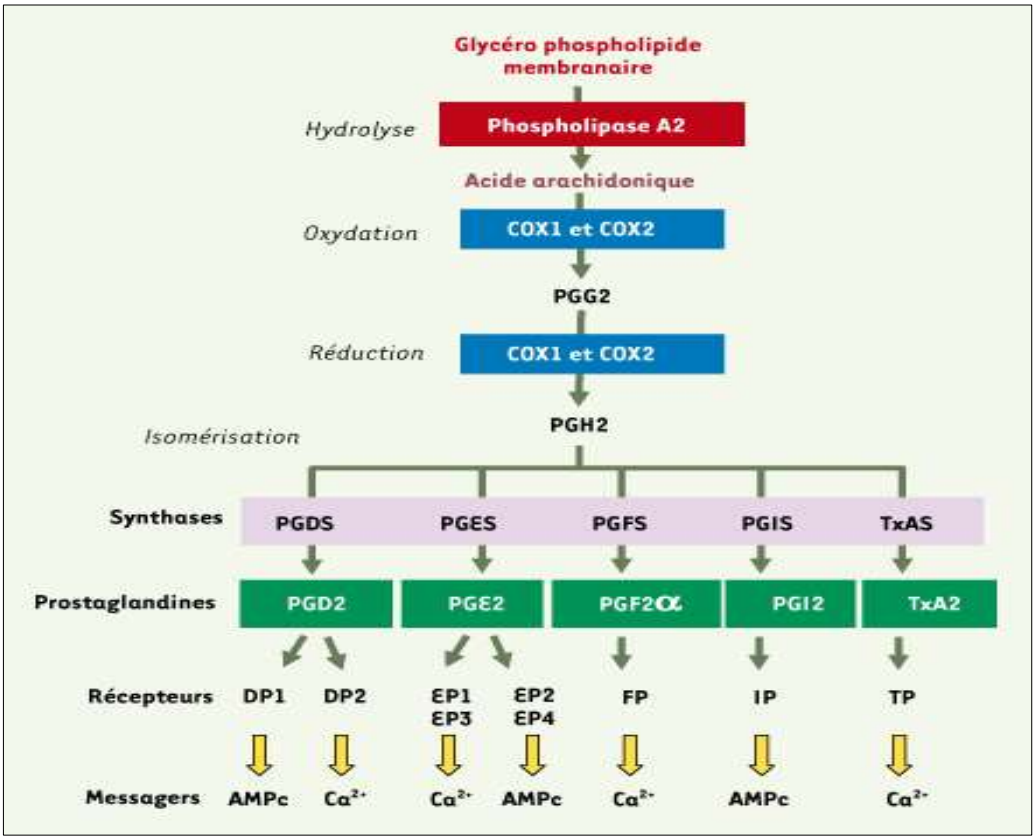

Figure 10 : Synthèse et actions des prostaglandines (Breyer et *al*., 2001; Hata et Breyer, 2004)

PGF2α est synthétisée par la PGFS et agit via son récepteur FP qui est très peu sélectif et peut lier également PGD2 et PGE2 à certaines concentrations (Hata et Breyer, 2004). PGE2 est synthétisée par PGES, qui existe sous deux isoformes : microsomale ou cytosolique, et peut se lier à quatre récepteurs distincts : EP1, EP2, EP3 et EP4. Les récepteurs EP3 et EP4 ont une plus grande affinité pour PGE2 que EPI et EP2 (Abramovitz et *al*., 2000). Les récepteurs de PGE2 ont été détectés dans le stroma de l'endomètre de rat et leurs concentrations augmenteraient avec la progestérone (Abramovitz et *al*., 2000).

PGF2α et PGE2 principalement produites par l'endomètre, ont fait l'objet de plusieurs études dans le domaine de la reproduction qui ont révélé leur implication dans certaines étapes du cycle œstral (Poyser, 1995) ou menstruel. En effet, PGF2α et PGE2 augmentent à partir du

début du cycle menstruel et atteignent un maximum lors des menstruations (Singh et *al*., 1975 ; Kelly et *al.*, 1984 ; Rees et *al*., 1984).

PGF2α est impliquée dans le contrôle de la vasoconstriction de l'endomètre durant les menstruations (Able et *al*., 1979). Dans le myomètre, elle stimule le muscle lisse et les vaisseaux (Rees et *al*., 1984). Durant les menstruations, PGE2 oppose l'effet relaxant sur le muscle lisse par PGF2α, ce qui entraîne une diminution de l'activité myométriale et l'induction de la vasodilatation dans l'endomètre. Un débalancement du ratio PGF2α / PGE2 peut entraîner des saignements excessifs (ménorragies). Des fluctuations au niveau de la production de PGF2α ont été associées à plusieurs problèmes au niveau des fonctions reproductrices de la femme ainsi qu'au prolongement de saignements menstruels douloureux (Rees et *al*., 1984).

Selon les études réalisées par Kennedy et *al*. (1993), PGE2 jouerait un rôle clé dans le processus de décidualisation chez les rattes au cours de la gestation. Les chercheurs ont observé un rétablissement complet de la réponse utérine suite à des injections de PGE2 chez des rats auxquels la synthèse endogène de PG avait été inhibée par de l'indométacine. Contrairement à PGF2α, PGE2 augmenterait la perméabilité vasculaire (Kennedy, 1980).

D'autre part, PGF2α joue un rôle crucial durant la parturition en augmentant les contractions dans du myomètre induites par l'ocytocine (OT). Selon une étude réalisée par Sugimoto et *al*. (1997), les souris déficientes en récepteur FP présentent des niveaux de progestérone élevés et persistants ainsi que des complications lors de la parturition. Puisque les récepteurs de PGF2α n'ont pas été détectés dans l'endomètre chez la ratte, les effets de cette PG pourraient donc provenir de sa transformation en PGE2.

2.3.4 Ocytocine

L'ocytocine est synthétisée au niveau des noyaux paraventriculaires (PVN) et supraoptiques (SON) de 1'hypothalamus (Brownstein et *al.*, 1980) et libérée par la neurohypophyse en réponse à de nombreux *stimuli* dont l'accouchement et l'allaitement. En effet, cette hormone pléiotropique est capable d'induire un large éventail d'activités physiologiques et est impliquée dans la contraction utérine et l'éjection du lait (Ott et Scott, 1909).

3 Chapitre 3 : Actions physiologiques de la leptine sur la reproduction

Outre son rôle dans la satiété, l'équilibre énergétique et la thermorégulation, la leptine tient une place centrale dans le développement et la régulation de la reproduction. Dans l'hypothalamus, elle régule la sécrétion pulsatile de la LHRH *(Luteinizing Hormone Releasing Hormone)*, dans l'hypophyse elle module la sécrétion des gonadotrophines ; elle agirait aussi directement sur les gonades. Chez les femelles, elle contribue largement au contrôle de l'ovulation, informant l'axe hypothalamo-hypophysaire des réserves énergétiques qui sont une condition limitante pour mener à bien la fécondation, la gestation (Fig. 11) (Bruneau et *al*., 1999).

3.1 Leptine et axe hyopthalamo-hypophyso-gonadique

La leptine exerce une action majeure sur la régulation hypothalamo-hypophysaire de la sécrétion des gonadotrophines, elle est susceptible d'agir directement sur les gonades et constitue un facteur permissif du initiateur de la puberté (Bruneau et *al*., 1999).

L'administration de leptine exogène aux souris ob/ob 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 (Licinio et *al*., 2004). Il est notamment décrit que cette adipokine favorise la sécrétion de GnRH par les neurones hypothalamiques (noyaux arqué et ventromedian), contribuant à augmenter la sécrétion des hormones gonadotropes hypophysaires. La leptine augmente également la fréquence et l'amplitude des pulses de LH (Caron et *al*., 2008).

L'expression élevée du gène ob-R dans les cellules ovariennes suggère un rôle direct de la leptine dans cet organe. En effet, il a été démontré que la leptine inhibe la stéroïdogénèse, en particulier la synthèse d'œstrogènes par les cellules de la granulosa et la synthèse d'androgènes par les cellules de la thèque de manière dose dépendante (Zachow et Magoffin, 1997 ; Spicer et Francisco, 1998). De plus, à dose physiologique, la leptine favorise la maturation méiotique de l'ovocyte. Elle améliore également le taux de fécondation *in vitro* et le développement embryonnaire préimplantatoire chez la souris. Ces effets semblent être réalisés par la voie MAPK associée à la prolifération cellulaire (Ye *et al.*, 2009)

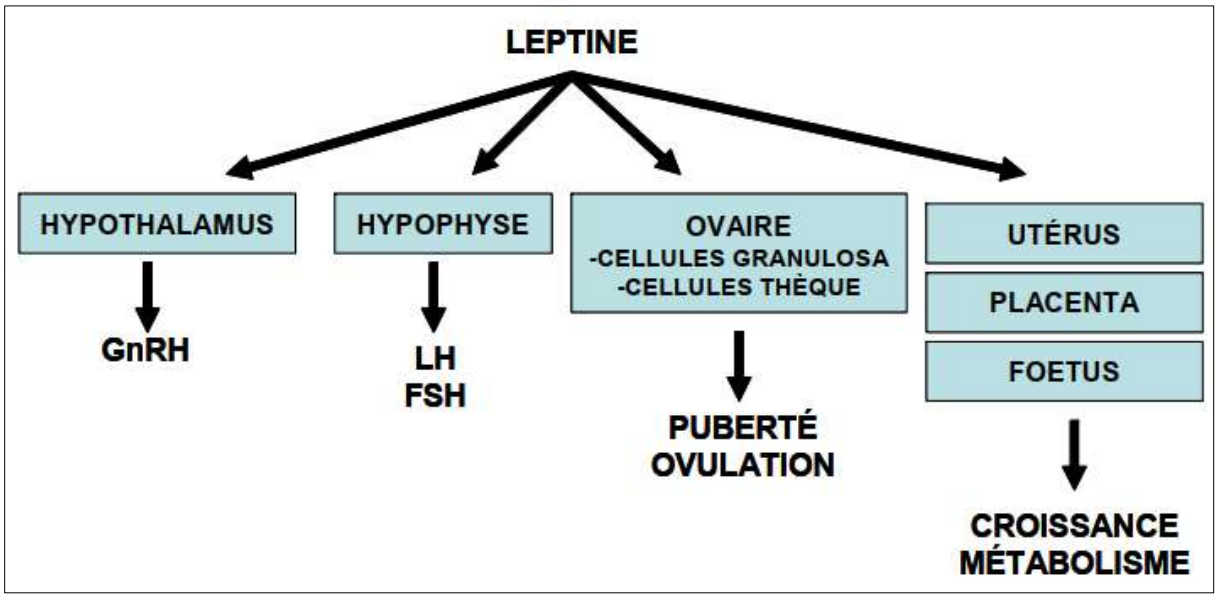

Figure 11 : Effets de la leptine sur les tissus impliqués dans la reproduction (Hossner, 1998)

3.2 Leptine et implantation

L'implantation d'un embryon représente l'étape la plus critique du processus de reproduction, impliquant une séquence complexe d'événements de signalisation cruciaux pour l'établissement d'une grossesse. Un grand nombre de médiateurs moléculaires identifiés ont été supposés être impliqués dans cette interaction fœto-maternelle, y compris hormones, cytokines, facteurs de croissance, lipides et autres (Achache et Revel, 2006). La leptine et ses récepteurs sont exprimés dans l'endomètre tout au long du cycle menstruel (Kitawaki et *al.*, 2000 ; Cervero et *al.*, 2005 ; Craig *et al.*, 2005). De plus, un déficit d'expression d'Ob-R dans l'endomètre a été mis en évidence chez des patients présentant une hypofertilité et des signes d'anomalie de maturation de l'endomètre (Alfer et *al.*, 2000). Par ailleurs, les embryons préimplantatoires expriment l'ARNm d'Ob-R suggérant un rôle important de la leptine dans le développement embryonnaire (Fig. 12).

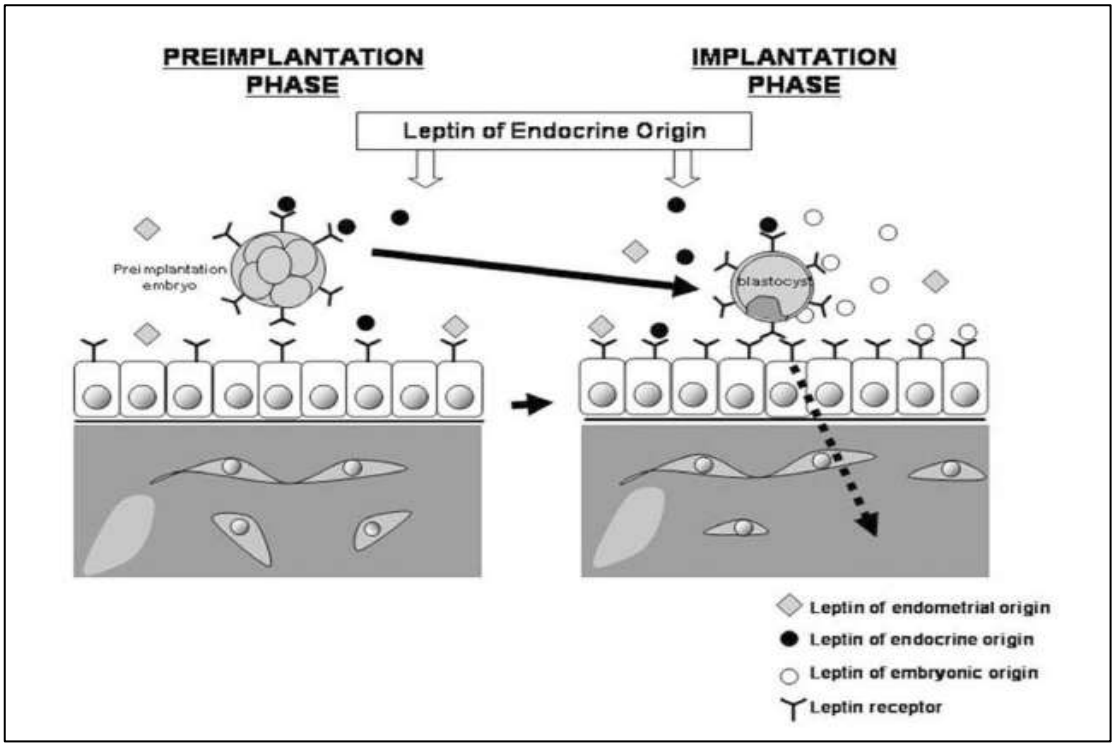

Figure 12 : Hypothèse générale des interactions du système de leptine humaine au niveau de l'interphase materno-embryonnaire pendant la phase de préimplantation et d'implantation
D'après Cervero et *al*. (2004)

3.3 Leptine et 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 d'Ob-Re par le placenta (Haugeul et *al.*, 2006). En parallèle, l'expression des formes longues et courtes du récepteur diminue dans l'hypothalamus, ce qui ne se traduit pas un état de résistance à l'effet central de la leptine sur la prise alimentaire (Cervero et *al.*, 2006). 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 (Cervero et *al*., 2006 ; Haugeul

et *al*., 2006). Elle stimule par ailleurs la production d'hCG (Human Chorionic Gonadotropin) par les cellules du trophoblaste (Faure, 2007).

3.4 Leptine et placenta

La leptine est considérée comme une véritable hormone placentaire (Señarís *et al.*, 1997). Elle est sécrétée par le syncytiotrophoblaste tout au long de la grossesse. Le placenta exprime également le récepteur Ob-R, suggérant un rôle autocrine de la leptine dans la physiologie placentaire. Elle stimule la prolifération et inhibe l'apoptose des cellules trophoblastiques humaines en empruntant la voie MAPK (D'Ippolito *et al.*, 2012). La leptine est également impliquée dans la régulation du processus d'invasion trophoblastique (Schulz *et al.*, 2007). Cet effet est associé à un remaniement de l'activité des métalloprotéases (MMP-2 et MMP-9) (Castellucci *et al.*, 2000). Enfin, la leptine augmente l'expression des transporteurs de nutriments dans les cytotrophoblastes humains et murins, suggérant un rôle de cette adipokine dans le contrôle de la croissance fœtale (Lea et *al.*, 2000 ; Jansson *et al.*, 2003 ; Farley et *al.*, 2010 ; Boeke *et al.*, 2013 ; Rosario *et al.*, 2015 ; Tsai *et al.*, 2015).

3.5 Leptine et contractions utérines

Moynihan *et al.* (2006) ont démontré que la leptine exerçait un effet inhibiteur sur la fréquence et l'amplitude des contractions utérines spontanées ou induites par l'ocytocine.

PARTIE EXPERIMENTALE

4 Matériel & Méthodes

4.1 Matériel

4.1.1 Matériel biologique

L'étude a été réalisée sur des rattes albinos de souche Wistar (*Rattus norvigicus*) provenant de l'animalerie de la Faculté des Sciences Biologiques (FSB) de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumédiene (USTHB).

4.1.2 Matériel non biologique

Les réactifs, colorants, produits chimiques et appareillages ont été fournis par le :

- Laboratoire d'Endocrinologie du Laboratoire de Biologie et de Physiologie des Organismes (LBPO).
- Laboratoire d'Histologie du CHU Nafissa HAMOUD (Ex. Parnet, Alger)

4.2 Méthodes

4.2.1 Expérimentation

Les expériences ont été réalisées sur des animaux répartis en 2 lots :

- 1 lot d'animaux de 30 j (femelles immatures) ;
- 1 lot d'animaux de 60 j (femelles adultes).

Chaque lot comprend un groupe témoin (T) et un groupe expérimental (E). La femelle T et la femelle E correspondante ont un poids initial similaire.

Les rattes ont été soumises à une T° et hygrométrie ambiante et à la luminosité extérieure. L'aliment pour « Rats & Souris » sous forme granulée a été distribué à raison de : 30 g / jour. 200 mL d'eau de boisson additionnée de 0.5 mL de vitamines ont été distribuées quotidiennement.

4.2.2 Protocole expérimental

La leptine (Leptin rat, Lyophilised powder, Sigma-Aldrich®) est diluée à raison de 1 mg / 100 mL d'NaCl à 9‰.

- Les femelles expérimentales reçoivent des injections quotidiennes de leptine à la dose de 8 µg / 100 g de PC par voie intra-péritonéale, au niveau du le cadran inférieur gauche.
- Le même volume de la solution saline (NaCl à 9 ‰) est injecté aux femelles T.
- Le PC est mesuré quotidiennement pendant la période d'essai de 5 jours.
- Le sacrifice est réalisé 24 heures après la dernière injection par décapitation.
- Les cornes utérines sont prélevées et pesées. Les cornes utérines droites sont fixées dans du formaldéhyde à 10% pour une étude histologique.

Remarque : Les étapes de l'expérimentation décrites plus haut (Constitution des lots, injections, mesure du poids corporel, sacrifice, prélèvement et pesée des organes) ont été réalisées antérieurement. L'étude expérimentale proprement dite de cette étude commence par l'étude histologique qui a été initiée au niveau du Laboratoire d'Histologie du CHU Nafissa HAMOUD (Ex. Parnet, Alger), de la période du 02 au17 Février 2020.

4.2.3 Etude histologique

4.2.3.1 Fixation

Elle correspond à l'immobilisation des constituants tissulaires et permet la réalisation des techniques histologiques et les colorations ultérieures. Elle permet la conservation des structures dans un état morphologique aussi proche que possible de l'état vivant.

La fixation est effectuée juste après le sacrifice, immédiatement après récupération et pesée de l'organe.

4.2.3.2 Déshydratation

Les prélèvements fixés sont déposés dans des cassettes en plastiques identifiées, qui sont ensuite placées dans un bac sous l'eau du robinet pendant une heure de temps environ.

Après rinçage, afin d'éliminer le fixateur, les cassettes sont placées dans un automate de déshydratation (Fig. 13) pendant 12 h. L'automate contient :

- 6 bains d'éthanol à 100 ° (2h pour chaque bain) ;
- 4 bains de xylène (1h30 min pour chaque bain) ;
- 2 bains de paraffine (1h30 min pour chaque bain).

Figure 13 : Automate de déshydratation

4.2.3.3 Inclusion

L'inclusion dans de la paraffine consiste à infiltrer et à enrober les tissus à examiner avec de la paraffine dans le but de les solidifier.

- La pièce déshydratée placée dans des cassettes est plongée dans de la paraffine fondue (56 °C à 60°C).
- La pièce est ensuite placée dans un moule contenant de la paraffine fondue.
- Le moule est ensuite posé sur une plaque réfrigérée (Fig. 14a).
- Après rigidification, on procède au démoulage qui permet l'obtention de fragments tissulaires inclus dans un bloc de paraffine (Fig. 14b).

(a) (b)

Figure 14 : Inclusion des pièces dans de la paraffine

4.2.3.4 Coupe & Etalement

Le bloc de paraffine contenant la corne utérine est placé dans un microtome pour des coupes sériées de 3 à 4 µm d'épaisseur (Fig. 15). Les rubans ainsi obtenus sont placés dans un bain-marie réglé à 37ºC, puis recueillis sur des lames en verre préalablement numérotées (Fig. 16) qui seront ensuite placées dans une étuve à (60º C) pour leur séchage.

Figure 15 : Réalisation des coupes au microtome

Figure 16 : L'étalement des coupes sur des lames de verre

4.2.3.5 Coloration

Après déparaffinage et réhydratation dans un bac de xylène pendant 30 minutes, les lames sont placées dans l'étuve à 60 °C pendant 3 minutes pour le séchage.

La coloration utilisée est celle de Trichrome de Masson (Fig. 17 & Annexe A) :

- Les lames sont placées dans des bains d'alcool à 100°, 90°et 70° (3 minutes pour chaque bain), puis lavées à l'eau courante pendant 1 minute.
- Les lames sont colorées à l'hématoxyline de GROAT pendant 2 minutes puis rincées à l'eau courante pendant 5 minutes.
- Elles sont ensuite placées dans la fuchsine-ponceau pendant 30 secondes et rincées.
- Après passage dans une solution d'acide phosphomolybdique pendant 5 minutes, les lames sont placées dans le vert lumière pendant 3 à 4 minutes, rincées à l'eau acétifiée, placées dans l'alcool 100° et enfin dans le xylène pendant 3 minutes.

Le but de la coloration est de visualiser les différentes structures cellulaires. Les noyaux sont colorés en noir par l'hématoxyline, les cytoplasmes en rose par la fuchsine-ponceau et les fibres collagènes en vert par le vert lumière.

Figure 17 : Batterie pour la coloration au Trichrome de Masson

4.2.3.6 Montage

Le montage des lames permet de préserver les colorations. Après déshydratation dans un bain de xylène, les coupes colorées sont montées entre lame et lamelle avec l'EUKITT® (Fig. 18). Après séchage, les lames sont prêtes pour l'analyse microscopique.

Figure 18 : Montage des lames colorées

Le schéma récapitulatif des différentes étapes de l'étude histologique est résumé dans la figure 19.

4.2.4 Analyse statistique

Les résultats obtenus sont exprimées sous forme de : Moyenne arithmétique ± ESM (Erreur Standard à la Moyenne). L'analyse statistique est réalisée à l'aide du test de Student. Le niveau de significativité est de : $p < 0.05$.

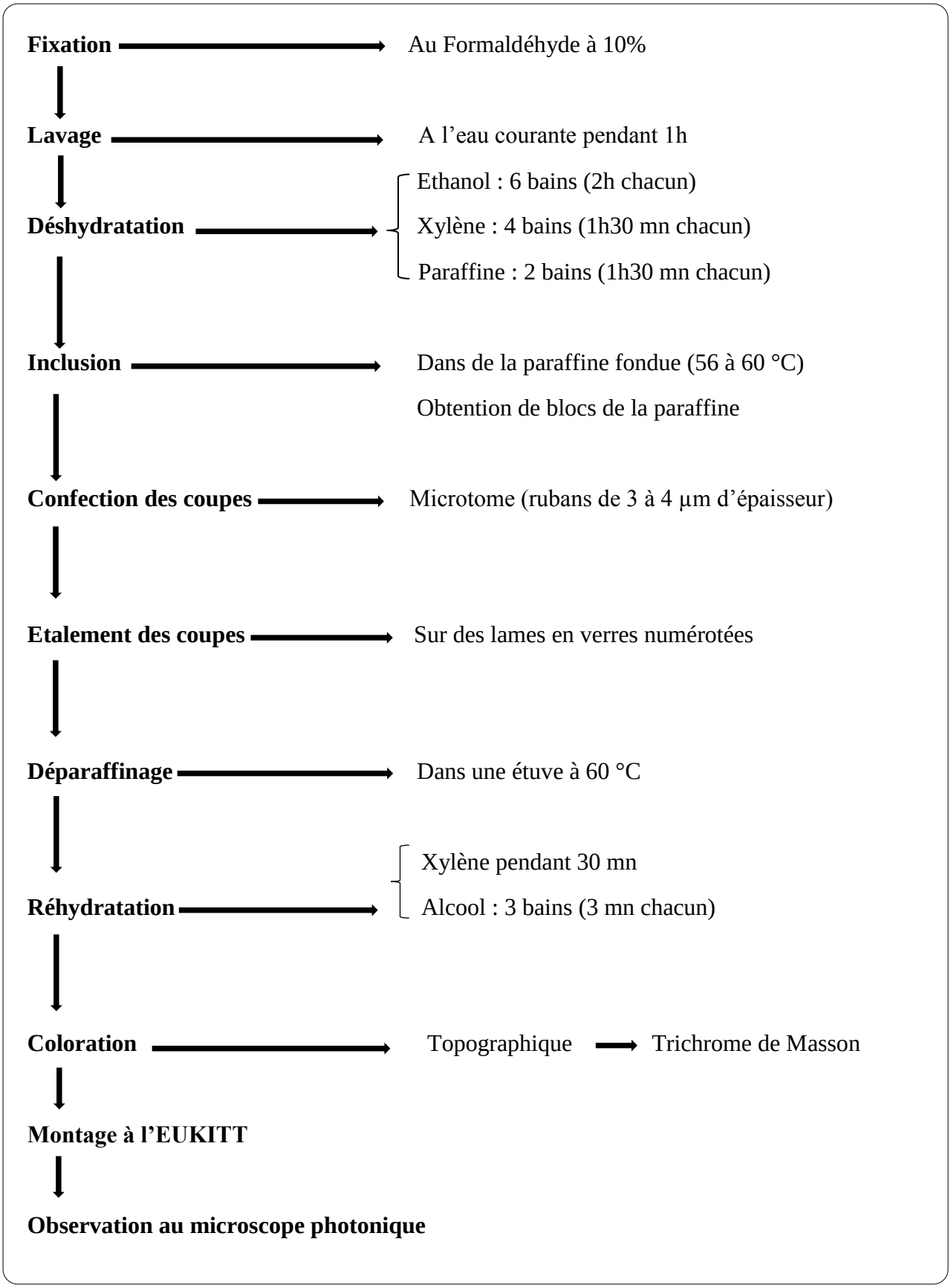

Figure 19 : Schéma récapitulatif des différentes étapes histologique

5 Résultats & Discussion

5.1 Poids des cornes utérines

5.1.1 Femelles de 30 jours d'âge

Chez les femelles de 30 jours, les poids moyens absolus des cornes utérines droites (CUD) et gauches (CUG) semblent similaires chez les animaux traités par la leptine comparés aux témoins (0.1001 ± 0.0116 *vs* 0.0996 ± 0.0126 g, p > 0.05). Même constation pour poids moyens relatifs des cornes utérines droites et gauches (0.0015 ± 0.0001 *vs* 0.0016 ± 0.0001 g, p > 0.05), (Tableau 2, Fig. 20 & 21).

Tableau 2 : Poids absolus et relatifs des cornes utérines droites et gauches chez les femelles de 30 jours témoins et traitées par la leptine (Valeurs exprimées en g ± ESM)

		CU D	p	CU G	p	CU D + G	p
Poids absolu	**T**	0.0492 ±0 .0062	p > 0.05	0.0504 ± 0.0069	p > 0.05	0.0996 ± 0.0126	p > 0.05
	E	0.0458 ± 0.0078		0.0543 ± 0.0085		0.1001 ±0.0161	
Poids relatif	**T**	0.0008 ± 0.0001	p > 0.05	0.0008 ± 0.0001	p > 0.05	0.0016 ± 0.0001	p > 0.05
	E	0.0007 ± 0.0001		0.0008 ± 0.0001		0.0015 ± 0.0001	

Les valeurs individuelles des poids absolus et relatifs des cornes utérines D et G des femelles témoins et des femelles traitées par la leptine des deux lots pendant la période d'essai sont détaillées dans l'Annexe B.

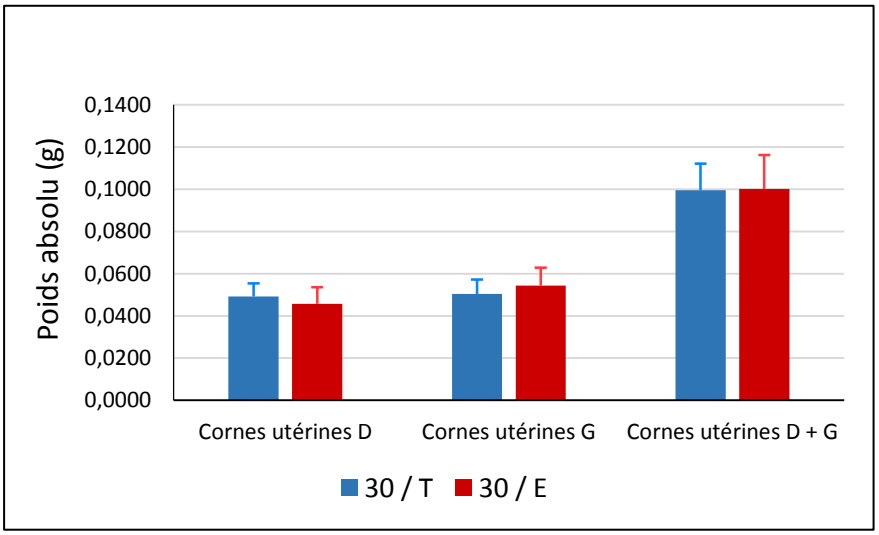

Figure 20 : Représentation graphique du poids absolu des cornes utérines droites et gauches chez les femelles de 30 jours témoins (T) recevant du NaCl à 9‰ et expérimentales (E) traitées par la leptine à raison de 8µg / 100g de PC

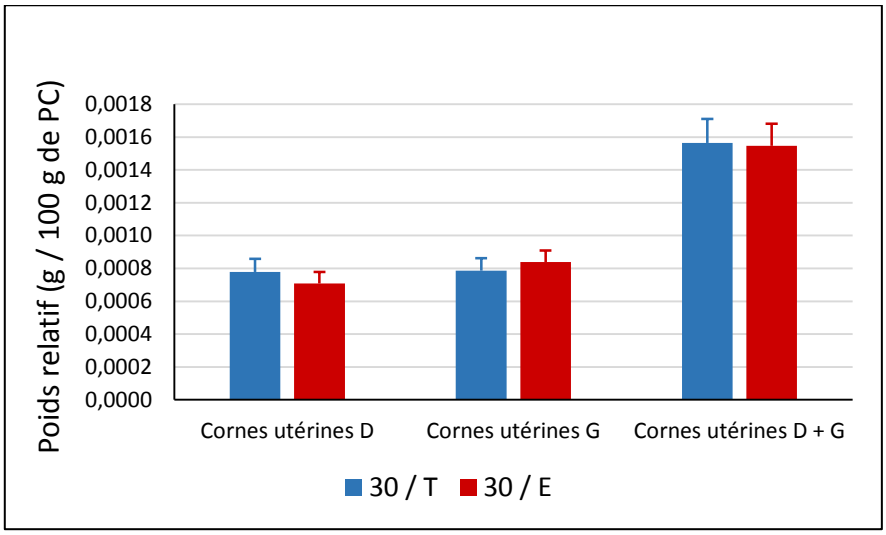

Figure 21 : Représentation graphique du poids relatif des cornes utérines droites et gauches chez les femelles de 30 jours témoins (T) recevant du NaCl à 9‰ et expérimentales (E) traitées par la leptine à raison de 8 µg / 100g de PC

5.1.2 Femelles de 60 jours d'âge

Chez les femelles de 60 jours, les résultats des poids moyens absolus des cornes utérines droites et gauches montrent une augmentation non significative ($p > 0.05$) chez les animaux traités par la leptine comparés aux témoins (0.4756 ± 0.0693 *vs* 0.4542 ± 0.0650 g). Même constation pour poids moyens relatifs des cornes utérines droites et gauches (0.0034 ± 0.0005 *vs* 0.0031 ± 0.0004 g), (Tableau 3, Fig. 22 & 23).

Tableau 3 : Poids absolus et relatifs des cornes utérines droites et gauches chez les femelles de 60 jours témoins et traitées par la leptine (Valeurs exprimées en g ± ESM)

		CU D	p	CU G	p	CU D + G	p
Poids absolu	**T**	0.1888 ± 0.0293	p > 0.05	0.2654 ± 0.0379	p > 0.05	0.4542 ± 0.0650	p > 0.05
	E	0.2489 ± 0.0502		0.2267 ± 0.0288		0.4756 ± 0.0693	
Poids relatif	**T**	0.0013 ± 0.0002	p > 0.05	0.0018 ± 0.0002	p > 0.05	0.0031 ± 0.0004	p > 0.05
	E	0.0018 ± 0.0003		0.0016 ± 0.0002		0.0034 ± 0.0005	

Les valeurs individuelles des poids absolus et relatifs des cornes utérines D et G des femelles témoins et des femelles traitées par la leptine des deux lots pendant la période d'essai sont détaillées dans l'Annexe C.

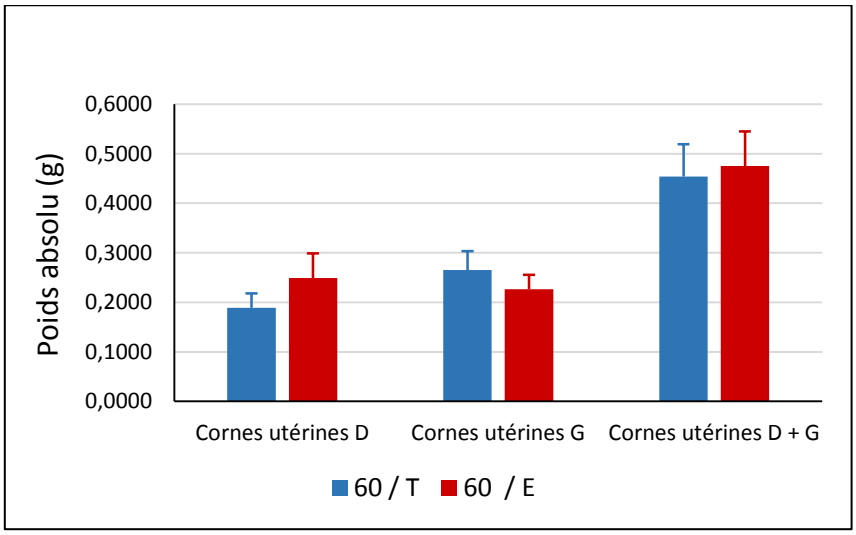

Figure 22 : Représentation graphique du poids absolu des cornes utérines droites et gauches chez les femelles de 60 jours témoins (T) recevant du NaCl à 9‰ et expérimentales (E) traitées par la leptine à raison de 8 µg / 100g de PC

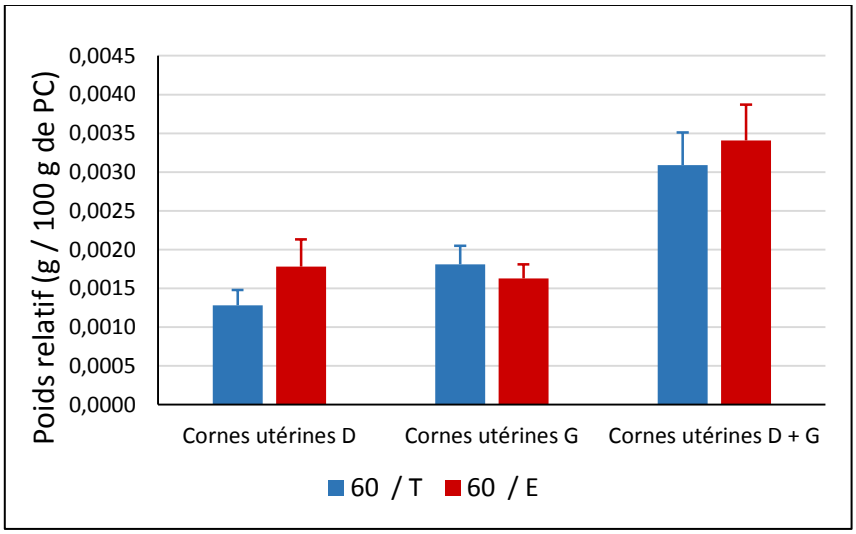

Figure 23 : Représentation graphique du poids relatif des cornes utérines droites et gauches chez les femelles de 60 jours témoins (T) recevant du NaCl à 9 ‰ et expérimentales (E) traitées par la leptine à raison de 8 µg / 100g de PC

Nos résultats montrent que l'injection intrapéritonéale de leptine à raison de 8 µg / 100 g de PC pendant 5 jours à des rats femelles Wistar ne semble pas avoir d'effet sur les poids moyens absolus et relatifs des cornes utérines droites et gauches chez les femelles immatures traitées comparées aux témoins.

Les expériences de McFarlane et *al.* (2014), réalisées sur des souris immatures (âgées de 3 semaines) divisées en quatre groupes et recevant par injections sous-cutanées des traitements suivants : (1) de solution saline ; (2) anticorps anti-leptine (50 µg) ; (3) eCG (0,1 UI) ; (4) eCG (0,1 UI) + anticorps anti-leptine (50 µg), n'ont montré aucune différence des poids ovariens

et utérins entre les groupes expérimentaux, sauf pour le groupe eCG + anti-leptine qui présentait des ovaires et des utérus plus lourds que les contrôles.

Chez les femelles adultes, les résultats des poids moyens absolus et relatifs des cornes utérines droites et gauches montrent une augmentation non significative ($p > 0.05$) chez les animaux traités par la leptine à la dose de 8 µg / 100 g de PC pendant 5 jours, comparés aux témoins

Nos résultats rejoignent ceux rapportés par d'autres chercheurs, en effet :

- Barash et *al.* (1996) observent une augmentation significative du poids de l'utérus après injection intrapéritonéale de leptine à raison de 50 µg, 2 fois par jour pendant 14 jours chez des souris ob/ob. L'histologie utérine a révélé que l'augmentation du poids était due à la croissance prolifération des glandes utérines, de l'épithélium et de l'endomètre, réponses typiques à la stimulation par les œstrogènes.
- Shimomura et *al.* (2002) rapportent que l'administration intrapéritonéale de leptine à la dose de 1 µg / g de PC / jour pendant 8 jours chez des souris ob/ob provoque une augmentation significative du poids utérin.
- Elifer et *al.* (2018) rapportent que l'administration de leptine à raison de 3 mg pendant 8 semaines chez des souris lipodystrophiques provoque une augmentation significative du poids de l'utérus.

2. Présentation de sept articles scientifiques en rapport avec la leptine et l'utérus

L'étude histologique n'ayant pas pu être menée à terme compte tenu de la situation sanitaire exceptionnelle liée à la COVID-19, nous passerons en revue dans cette partie quelque articles scientifiques traitant de l'effet de la leptine sur l'utérus chez quelques espèces animales ainsi que chez l'homme comme indiqué dans le *« Guide du mémoire de projet de fin d'études pour l'année universitaire 2019-2020 (Situation particulière liée à la Covid-19) »*.

Article I

"The endometrium as a novel target for leptin: differences in fertility and subfertility"

(Alfer et al., 2000)

Objectif : Détection de l'isoforme longue fonctionnelle du récepteur de la leptine dans l'endomètre humain.

Matériel & Méthodes : L'étude a été réalisée sur 11 patientes infertiles qui ont subi deux biopsies au cours d'un cycle menstruel. Les patientes présentaient un défaut de maturation

endométriale répétitif, mais avaient des concentrations d'hormones sériques normales, une expression normale des récepteurs des hormones stéroïdiennes ainsi qu'une régulation négative dans l'endomètre. Ces patientes étaient cependant déficientes pour l'expression du récepteur fonctionnel de la leptine.

Résultats : Le récepteur de la leptine s'est avérée être exprimé dans l'épithélium glandulaire et luminal et est périodiquement régulée tout au long du cycle menstruel, démontrant l'expression principale dans la phase folliculaire et mi- lutéale. En revanche, l'ARNm du récepteur de la leptine est détectable par RT-PCR (Réaction en Chaîne de transcription inverse-Polymérase) en tant que composant constitutif.

Discussion : Les résultats suggèrent que l'endomètre humain est une cible endocrinienne pour la leptine (Alfer et *al.,* 1999b) mais que cette dernière n'est pas exprimée dans ce tissu. La leptine détectée immunohistologiquement a pour origine le tissu adipeux. L'absence de tout signal de coloration après pré-incubation du récepteur de la leptine et de l'anticorps de la leptine avec leurs peptides bloquants (antigènes pour l'immunisation) montre qu'ils identifient réellement leurs antigènes.

L'isoforme longue fonctionnelle du récepteur de la leptine est exprimée en permanence dans l'endomètre humain comme le montre la RT-PCR, contrairement à l'utérus de rat, où seules les isoformes courtes ont été détectées (Chien et *al.,* 1997). Il se peut que l'endomètre ait besoin de leptine pour se développer en un tissu réceptif prêt pour l'implantation d'un blastocyste à la phase mi-lutéale du cycle. La stimulation des cellules endothéliales par la leptine conduit à une amélioration marquée de l'angiogenèse (Bouloumie et *al.,* 1998). En effet, un effet angiogénique dans la cornée de rats normaux a été démontré, alors que les rats gras Zucker (fa/fa : *Fat en anglais*) déficients en récepteurs de leptine n'avaient aucune réponse d'angiogenèse cornéenne (Sierra-Honigmann et *al.,* 1998).

Conclusion : Alfer et ses collaborateurs ont été les premiers à démontrer en 2000 que l'isoforme longue du récepteur de la leptine est exprimée dans l'endomètre humain tout au long du cycle menstruel mais que la leptine n'est pas exprimée dans ce tissu. Ils ont par ailleurs démontré que l'absence du récepteur de la leptine dans un cycle ovulatoire peut contribuer à l'infertilité en altérant la réceptivité de l'endomètre à l'implantation embryonnaire.

La leptine semble être impliquée dans l'acquisition de la réceptivité utérine. En effet, Tanaka et ses collaborateurs (2003) ont démontré 3 ans après la parution de cet article que la leptine

freinait la décidualisation des cellules endométriales stromales in vitro (Tanaka et al., 2003) et serait impliquée dans le phénomène de réceptivité endométriale.

D'autre part, Ramos et al. (2005) ont montré que l'injection intra-utérine d'un antagoniste de la leptine empêchait l'implantation, et que la leptine stimulait l'expression des marqueurs de la réceptivité, tels que les intégrines αV et β3 dans des cultures de cellules épithéliales endométriales humaines. De plus, il a été démontré que la leptine favorisait l'expression des marqueurs de la décidualisation tels que la prolactine (Tennekoon et al., 2007). Ainsi, la leptine favoriserait le développement d'un endomètre réceptif en contrôlant le phénomène de décidualisation. L'augmentation des taux circulants de leptine observée au cours de l'obésité pourrait altérer la réceptivité de l'endomètre et l'implantation.

Article II

"*Leptin and leptin receptor are expressed in the human endometrium and endometrial leptin secretion is regulated by the human blastocyst*"

(González et al., 2000)

Objectifs : Cette étude avait pour objectifs l'étude de l'expression de la leptine et de la forme longue de son récepteur par l'endomètre sécrétoire et les cellules épithéliales endométriales (CEE) cultivées *in vitro* d'une part, et l'analyse de la sécrétion de leptine par le blastocyste humain en présence ou en l'absence de CEE en culture, d'autre part.

Matériel & Méthodes : Des embryons et des cellules de la granulosa ont été récupérés à partir de neuf patientes après hyperstimulation ovarienne et insémination en utilisant les procédures de routine de FIV (Fécondation *in vitro*). Des biopsies de l'endomètre ont été obtenues chez des femmes fertiles pendant la phase médiane de la sécrétion du cycle menstruel. Le tissu adipeux humain, utilisé comme contrôle positif pour l'expression de la leptine et de ses récepteurs a été obtenu à partir de patientes ayant subi une chirurgie gynécologique. Du tissu placentaire humain a été obtenu après un accouchement de routine.

Cultures des Cellules Epithéliales Endométriales (CEE) : Une partie de chaque biopsie endométriale a été datée.

Les CEE ont été isolées et cultivées jusqu'à confluence dans le milieu DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) et le milieu MCDB-105 (Diploid Fibroblast-like Cell Medium) contenant 10% de sérum bovin fœtal inactivé par la chaleur, antibiotiques et 5 mg / mL d'insuline.

Culture d'embryons et coculture avec les CEE : Un modèle humain *in vitro* a été utilisé pour étudier les interactions entre les embryons humains et les CEE (De Los Santos et *al*., 1996 ; Simon et *al*., 1999). Quarante-huit heures après l'insémination, 2 à 4 embryons cellulaires ont été co-cultivés individuellement sur la monocouche CEE pendant 5 jours (du 2ème jour au 6ème jour du développement embryonnaire). Le développement embryonnaire a été surveillé quotidiennement et les embryons ont été cultivés dans 1 mL de milieu IVF / S2 (*In vitro* Fertilisation / Divisions S2) ou CCM (Cumulus cell-Conditioned Medium) jusqu'à ce qu'ils atteignent le stade 8 cellules, puis ont été cultivées dans du milieu CCM jusqu'au stade blastocyste. Les milieux conditionnés ont été changés toutes les 24 h de culture, cependant, seul le dernier échantillon du milieu de 24 h (correspondant à 120 h au 6ème jour de culture) a été collecté pour mesurer les concentrations de leptine. Après le transfert d'embryons, les puits CEE ont été classés selon le statut embryonnaire : les CEE avec des embryons ayant atteint le stade blastocyste et les CEE avec des embryons arrêtés (ceux n'ayant pas atteint ce stade). Dans chaque expérience, des CEE cultivées dans les mêmes conditions sans embryons et des embryons humains cultivés en l'absence de CEE ont été utilisées comme témoins.

Résultats & Discussion : Cette étude a démontré pour la première que le système leptine (ARN m de la leptine et d'Ob-R) est exprimé dans les cultures de cellules endométriales et épithéliales de l'endomètre sécrétoire par RT-PCR, analyse Western blot et immunohistochimie. Les concentrations de leptine immunoreactive sécrétée par des embryons humains seuls ou en coculture avec les CEE ont également été évaluées. Les résultats ont montré que les blastocystes humains sécrètent des niveaux de leptine significativement plus élevés que les embryons arrêtés. En revanche, les concentrations de leptine sécrétées par les embryons arrêtés qui sont co-cultivées avec les CEE étaient significativement plus élevées que les blastocystes co-cultivés avec CEE. Ces résultats suggèrent que l'endomètre humain est un site pour la production locale de leptine et un tissu cible pour la leptine en circulation.

Conclusion : L'expression de la leptine et de son récepteur fonctionnel dans l'endomètre et la régulation de la sécrétion de leptine endométriale par l'embryon humain suggère que la leptine peut être impliquée dans le processus d'implantation embryonnaire humaine.

Chez la souris, un traitement in vitro des cellules endométriales par la leptine stimule la production de molécules favorisant les contacts cellulaires avec l'embryon, telles que l'intégrine β3, l'interleukine-1 et le LIF (Leukemia Inhibitory Factor). De plus, l'administration par voie intra-utérine d'un antagoniste de la leptine bloque l'adhésion blastocyste-endomètre chez ces animaux (Ramos et al., 2005).

La leptine module le caractère invasif du cytotrophoblaste (Gamba et Pralong, 2006) et favorise l'invasion trophoblastique par l'intermédiaire en partie des métalloprotéases matricielles (MMPs) (Gaucher et al., 2003 ; Garofalo et Surmacz, 2006). La leptine constitue par conséquent un candidat intéressant dans le dialogue paracrine entre l'embryon et l'endomètre maternel (Cioffi et al, 1997).

Article III

"Increased Maternal Plasma Leptin in Early Pregnancy and Risk of Gestational Diabetes Mellitus"
(Qui et al., 2004)

Le diabète gestationnel est défini par l'OMS comme un trouble de tolérance glucidique conduisant à une hyperglycémie de sévérité variable, débutant ou diagnostiquée pour la première fois pendant la grossesse (Vambergue, 2010).

Objectif : Etablir la relation entre la concentration élevée de leptine pendant la grossesse et le risque de GDM (*Gestational Diabetes Mellitus*).

Matériel & Méthodes : Les femmes ont été recrutées avant 16 semaines de gestation et ont été suivies jusqu'à l'accouchement. Les concentrations plasmatiques de leptine maternelle (recueillies à 13 semaines de gestation) ont été mesurées en utilisant un dosage immunologique.

Résultats & Discussion : Le GDM s'est développé dans 5,7 % de la cohorte. Des concentrations élevées de leptine étaient positivement associées au risque de GDM. Les femmes avec des concentrations de leptine de 31 ng / mL ou plus ont présenté un risque multiplié par 4,7 de GDM par rapport aux femmes qui avaient des concentrations de 14,3 ng / mL ou moins. Chaque augmentation de 10 ng / mL de la concentration de leptine était associée à une augmentation du risque de GDM.

Conclusion : Les résultats de cette étude suggèrent que la leptine peut jouer un rôle dans la médiation du métabolisme du glucose pendant la grossesse. La mesure de la leptine seule, ou combinée à l'évaluation d'autres facteurs de risque, peut aider à identifier les femmes à haut risque de développer un GDM.

La résistance à l'insuline et les changements marqués du poids corporel et du métabolisme énergétique sont associés à la grossesse. L'impact sur la leptine plasmatique a été étudié par Willer-Kautzky et ses collaborateurs en 2001. Ces chercheurs ont rapporté que chez les femmes

atteintes de GDM, la libération d'insuline basale était plus élevée comparées aux femmes enceintes ayant une tolérance normale au glucose. La leptine était corrélée avec les concentrations plasmatiques basales de glucose, d'insuline et de proinsuline ainsi qu'avec l'IMC et le gain de poids maternel global induit par la grossesse. Après normalisation de la glycémie 8 semaines après l'accouchement, bien que la leptine plasmatique ait diminué, elle ne s'est pas complètement normalisée. Dans une autre étude, Harrod et al. (2011) ont constaté que les souris hétérozygotes pour un récepteur de leptine développent également un diabète gestationnel.

Article IV

"Leptin is not involved in the pathophysiology of endometriosis- related infertility"
(Wertel et al., 2005)

L'endométriose correspond à l'implantation ectopique, en dehors de l'endomètre, de tissu endométrial, sous l'influence de facteurs multiples, en particuliers environnementaux ou immunologiques (Balleyguier et *al.*, 2004). La présence de tissu semblable à la muqueuse utérine en dehors de l'utérus peut provoquer des douleurs quelquefois invalidantes et des problèmes d'infertilité (Bulletti et *al.*, 2010). La sévérité de l'endométriose est évaluée selon la classification de l'AFSr (American Fertility Society, révisée en 1985 et recommandée par l'American Society for Reproductive Medecine) en quatre stades de sévérité croissante (Rock, 1995) :

- Stade I ou minime ;
- Stade II ou léger ;
- Stade III ou modéré ;
- Stade IV ou sévère.

Objectif : La composition du liquide péritonéal pouvant affecter la fécondation et le développement embryonnaire précoce, cette étude s'est penchée sur l'évaluation du taux de leptine péritonéale et sérique chez des patientes endométriosiques infertiles.

Matériel & Méthodes : L'étude a intéressé 72 patientes ayant subi une laparoscopie en raison de kystes endométriosiques ovariens ou d'infertilité. Les patientes ont été divisées en trois groupes : groupe fertiles, groupe infertile correspondant à des patientes atteintes d'endométriose et groupe de référence correspondant à des patientes présentant une infertilité inexpliquée. Les sujets n'ont reçu aucun traitement hormonal dans les trois derniers mois avant la laparoscopie.

La maladie s'est avérée minime chez 17 patients, légère chez 10 patients, modérée chez 17 femmes et sévère chez 4 femmes.

Le liquide péritonéal a été recueilli dans des tubes héparinés. Les échantillons ont été centrifugés à 300 × g pendant 5 minutes. Les surnageants du liquide péritonéal et de sérum ont été aspirés et stockés à - 70 ºC jusqu'à l'analyse. Le dosage de la leptine a été réalisé à l'aide d'un kit RIA (Leptine humaine).

Résultats & Discussion : Aucune différence significative des taux péritonéaux et de leptine n'a été trouvée entre les groupes étudiés. Une concentration significativement plus élevée de leptine dans le liquide péritonéal a été observée chez les patientes présentant les stades III et IV de l'endométriose par rapport à ceux aux premiers stades de la maladie. Chez les patients fertiles atteints d'endométriose, une corrélation positive a été trouvée entre le liquide péritonéal et les concentrations sériques de leptine. Il n'y avait aucune différence dans les concentrations de leptine sérique entre les groupes étudiés.

Matalliotakis et *al.,* (2000) n'ont également retrouvé aucune différence significative dans les taux sériques de leptine entre les femmes atteintes d'endométriose pelvienne et les sujets non confirmés par laparoscopie. De même que Vigano et *al.* (2002) ont rapporté que les taux sériques de leptine étaient similaires entre les femmes sans et avec endométriose à tous les stades.

Conclusion : Les taux de leptine dans le liquide péritonéal sont élevés chez les femmes atteintes d'endométriose modérée et sévère ; cependant, aucune différence dans les concentrations péritonéales ou sériques de cette cytokine n'a été observée entre les femmes infertiles ou fertiles touchés par l'endométriose et les patients infertiles. Ces résultats suggèrent que la leptine n'est pas impliquée dans la physiopathologie de l'infertilité liée à l'endométriose.

De nombreuses études contradictoires indiquent des rôles opposés de la leptine dans l'endométriose. La majorité d'entre-elles ont examiné uniquement la teneur en leptine du sérum, du liquide péritonéal ou du tissu endométrial des femmes atteintes d'endométriose, sans étude portant sur l'expression de la leptine dans les lésions ectopiques.

Article V

"Inhibitory effect of leptin on human uterine contractility in vitro"

(Moynihan et al., 2006)

Objectif : Le but de cette étude était d'étudier les effets de la leptine sur la contractilité utérine humaine *in vitro.*

Matériel & Méthodes : Des biopsies du myomètre humain ont été obtenues lors d'une césarienne élective au 3ème trimestre de grossesse. Une fois collectées, toutes les biopsies tissulaires ont été placées dans une solution physiologique Krebs-Henseleit (pH 7,4). Des bandes myométriales disséquées ont été équilibrées au moins 1 heure pendant laquelle la solution de sel physiologique a été changée toutes les 20 minutes. Après équilibrage, une période de 30 minutes est nécessaire afin d'obtenir des contractions phasiques spontanées, ou, en variante, des contractions ont été stimulées par exposition au bain des bandelettes à l'ocytocine (0,5 nmol / L). La leptine a ensuite été ajoutée au bain de tissu de manière cumulative à des concentrations de : 1 nmol / L, 10 nmol / L, 100 nmol / L et 1 micromol / L à des intervalles de 20 minutes. Les bandelettes de contrôle ont été exécutées simultanément.

Résultats : La leptine a exercé un effet inhibiteur puissant et cumulatif sur les contractions spontanées et induites par l'ocytocine par rapport aux bandelettes témoins.

Discussion : Les résultats de cette étude démontrent que la leptine agit comme un inhibiteur puissant de la contractilité myométriale *in vitro.* Cet effet relaxant a été observé à des concentrations pour les expériences *in vitro* et était apparemment de nature cumulative. La leptine réduit à la fois l'amplitude et fréquence des contractions. Les résultats étaient similaires pour les contractions myométriales spontanées et induites par l'ocytocine. De plus, les niveaux de leptine étudiés dans cette étude incluent la dose normale de leptine sérique mesurée chez les patientes normales et obèses.

Ces résultats introduisent la nouvelle dimension selon laquelle l'obésité peut entraîner une modification de la modulation métabolique du tissu myométrial humain, augmentant ainsi la possibilité que la leptine, qui augmente significativement en association avec l'obésité, contribue à une contractilité insuffisante de l'utérus pendant le travail.

Conclusion : L'effet inhibiteur physiologique de la leptine sur la contractilité utérine peut jouer un rôle dans le processus de travail dysfonctionnel associé à l'obésité maternelle et l'élévation des taux de césariennes.

Chez la femme, comme chez la ratte, Mumtaz et ses collaborateurs (2015) sont arrivés à la même conclusion avec d'autres adipokines et ont rapporté que la visfatine, la leptine et l'apéline détendent la contractilité du myomètre in vitro, et qu'une modulation métabolique du myomètre par les adipokines serait possible.

En fin de gestation, l'augmentation de la contractilité myométriale est en partie médiée par une augmentation de la Rho / Rho kinase (Les protéines Rho appartiennent à la superfamille Ras des protéines G). La signalisation anormale de la leptine augmente l'expression et la fonction de la Rho kinase pour maintenir la fonction contractile dans le myomètre chez les souris non gestantes. Pendant la grossesse, l'expression de RhoA et de Rho kinase est réduite malgré une augmentation de la contractilité myométriale. Ceci suggère que d'autres mécanismes de signalisation semblent jouer un rôle compensateur pour le maintien de la fonction contractile pendant la grossesse lorsque la signalisation de la leptine est réduite (Harrod et al., 2011).

Article VI

"*The association between level of maternal serum leptin in the third trimester and the occurrence of moderate preterm labor"*
(Fakor et al., 2016)

On parle de prématurité lorsqu'un bébé vient au monde avant la fin du 8ème mois de grossesse. Il existe différents stades de prématurité (Fakor et *al*., 2016) :

- L'extrême prématurité : la naissance a lieu avant la 26ème semaine ;
- La grande prématurité : la naissance a lieu avant la 32ème semaine ;
- La prématurité modérée : la naissance a lieu entre la 32ème et la 33ème semaine ;
- La prématurité tardive : la naissance a lieu entre la 34ème et la 36 ème semaine.

Objectif : Etudier la relation entre le niveau de leptine sérique maternelle et la survenue d'un travail prématuré modéré.

Matériel & Méthodes : L'étude a intéressé 30 femmes enceintes prématurées modérées et 30 femmes enceintes témoins du même âge gestationnel. La leptine sérique maternelle a été mesurée pour chaque mère au moment de son entrée dans l'étude.

Résultats : La leptine sérique moyenne dans le groupe témoin (56,66 ± 34,18 µg / L) était significativement plus élevée que dans le groupe prématuré (33,65 ± 16,70 µg / L). Il n'y avait pas de différences significatives entre les groupes en termes d'indice de masse corporelle et d'âge. L'âge et l'indice de masse corporelle n'avait pas de relation significative avec la prématurité modérée. Cependant, une augmentation du taux de leptine aussi bas que 1 µg / L était associée au risque d'incidence modérée des naissances prématurées.

Discussion : Bien que des niveaux plus élevée de leptine a été notée dans les accouchements à terme, aucune différence significative n'a été notée entre les groupes prématurés et à terme, ce qui pourrait être dû à la taille limitée de l'échantillon du groupe prématuré (Laivuori et *al.,* 2006). La leptine pourrait changer l'issue de la grossesse en affectant l'équilibre des cytokines dans l'unité fœto-placentaire. De plus, la leptine pourrait affecter l'activité du cytotrophoblaste (Gonazelez et *al.,* 2000) et, par activité angiogénique, pourrait affecter la croissance placentaire (Seirra-Honigmann et *al.,* 1998).

Certaines études antérieures ont démontré l'effet de la leptine sur les contractions myométriales (Wuntakal et Hollingworth, 2010). La leptine serait une cause de travail dysfonctionnel chez les femmes obèses, conduisant à un taux plus élevé de césariennes. Elle est de ce fait considérée comme facteur tocolytique qui pourrait empêcher l'accouchement prématuré.

Conclusion : Des niveaux plus élevés de leptine chez les femmes enceintes sont associés à une diminution du risque de naissances prématurées modérées.

Laird et al. (2001) ont mentionné que l'âge et l'IMC n'avaient aucun effet significatif sur l'accouchement prématuré, mais que le niveau de leptine pourrait être un prédicteur de ce type d'accouchement. D'autre part, les taux de leptine dans le sang maternel à la mi- grossesse peuvent être un indicateur précoce de l'état de la croissance fœtale (Shroff et al., 2013).

Par ailleurs, chez les nouveau-nés à terme, Palchevska et al. (2012) ont indiqué que les taux de leptine étaient plus élevés que chez les nouveau-nés prématurés.

Article VII

"The difference of endometrial leptin expression in women with polycystic ovarian syndrome (PCOS) compared to normal"

(Besar et al., 2020)

Le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) est une forme majeure d'infertilité dysovulatoire chez la femme, caractérisée par des anomalies endocriniennes telles que l'hyperandrogénie et la sécrétion inappropriée de LH. Il est souvent associé à la résistance à l'insuline et à l'hyperinsulinémie, caractéristiques liées à la leptine et à ses récepteurs. Cependant, la relation entre la leptine et les gonadotrophines, les androgènes et l'insuline dans le SOPK est encore controversée (Chakrabarti, 2013).

Objectif : La diminution de la réceptivité endométriale est soupçonnée d'être l'un des facteurs l'infertilité chez les femmes atteintes du SOPK. Les anomalies endométriales sont dues à un équilibre altéré, notamment des œstrogènes, de la progestérone, des facteurs de croissance, des cytokines et de la leptine. Cette étude vise à déterminer l'expression de la leptine dans l'endomètre des patientes atteintes du SOPK comparées aux témoins.

Matériel & Méthodes : L'étude a intéressé :

- 30 femmes infertiles atteintes du SOPK, diagnostiquées sur la base d'au moins deux des trois critères de Rotterdam (2004), à savoir : l'hyperandrogénie clinique (hirsutisme, acné, alopécie androgénique) ou biologique, l'oligo-anovulation et l'aspect morphologique des ovaires à l'échographie ;
- 30 femmes normales correspondant au groupe témoin.

L'expression de la leptine a été évaluée par biopsie de l'endomètre.

Résultats : L'expression de la leptine a été trouvée significativement plus élevée dans le groupe SOPK par rapport au groupe témoin, et l'obésité augmente l'expression de la leptine.

Conclusion : L'expression de la leptine est plus élevée dans l'endomètre des femmes atteintes de SOPK et d'obésité par rapport à la normale.

Chez la plupart des patientes atteintes du SOPK ayant subi un traitement d'induction de l'ovulation, l'expression de la leptine et de la forme longue de son récepteur Ob-R dans la glande endométriale à la phase mi- lutéale est diminuée au cours de l'ovulation, ce qui pourrait explique le faible taux de grossesses chez ces patientes (Wang et al., 2003).

CONCLUSION

Ce travail a été réalisé dans le cadre d'un Projet de Recherche axé sur les interactions hormonales. L'objectif étant d'étudier l'influence de la leptine sur l'utérus chez le rat femelle Wistar après injection de l'hormone à la dose de 8 µg / 100 g de poids corporel par jour pendant une période d'essai de 5 jours.

Les résultats obtenus montrent que, dans les conditions de notre expérimentation, la leptine n'a pas d'effet sur le poids utérin chez les femelles immatures. En revanche, elle induit une augmentation non significative des poids relatifs et absolus des cornes utérines droites et gauches chez les femelles adultes comparées aux témoins.

L'analyse des articles scientifiques nous a permis de constater que la leptine a des divers rôles physiologiques sur la reproduction : elle favoriserait la réceptivité endométriale pour préparer l'implantation et la gestation, et aurait un effet inhibiteur physiologique sur la contractilité utérine. L'expression de la leptine est plus élevée dans l'endomètre des femmes atteintes du Syndrome des Ovaires Polykystiques, son implication dans l'endométriose reste controversée mais son dosage serait intéressant pour le diagnostic précoce du diabète gestationnel.

PERSPECTIVES

En perspectives ...

- Il serait intéressant de poursuivre l'étude histologique de la structure utérine qui n'a pas pu être achevée compte tenu de la situation sanitaire exceptionnelle liée à la COVID-19.
- Des études immunohistochimiques permettraient la mise en évidence des récepteurs de la leptine à différents niveaux de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonado-utérin.
- Le dosage des hormones utérines (PGF2α et ocytocine) nous permettrait de situer précisément l'action de la leptine sur leur synthèse induite par la progestérone et les œstrogènes.
- Des cultures de cellules épithéliales endométriales en présence de leptine pourraient être envisagées pour analyser l'hormonosynthèse.
- Etudier l'effet de la leptine sur le système reproducteur mâle.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Able M.H., Kelly R.W. (1979). "DifferentiaI production of prostaglandins with in the human uterus". Prostaglandins 18(5) :821-8.

Abramovitz M., Adam M., Boie Y., Carrière M., Denis D., Godbout C., Lamontagne S., Rochette E., Sawyer N., Tremblay N. M., Belley M., Gallant M., Dufresne C., Gareau Y., Ruel R., Juteau H., Labelle M., Oui met N., Metters K. M. (2000). "The utilization of recombinant prostanoid receptors to determine the affinities and selectivities of prostaglandins and related analogs" Biochim Biophys Acta 1483(2): 285-293.

Achache H., Reval A. (2006). "Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation". Hum Reprod Update 12: 731-746.

Ahima R.S., Flier J.S. (2000). "Leptin." Annual Review of Physiology 62(1): 413-37.

Alfer J., Classen-Linke I., Rath W., Beier H.M. (1999b). "Functional leptin receptor located in human endometrium". Hum Reprod 14(Abstr.Book 1), 266-267.

Alfer J., Muller-Schottle F., Classen-Linke I., Von Rango U., Happel L., Beier-Hellwig K., Rath W., Beier H.M. (2000). "The endometrium as a novel target for leptin: differences in fertility and subfertility". Mol HUM Reprod 6, 595-601.

Anand B., Brobeck J. (1951). "Localization of a "feeding center" in the hypothalamus of the rat." Proc Soc Exp Biol Med 77: 323-324.

Balleyguier C., Chapron C., Eiss D., Hélénon O. (2004). « Imagerie de l'endométriose ». EMC-Radiologie 1: 36-49.

Banks A.S., Davis S.M., Bates S.H. and Myers M.G., Jr. (2000). "Activation of Downstream Signals by the Long Form of the Leptin Receptor." J Biol Chem 275(19): 14563-14572.

Banks WJ. (1993). "Female reproductive system". *In:* Applied veterinary histology. 3rd ed. St Louis: Mosby-Year book, Inc., 452-457.

Barash I.A., Cheung C.C., Weigle D.S., Ren H., Kabigting E.B., Kuijper J.L., Clifton D.K., Steiner R.A. (1996). “Leptin is a metabolic signal to the reproductive system”. Endocrinology 137(7): 3144-3147.

Barone R. (1978). « Anatomie comparée des mammifères domestiques. Tome 3. Splanchnologie (fascicule 2). Appareil urogénital, foetus et ses annexes, péritoine et topographie abdominale ». Paris, Vigot, 951p.

Barone R., (1956). « Anatomie des Equidés Domestiques ». Tome 2, fascicule III, Lyon : E.N.V., 1010p.

Baudin G. (2000). « La leptine. Description, role physiologique, Utilité diagnostique et thérapeutique ». Revue de l’ACOMEN, 6: 28-32.

Bazan J.F. (1990). “Structural design and molecular evolution of a cytokine receptor superfamily”. Proc Natl Acad Sci USA 87(18), 6934-6938.

Bendinelli P., Maroni P., Pecori Giraldi F., Piccoletti R. (2000). "Leptin activates Stat3, Stat1 and AP-1 in mouse adipose tissue." Molecular and Cellular Endocrinology 168(1-2): 11-20.

Besar D.S.B., Budihastuti U.R., Sulistyowati S., Melinawati E. (2020). “The difference of endometrial leptin expression in women with polycystic ovarian syndrome (PCOS) compared to normal”. Indonesian Journal of Medecine 5(1): 38-46.

Bjorbaek C., Buchholz R.M., Davis S.M., Bates S.H., Pierroz D.D., Gu H., Neel B.G., Myers M.G., Jr. and Flier J.S. (2001). "Divergent Roles of SHP-2 in ERK Activation by Leptin Receptors." J Biol Chem 276(7): 4747-4755.

Bjorbaek C., Elmquist J.K., Michl P., Ahima R.S., van Bueren A., McCall A.L., Flier J.S. (1998). "Expression of Leptin Receptor Isoforms in Rat Brain Microvessels". Endocrinology 139(8): 3485-3491.

Bjorbaek C., Uotani S., da Silva B. and Flier J.S. (1997). "Divergent Signaling Capacities of the Long and Short Isoforms of the Leptin Receptor." J Biol Chem 272(51): 32686-32695.

Boeke CE., Mantzoros CS., Hughes MD., Rifas-Shiman S., Villamor E., Zera CA., Gillman MW. (2013). “Differential associations of leptin with adiposity across early childhood”. Obesity 21: 1430-1437.

Breyer RM, Bagdassarian CK, Myers SA, Breyer MD. (2001). “Prostanoid receptors: subtypes and signaling”. Annu Rev Pharmacol Toxicol 41: 661-669.

Brownstein M.l., Russell l.T., Gainer H. (1980). “Synthesis, transport, and release of posterior pituitary hormones”. Science 207 : 373-378.

Bruneau G., Vaisse C., Caraty A. Monget P. (1999). « La leptine : une clé pour la reproduction ». m/s, V.15, n° 2, 191-196.

Bryant S.H., Madjed T., Boguski M. (1995). “Threading analysis suggests that the obese gene product may be a helical cytokine”. FEBS Lett 373: 13-18.

Budak E., Fernandez Sanchez M., Bellver J., Cervero A., Simon C., et Pellicer A. (2006). « Interactions of the hormones leptin, ghrelin, adiponectin, resistin, and PYY3-36 with the reproductive system”. Fertil Steril 85: 1563-1581.

Bulletti C., Coccia M.E., Battistoni S., Borini A. (2010). « Endometriosis and infertility », Journal of Assisted Reproduction and Genetics 27(8), 441-447.

Caprio M. 2004. « Leptine et reproduction ». Métabolismes Hormones Diabètes & Nutrition (VIII), n° 4-5, juillet /octobre 2004, 179-188.

Caron E., Steculorum S., Ishii Y. (2008). « Leptine et contrôle hypothalamique de la reproduction ». Médecine de la reproduction ». Gynécologie Endocrinologie 10 :74-84.

Casanueva F F., Dieguez C. (1999). “Neuroendocrine regulation and action of leptin”. Frontiers in neuroendocrinology 20: 317-363.

Castellucci M., Matteis R De., Meisser A., Cancello R., Monsurro V., Islami D., Srzani R., Marzioni D., Cinti S., Bischof P. (2000). “Leptin modulates extracellular matrix molecules and mettaloproteinases: possible implications for trophoblast invasion.” Molecular Human Reproduction 6: 951-958.

Catalono S., Giordano C., Rizza P., Gu G., Barone I. (2009). “Evidence that leptin through STAT and CREB signaling enhances cyclin D1expression and promotes human endometrial cancer proliferation”. J Cell physiol 218(3): 490-500.

Cervero A., Dominguez F., Horcajadas J.A., Quinonero A., Pellicer A., Simon C. (2006). “The role of leptin in reproduction”. Curr Opin Obstet Gynecol 18(3), 297-303.

Cervero A., Horcajadas JA., Dominguez F., Pellicer A., Simon C. (2005). « Leptin system in embryo development and implantation: a protein in search of a function”. Reprod Biomed Online 10 :217-223.

Chakrabarti J. (2013). “Serum Leptin Level in Women with Polycystic Ovary Syndrome: Correlation with Adiposity, Insulin, and Circulating Testosterone”. Annals of Medical and Health Sciences Research 3(2), 191.

Chemineau P., Blanc M., Carty A., Bruneau G., Monget P. (1999). « Sous-nutrition, reproduction et système nerveux central chez les mammifères : rôle de la leptine ». INRA Productions animales 12(3) : 217-223.

Chien E.K., Hara M., Rouard M., Yano H., Phillippe M., Polonsky K.S., Bell G.I. (1997). Incease in serum leptin and uterine leptin receptor messanger RNA levels during pregnancy in rats”. Biochem Biophys Res Commun 237, 476-480.

Cioffi J.A., Blerkom J., Antczak A., Shafer A., Wittmer S., Snodgrass HR. (1997). “The expression of leptin and its receptors in pre-ovulatory human follicles”. Mol Hum Reprod 3: 467-472.

Coleman D. (1973). "Effects of parabiosis of obese with diabetes and normal mice." Diabetologia 9(4), 294-298.

Coleman D.L. (1978). “Obese and diabetes: two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice”. Diabetologia 14, 141-148.

Coleman D.L. (1981). “Inherited obesity-diabetes syndromes in the mouse”. Prog Clinical Biol Res 45, 145-158.

Craig JA., Zhu H., Dyce PW., Wen L., Li J. (2005). “Leptin enhances porcine preimplantation embryo development in vitro”. Mol Cell Endocrinol 229:141-147.

D’Ippolito S., Tersigini C., Sacambia G., Simone N Di. (2012). “Adipokines, an adipose tissue and placental product with biological functions during pregnancy”. Biofactors 38: 14-23.

De Los Santos MJ., Mercader A., Francés A., Portolés E., Remohi H., Pellicer A., Simon C. (1996). “Role of endometrial factors in regulating secretion of components of the immunoreactive human embryonic interleukin-1 system during embryonic development”. Biol Reprod 54: 536-574.

Drummond A. E. (2006) "The role of steroids in follicular growth" Reproductive Biology and Endocrinology 4:16-27.

El Morshedy K.E.M., Elmasary T.A., Buabeid M.A. (2020). “Histological changes in endometrium of female Albinos Rat Uterusunder the effect of Clomiphene Citrate”. Am Sci 16(2): 32-40.

Elifer L., Hoffmann A., Wagner I.V., Kloting N., Sahlin L., Ebert T., Beate J., Lössner U., Stumvoll M., Söder O., Fasshauer M., Kralisch S. (2018). Leptin restores markers of female fertility in lipodystrophy, BBA- Molecular Basis of Disease 1864: 3292-3297.

Fakor F., Sharami S.H., Milani F., Mirblouk F., Kazemi S., Pourmarzi D., Ebrahimi H., Heirati S.F.D. (2016). “The association between level of maternel serum leptin in the third trimester and the occurrence of moderate preterm labor” J Turk Ger Gynecol Assoc 17: 182-185.

Farley DM., Choi J., Dudley DJ., Li C., Jenkins SL., Myatt L., Nathanielsz PW. (2010). “Placental amino acid transport and placental leptin resistance in pregnancies complicated by maternal obesity”. Placental 31: 718-724.

Faure B. (2007). « Contribution à l’étude bibliographique de la leptine chez les carnivores domestiques ». Thèse de Doctorat, Université Paul-Sabatier de Toulouse, 155p.

Gamba M., Pralong FP. (2006). “Control of GnRH neuronal activity by metabolic factors: The role of leptin and insulin”. Mol Cell Endocrinol 254-255, 133-139.

Garofalo C., Surmacz E. (2006). “Leptin and cancer”. J Cell Physiol 207, 12-22.

Gaucher E.A., Miyamoto M.M., Benner S.A. (2003). “Evolutionary, structural and biochemical evidence for a new interaction site of the leptin obesity protein”. Genetics 163(4), 1549-1553.

Geffroy S., De Vos P., Staels B., Duban B., Auwerx J., De Martinville B. (1995). “Localization of the human ob gene at chromosome 7q32”. Genomics 28(3), 603-604.

González R.R., Caballero-Campo P., Jasper M., Mercader A., Devoto L., Pellicer A., Simon C. (2000). “Leptin and leptin receptor are expressed in the human endometrium and endometrial leptin secretion is regulated by the human blastocyst”. J Clin Endocrinol Metab 85(12): 4883-4888.

Gonzalez R.R., Simon C., Caballero-Campo P., Norman R., Chardoones D., Deveto L., Bischof P. (2000). “Leptin and reproduction”. Hum Reprrod Update 6, 290-300.

Halaas J.L., Gajiwala K.S., Maffei M., Cohen S.L., Chait B.T., Rabinowitz D., Lallone R.L., Burley S.K., Friedman J.M. (1995). "Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene." Science 269(5223): 543.

Harrod J.S., Rada C.C., Piere S.L., England S.K., Lamping K.G. (2011). “Altered contribution of RhoA/Rho kinase signaling in contractility activity of myometrium in leptin receptor deficient mice”. Am J Phsiol Endocrinol Metab 301(2): 362-369.

Hata A.N., Breyer R.M. (2004). "Pharmacology and signaling of prostaglandin receptors: multiple roles in inflammation and immune modulation." Pharmacol Ther 103(2) : 147-166.

Hauguel-DE Mouzon S., Lepercq J., Catalono P. (2006). “The known and the unknown of leptin in pregnancy”. Am J Obstet Gynecol 194(6), 1537-1545.

He Y., Chen H., Quon M.J., Reitman M. (1995). "The Mouse obese Gene." J Biol Chem 270(48): 28887-28891.

Hekerman P., Zeidler J., Bamberg-Lemper S., Knobelspies H.,La Vens D., Tavernier J., Joost H.G., Becker W. (2005). “Pleiotropy of leptin receptor signaling is defined by distinct roles of the intracellular tyrosines”. FEBS J 272(1), 109-119.

Hervey G. (1959). "The effects of lesions in the hypothalamus in parabiotic rats." J Physiol (Lond) 145: 336-352.

Hetherington A., Ranson S. (1942). "The spontaneous activity and food intake of rats with hypothalamic lesions." Am J Physiol 136: 609-617.

Hoggard N., Mercer J.G., Rayner D.V., Moar K., Trayhurn P., Williams LM. (1997). "Localization of leptin receptor mRNA splice variants in murine peripheral tissues by RT-PCR and in situ hybridization". Biochem Biophys Res Commun 232(2): 383-387.

Horgan A.M., Stork P.J.S. (2003). "Examining the mechanism of Erk nuclear translocation using green fluorescent protein". Experimental Cell Research 285(2): 208-220.

Hossner K.L. (1998). “Cellular, molecular and physiological aspects of leptin: potential application in animal production”. Can J Anim Sci 78 :463-472.

Huff R. (1950). "Nature of exchange in parabiotic rats". Am J Physiol 161: 56-74.

Imagawa K., Numata Y., Katsuura G., Sakaguchi I., Morita A., Kikuoka S., Matumato Y., Tsuji T., Tamaki M., Sasakura K., Teraoka H., Hosada K., Ogawa Y. and Nakao K. (1998). "Structure-function studies of human leptin". J Biol Chem, 273(52): 35245-35249.

Isse N., Ogawa Y., Tamura N., Masuzaki H., Mori K., Okazaki T., Satoh N., Shigemoto M., Yoshimasa Y., Nishi S., Hosoda K., Inazawa J. and Nakao K. (1995). "Structural Organization and Chromosomal Assignment of the Human obese Gene". J Biol Chem 270(46): 27728-27733.

Jansson T., Greenwood SL., Johansson BR., Powell TL., Jansson T. (2003). “Leptin stimulates the activity of the system A amino acid transporter in human placental villous fragments”. Journal of clinical Endocrinology and metabolism 88:1205-1211.

Jin L., Burguera B.G., Couse M., Scheithauer B.E., Lamsan J., Eberhardt N.L., Kulig E. and Lloyd R.V. (1999). "Leptin and leptin receptor expression in normal and neoplastic human pituitary: evidence of a regulatory role for leptin on pituitary cell proliferation". J Clin Endocrinol Metab 84(8): 2903-2911.

Jin L., Zhang S., Burguera B.G., Couce M.E., Osamura R.Y., Kulig E., Lloyd R.V (2000). "Leptin and leptin receptor expression in rat and mouse pituitary cells." Endocrinology 141(1): 333-339.

Kelly R.W., Lurnsden M.A., Abel M.H., Baird D.T. (1984). "The relationship between menstrual blood loss and prostaglandin production in the human: evidence for increased availability of arachidonic acid in women suffering from menorrhagia". Prostaglandins Leukot Med 16(1): 69-78.

Kenmonge N. (2007). « Influence du poids et de l’âge a la saillie sur les performances de reproduction. Etude expérimentale chez la Ratte ». Thèse de Doctorat, Université Cheikh Anta Diop De Dakar, p86.

Kennedy G.C. (1953). "The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat". Proc R Soc London 140: 578-592.

Kennedy T. G. (1980). "Prostaglandins and the endometrial vascular permeability changes preceding blastocyst implantation and decidualization". Prog Reprod Biol 7: 234-243.

Kennedy T. G., Ross H. E. (1993). "Effect of prostaglandin E2 on rate of decidualization in rats". Prostaglandins 46: 243-250.

Kim Y.-B., Uotani S., Pierroz D.D., Flier J.S., Kahn B.B. (2000). "*In Vivo* Administration of Leptin Activates Signal Transduction Directly in Insulin-Sensitive Tissues: Overlapping but Distinct Pathways from Insulin." Endocrinology 141(7): 2328-2339

Kishimoto T., Taga T., Akira S. (1994). "Cytokine signal transduction". Cell 76(2): 253-262.

Kitawaki J., Koshiba H., Ishihara H., Kusuki I., Tsukamoto K., Honja H. (2000). “Expression of leptin receptor in human endometrium and fluctuation during the menstruel cycle”. J Clin Endocrinol Metab 85: 1946-1950.

Laird S., Quinton N., Anstie B., Li T., Blakemore A. (2001). “Leptin and leptin-binding activity in women with recurrent miscarriage: correlation with pregnancy outcome”. Hum Reprod 16: 2008-2013.

Laivuori H GM., Collura L., Crombleholme W., Markovic N., Rajakumar A. (2006). “Relationships between maternal plasma leptin, placental leptin m RNA and protein in normal pregnancy, pre-eclampsia and intrauterine growth restriction without pre-eclampsia”. Mol Hum Reprod 12: 551-556.

Lea RG., Howe D., Hannah LT., Bonneau O., Hunter L., Hoggard N. (2000). “Placental leptin in normal, diabetic and fetal growth-retarded pregnancies”. Molecular Human Reproduction 6 :763-769.

Levasseur M.C, Thibault C. (2001). « La reproduction chez les mammifères et l'homme », 2ème Édition, Ellipses Edition Marketing SA, Paris, France, p95-110.

Li C., Friedman J.M. (1999). "Leptin receptor activation of SH2 domain containing protein tyrosine phosphatase 2 modulates Ob receptor signal transduction". PNAS 96(17): 9677-9682.

Licinio J., Caglavan S., Ozata M., Yildiz B.O., De Miranda PB., O'kirwan F., Whitby R., Liang L., Cohen P., Bhasin S., Krauss RM., Veldhui J.D., Wagner A.J, Depaoli A.M, Mccann S.M., Wong M.L. (2004): “Phenotypic effects of leptin replacement on morbid obesity, diabetes mellitus, hypogonadism, and behaviour in leptin deficient adults”. Proc Natl Acad Sci USA 101(3), 4531-4536.

Lin S., Huang X.F. (1997). "Fasting increases leptin receptor mRNA expression in lean but not obese (ob/ob) mouse brain". Neuroreport 8(16): 3625-3629.

Madej T., Boguski M.S., Bryant S.H. (1995). "Threading analysis suggests that the obese gene product may be a helical cytokine." FEBS Lett 373(1): 13-18.

Matalliotakis IM., Koumantaki YG., Neonaki MA., Goumenou AG., Koumantakis GE., Kyriakou DS. (2000). “Increase in serum leptin concentrations among woman with endometriosis during danazol and leuprolide depot treatments”. Am J Obstet Gynecol 183: 58-62.

McFarlane J., Herrid M., Palanisamy S. (2014). “Ovarian Sensitivity to Gonadotrophins is Increased by Passive Immunization Against Leptin”. Conference Paper, The annual scientific meeting of the Endocrine Society of Australia and the Society for Reproductive Biology, At Melbourne.

Mercer J G., Hoggard N., Williams L.M., Lawrence C.B., Hannah L.T., Morgan P.J., Trayhurn P. (1996). "Coexpression of leptin receptor and preproneuropeptide Y mRNA in arcuate nucleus of mouse hypothalamus". J Neuroendocrinol 8(10): 733-735.

Morash B., Li A., Murphy P.R., Wilkinson M., Ur E. (1999). "Leptin gene expression in the brain and pituitary gland". Endocrinology 140(12): 5995-5998.

Morin M. (2019). « Impacts moléculaires directs de la voie des œstrogènes erα dans le tissu adipeux blanc viscéral de souris saines ou atteintes d'obésité ». Thèse présentée au Département de biologie en vue de l'obtention du grade de docteur ès sciences (Ph.D.). Faculté des Sciences. Université de Sherbrooke, Québec, Canada. 190p.

Morton N.M., Emilsson V., de Groot P., Pallett A.L., Cawthorne M.A. (1999). "Leptin signalling in pancreatic islets and clonal insulin-secreting cells". J Mol Endocrinol 22(2): 173-184.

Morton N.M., Emilsson V., Liu Y.-L., Cawthorne M.A. (1998). "Leptin Action in Intestinal Cells". J Biol Chem 273(40): 26194-201.

Moynihan A.T., Hehir M.P., Glavey S.V., Smith T.J., Morrison J.J. (2006). "Inhibitory effect of leptin on human uterine contractility in vitro". Am J Obstet Gynecol 195(2) :504-509.

Mulac-Jericevic B., Lydon J. P., De Mayo F. J., Conneely O. M. (2003). "Defective mammary gland morphogenesis in mice lacking the progesterone receptor B isoform". Proc Natl Acad Sci U S A 100(17): 9744-9749.

Mulac-Jericevic B., Mullinax R. A., De Mayo F. J., Conneely O. M. (2000)."Subgroup of reproductive functions of progesterone mediated by progesterone receptor B isoform". Science 289: 1751-1754.

Mumtaz S., Alsaif S., Wray S., Nobel K. (2015). "Inhibitory effect of visfatin and leptin on human and rat myometrial contractility". Life science V (125): 57-62.

Oakberg E.F. (1996). "A description of spermatogenesis in the mouse and its use in analysis of the cycle of the seminiferous epithelium and germ cell renewal". Amer J Anat (99): 391.

Ott I., Scott J.C. (1909). "The Action of Glandular Extracts Upon the Contractions of the Uterus". J Exp Med 11(2) : 326-330.

Palchevska S.K.M., Shukarova E., Aluloska N., Jakimoska M., Kocevski D., (2012). “Comparing preterm and term newborns serum adiponectin and leptin concentrations and their correlation with anthropometric parameters”. Macedonian J Med Sci 5: 317-323.

Picard-Hagen N., Berthelot X. (1997). « Maîtrise Hormonale des cycles chez les petits ruminants ». La semaine Vétérinaire (Supplément 847): 8-10.

Poyser N. L. (1995). "The Control of Prostaglandin Production by the Endometrium inrelation to Luteolysis and Menstruation”. Prostaglandins Leukotrienes and essential Fatty Acids 53(3): 147-195.

Preidkalns J., Leiser R. (1998). “Female reproductive system”. *In:* Dellmann H., Eurell J. Textbook of veterinary histology. Baltimore, Williams and Wilkins, p247-269.

Qui C., Williams M.A., Vadachkoria S., Freiderick I.O., Luthy D.A. (2004). “Increased Maternal Plasma Leptin in Early Pregnancy and Risk of Gestational Diabetes Mellitus”. Obstet Gynecol 103(3): 519-525.

Ramos M.P., Rueda B.R., Leavis P.C., Gonzalez R.R. (2005). “Leptin Serves as an Upstream Activator of an Obligatory Signaling Cascade in the Embryo-Implantation Process”. Endocrinology 146: 694-701.

Raynaud A. (1969). *In* : « Traité de zoologie », P.P. Grassé : Tome : XVI, fascicule VI, Paris : Masson, 636p.

Rees M.C.P., Anderson A.B., Demers L.M., TumbuI1 A.C. (1984). "Endometrial and myometrial prostaglandin release during the menstrual cycle in relation to menstrual blood loss" J Clin Endocrinol 58(5): 813-818.

Rock J., A. (1995). “The revised American Fertility Society classification of endometriosis: reproducibility of scoring. ZOLADEX Endometriosis Study Group”. Fertil Steril 63(5): 1108-1110.

Rosario FJ., Kanai Y., Powell TL., Jansson T. (2015). “Increased placental nutrient transport in a novel mouse model of maternal obesity with fetal overgrowth”. Obesity 23 : 1663-1670.

Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. (2004). “Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome”. Fertil Steril 2004 (81).

Rousseau J.P., Menzo Y. (1991). « Rôle du tractus génital femelle dans les déplacements et la survie des gamètes et de l'œuf fécondé ». *In :* Thibault C., Levasseur M.C. « La reproduction chez les mammifères et l'homme ». Paris : Editeur des préparations grandes écoles de médecine, p359-376.

Rugh R. (1968). « The mouse, its reproduction and development". Londres: Burgess Publi.co., 430p.

Santulli R., Awogini C.A. (1990). "To what extend can spermatogenesis be maintened in the hypophysectomized adult rat with exogenously administrated testosterone. Endocrinology (126): 95-102.

Schulz L.C., Townsed K., Kunz TH., Widmaier EP. (2007). "Inhibition of trophoblast invasiveness in vitro by immunoneutralization of leptin in the bat, Myotis Iucifugus (Chiroptera)". General and copmarative Endocrinology 150: 59-65.

Seirra-Honigmann MR., Nath AK., Murakami C., Gracia-Cardena G., Papapetropoulos A., Sess WC. (1998). "Biological action of leptin as an angiogenic factor". Science 281:1683-1686.

Senaris R., Garcia-Caballero T., Casabiell X., Gallego R., Castro R., Considine R.V., Dieguez C., Casaneuva FF. (1997). "Synthesis of leptin in human placenta". Endocrinology 138: 4501-4504.

Shigemura N., Miura H., Kuskabe Y., Hino A., Ninomiya Y. (2003). "Expression of leptin receptor (Ob-R) isoforms and signal transducers and activators of transcription (STATs) mRNAs in the mouse taste buds". Arch Histol Cytol 66(3), 253-260.

Shimomura K., Shimizu H., Tsuchiya T., Abe Y., Uehara Y., Mori M. (2002). "Is leptin a key Factor which develops obesity by ovareictomy?". Endocrine Journal 49(4), 417-423.

Shroff M.R., Holzman C., Tian Y., Evans Rw., Sikorskii A. (2013). Mid-pregnancy maternal leptin levels, birthweight for gestationl age and preterm delivery. Clin Endocrinol (Oxf) 78: 607-613.

Simon C., Mercader A., Gracia-Velasco JA., Nikas C., Remohi J., Pillicer A. (1999). "Coculture of human embryos with autologous human endometrial cells in patients with implantation failure". J Clin Endocrinol Metabol 84: 2638-2646.

Singh E.J., Baccarini l., Zuspan F.P. (1975). "Levels of prostaglandins F-2alpha and E-2 in human endometrium during the menstrual cycle". Am J Obstet Gynecol 121(7): 1003-1006.

Slieker L. J., Sloop K.W., Surface P.L., Kriauciunas A., Laquier F., Manetta J., Bue-Valleskey J., Stephens T.W. (1996). "Regulation of Expression of ob mRNA and Protein by Glucocorticoids and cAMP". J Biol Chem 271(10), 5301-5304

Smallwood S. (2007). « La leptine : rôle physiologique dans la fonction somatotrope, transduction du signal et mécanismes d'internalisation ». Thèse de doctorat, Université Claud Bernard, 262p.

Spicer L.J., Francisco C.C. (1998). "Adipose obese gene product, leptin, inhibits bovine ovarian thecal cell steroidogenesis". Biology of Reproduction 58: 207-212.

Sugimoto Y., Yamasaki A., Segi E., Tsuboi K., Aze Y., Nishimura T., Oida H., Yoshida N., Tanaka T., Katsuyama M., Hasumoto K., Murata T., Hirata M., Ushikubi F., Negishi M., Ichikawa A., Narumiya S. (1997). "Failure of parturition in mice lacking the prostaglandin F receptor". Science"277(5326): 681-683.

Tanaka T., Utsunomiya T., Bai T., Nakajima S., Umesaki N. (2003). "Leptin inhibits decidualization and enhances cell viability of normal human endometrial stromal cells". International Journal of Molecular Medicine 12: 95-98.

Tartaglia L., Dembski M., Weng X., Deng N., Culpepper J., Devos R., Richards GJ., Campfield LA., Clark F.T., Deeds J., Muir C., Sanker S., Moriarty A., Moore K.J., Smutko J.S., Mays G.G., Wool E.A., Monroe C.A., Tepper R.I. (1995). "Identification and expression cloning of a leptin receptor OB-R". Cell 83(7), 1263-1271.

Tennekoon K.H., Eswaramohan T., Karunanayake E.H. (2007). "Effect of leptin on prolactin and insulin-like growth factor –I secretion by cultured rat endometrial stromal cells". Fertil Steril 88, 193-199.

Tsai P-JS., Davis J., Bryant-Greenwood G. (2015). "Systemic and placental leptin and its receptors in pregnancies associated with obesity". Reproduction Sciences 22:189-197.

Tsuchiya T., Shimizu H., Horie T. and Mori M. (1999). "Expression of leptin receptor in lung: leptin as a growth factor." European Journal of Pharmacology 365(2-3): 273-279.

Vaissaire J.P. (1977). « Appareil génital femelle. *In:* Sexualité et reproduction des mammifères domestiques et de laboratoire ». Paris : Maloine S.A. Editeur, 457p.

Vaisse C., Halaas J.L., Horvath C.M., Darnell J.E., Stoffel M., Friedman J.M. (1996). "Leptin activation of Stat3 in the hypothalamus of wild-type and ob/ob mice but not db/db mice". Nat Genet 14(1): 95-97.

Vambergue A. (2010). « Le diabete gestationnel ». Diabetes & Metabolism 36(6P2) : 511-699.

Vigano P., Somigliana E., Matrone R., Dubini A., Barron C., Vignali M. (2002). « Serum leptin concentrations in endometriosis ». J Clin Endocrinol Metab 87: 1085-1087.

Wang Y.Z., Qiao J., Liu L.L., Chen Y.J., Li M.Z. (2003). « Expression of leptin and long form of leptin receptors messenger ribonucleic acid and protein in endometrium of patients with polycystic ovary syndrome". Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi 38(7): 398-401.

Waynforth H.B., Flecknell P.A. (1992). "Experimental and surgical technique in the rat". Academic Press Limited, 382p.

Wertel I., Gogacz M., Polak G., Jakowicki J., Kotarski J. (2005). Leptin is not involved in the pathophysiology of endometriosis- related infertility". European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproduction Biology 119: 206-209.

Willer-Kautzky A., Pacini G., Tura A., Beiglmayer C., Schneider B., Ludvik B., Prager R., Waldhausl W. (2001). "Increased plasma leptin in gestational diabetes". Diabetologia 44(2): 164-172.

Wuntakal R., Hollingworth T. (2010). "Leptin-A tocolytic agent for the future". Med Hypotheses 74: 81-82.

Ye Y., Kawamura K., Ssaki M., Kawamura N., Groenen P., Sollewjin Gelpke M.D., Kumagai J., Fukuda J., Tanaka T. (2009). "Leptin and ObRa/MEK signalling in mouse oocyte maturation and preimplantation embryo development". Reproduction Bio Medicine Online 19: 181-190.

Zachow R.J., Magoffin D.A. (1997). "Direct Intraovarian Effects of Leptin: Impairment of the synergistic action of Insulin-Like Growth Factor-I on Follicule-Stimulating Hormone-Dependent Estradiol-17β Production by Rat Ovarian Granulosa Cells". Endocrinology 138: 847-850.

Zhang F., Basinski M.B., Beals J.M., Briggs S.L., Churgay L.M., Clawson D.K., DiMarchi R.D., Furman T.C., Hale J.E., Hsiung H.M., Schoner B.E., Smith D.P., Zhang X.Y., Wery J.P., Schevitz R.W. (1997). "Crystal structure of the obese protein Ieptin-E100". Nature 387(6629): 206-209.

Zhang Y., Proenca R., Maffei M., Barone M., Leopold L., Friedman J.M. (1994). "Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue". Nature 372(6505): 425-432.

ANNEXES

ANNEXE A : Coloration au Trichrome de Masson

Réactifs

1. Hématoxyline de Harris
2. Fuchsine Ponceau
3. Alcool chlorhydrique.
4. Vert lumière ou Bleu d'aniline.
5. Acide phosphotungstique
6. Solution aqueuse à 1% d'acide acétique

Préparation des réactifs

1. Hématoxyline de Harris (solution préparée) : Filtrer avant utilisation.

2. Fuchsine-Ponceau : Préparée à froid**.**

❖ Fuchsine acide …….....…….. 0.1 g
❖ Ponceau …….....……0.2 g
❖ Eau distillée …….....……300 mL

Après dissolution, ajouter :

❖ Acide acétique…….....……0.6 mL

3. Alcool chlorhydrique

❖ Acide chlorhydrique 37 % …….....……0.75 mL
❖ Alcool 70 % …….....……100 mL

4. Vert lumière

❖ Vert lumière ……...…….....…….1 g
❖ Eau distillée …….....……100 mL
❖ Acide acetique …..…….....…….…..... 0.2 mL

Conservation illimitée.

5. Acide phosphotungstique 3%

❖ Acide phosphotungstique …….....…….. 3 g
❖ Eau distillée……...……..100 mL

6. Eau acétifiée 1%

❖ Acide acétique…….....…….. 10 mL
❖ Eau distillée…….....……99 mL

ANNEXE B : Poids absolus et relatifs des cornes utérines des femelles T et E âgées de 30 jours

		Poids Absolus (g)			Poids Relatifs (g /100 g de PC)		
	PC (g) à J6	CUD	CUG	CUD+CUG	CUD	CUG	CUD+CUG
30 / T1	59	0,064	0,0611	0,1251	0,0011	0,001	0,0021
30 / T2	45	0,0366	0,0371	0,0737	0,0008	0,0008	0,0016
30 / T3	36	0,0163	0,0185	0,0348	0,0005	0,0005	0,001
30 / T5	58	0,0697	0,0408	0,1105	0,0012	0,0007	0,0019
30 / T6	78	0,0804	0,0731	0,1535	0,001	0,0009	0,002
30 / T7	65	0,0632	0,0771	0,1403	0,001	0,0012	0,0022
30 / T8	53	0,0435	0,0394	0,0829	0,0008	0,0007	0,0016
30 / T9	75	0,0561	0,0707	0,1268	0,0007	0,0009	0,0017
30 / T10	58	0,0227	0,0206	0,0433	0,0004	0,0004	0,0007
30 / T11	57	0,0198	0,0258	0,0456	0,0003	0,0005	0,0008
30 / T12	78	0,048	0,0499	0,0979	0,0006	0,0006	0,0013
30 / T13	82	0,07	0,0903	0,1603	0,0009	0,0011	0,002
Moyenne	**62**	**0,0492**	**0,0504**	**0,0996**	**0,0008**	**0,0008**	**0,0016**
ESM	**4,0843**	**0,0062**	**0,0069**	**0,0126**	**0,0001**	**0,0001**	**0,0001**
30 / E1	51	0,0238	0,0366	0,0604	0,0005	0,0007	0,0012
30 / E2	43	0,0246	0,0275	0,0521	0,0006	0,0006	0,0012
30 / E3	43	0,0282	0,0258	0,054	0,0007	0,0006	0,0013
30 / E4	40	0,0282	0,0284	0,0566	0,0007	0,0007	0,0014
31 / E5	64	0,0362	0,0588	0,095	0,0006	0,0009	0,0015
32 / E6	70	0,0489	0,0523	0,1012	0,0007	0,0007	0,0014
32 / E7	63	0,041	0,0541	0,0951	0,0007	0,0009	0,0015
30 / E9	83	0,109	0,1204	0,2294	0,0013	0,0015	0,0028
30 / E10	54	0,0399	0,0402	0,0801	0,0007	0,0007	0,0015
30 / E11	56	0,0212	0,0349	0,0561	0,0004	0,0006	0,001
30 / E12	84	0,0651	0,0933	0,1584	0,0008	0,0011	0,0019
30 / E13	85	0,0829	0,0797	0,1626	0,001	0,0009	0,0019
Moyenne	**61,33**	**0,0458**	**0,0543**	**0,1001**	**0,0007**	**0,0008**	**0,0015**
ESM	**4,7231**	**0,0078**	**0,0085**	**0,0161**	**0,0001**	**0,0001**	**0,0001**

ANNEXE C : Poids absolus et relatifs des cornes utérines des femelles T et E âgées de 60 jours

		Poids Absolus (g)			Poids Relatifs (g / 100 g de PC)		
	PC (g) à J6	CUD	CUG	CUD+CUG	CUD	CUG	CUD+CUG
60 / T1	138,00	0,0711	0,0457	0,1168	0,0005	0,0003	0,0008
60 / T2	135,00	0,2037	0,2577	0,4614	0,0015	0,0019	0,0034
60 / T3	150,00	0,2312	0,2765	0,5077	0,0015	0,0018	0,0034
60 / T4	147,00	0,2774	0,3980	0,6754	0,0019	0,0027	0,0046
60 / T6	153,00	0,1986	0,3365	0,5351	0,0013	0,0022	0,0035
60 / T7	141,00	0,2452	0,2569	0,5021	0,0017	0,0018	0,0036
60 / T10	122,00	0,0145	0,1308	0,1453	0,0001	0,0011	0,0012
60 / T11	153,00	0,2531	0,3766	0,6297	0,0017	0,0025	0,0041
60 / T12	160,00	0,2043	0,3101	0,5144	0,0013	0,0019	0,0032
Moyenne	**144,33**	**0,1888**	**0,2654**	**0,4542**	**0,0013**	**0,0018**	**0,0031**
ESM	**3,86**	**0,0293**	**0,0379**	**0,0650**	**0,0002**	**0,0002**	**0,0004**
60 / E1	114,00	0,1167	0,1419	0,2586	0,0010	0,0012	0,0023
60 / E2	133,00	0,0644	0,1217	0,1861	0,0005	0,0009	0,0014
60 / E4	146,00	0,3444	0,3692	0,7136	0,0024	0,0025	0,0049
60 / E5	148,00	0,2076	0,2493	0,4569	0,0014	0,0017	0,0031
60 / E6	142,00	0,3386	0,2470	0,5856	0,0024	0,0017	0,0041
60 / E7	138,00	0,2609	0,2959	0,5568	0,0019	0,0021	0,0040
60 / E10	143,00	0,1589	0,1946	0,3535	0,0011	0,0014	0,0025
60 / E12	139,00	0,4994	0,1941	0,6935	0,0036	0,0014	0,0050
Moyenne	137,88	0,2489	0,2267	0,4756	0,0018	0,0016	0,0034
ESM	3,80	0,0502	0,0288	0,0693	0,0003	0,0002	0,0005