

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

UNIVERSITE MOULOUD MAMMARI TIZI-OUZOU FACULTE : SCIENCES
BIOLOGIQUES ET SCIENCES AGRONOMIQUES DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE MASTER EN
SCIENCES BIOLOGIQUES

Option : Biologie et Physiologie de la Reproduction

" Synthèse Bibliographique sur les Kisspeptines dans la
Fonction de Reproduction :
Aspects Physiologiques et Physiopathologiques"

Présenté par : M^{elle} DAHMAM Meriem

M^{elle} TAIB Imane

Membres du jury :

ZERROUKI N.	Présidente du jury	Pr-FSBSA-UMMTO
BENABDESSELAM R.	Promotrice	Pr-FSBSA-UMMTO
GUENDOUDI S.	Examinatrice	MAA-FSBSA-UMMTO
KEDDACHE A.	Examineur	MCA-FSBSA-UMMTO

Année universitaire : 2019/2020

Remerciements

Nous remercions le Dieu le tout puissant qui nous a accordé santé, courage et patience afin de mener à bien ce modeste travail.

Nous tenons tout d'abord à exprimer nos remerciements à notre seule et unique promotrice madame BENABDESSELAM Rosa, qui a suivie de près notre travail, pour sa collaboration, son orientation et ses conseils précieux.

Nos vifs remerciements s'adressent également aux membres du jury d'avoir accepté de juger et d'examiner notre travail.

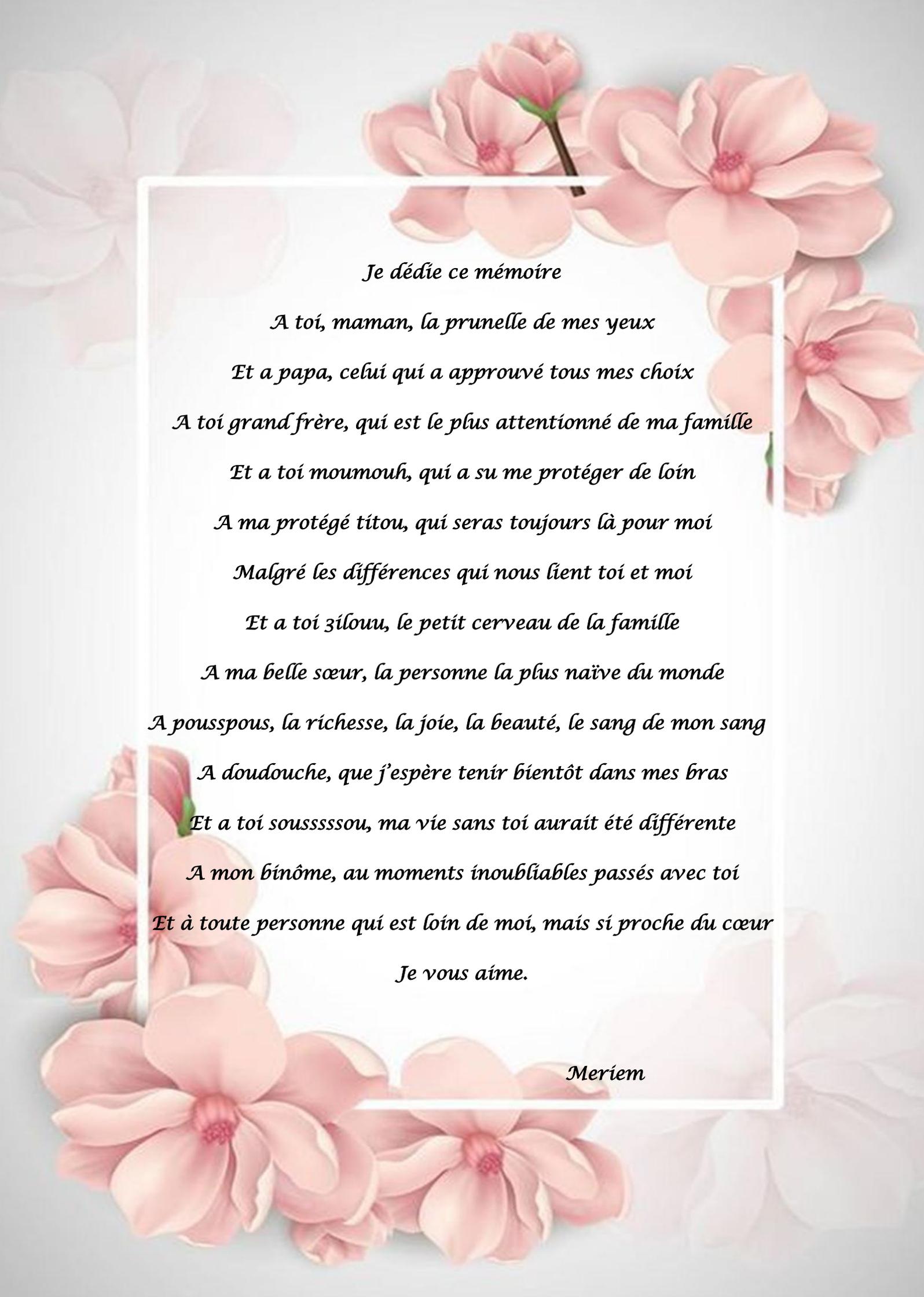
A tous ceux qui de près ou de loin ont apporté leur contribution à la réalisation de ce travail, je vous prie de trouver l'expression de ma profonde reconnaissance.

Dédicaces

The background of the page is decorated with several large, soft pink flowers with delicate petals and visible stamens. The flowers are arranged in a way that they appear to be framing the central text. Some are in the top right corner, some in the bottom left, and some are scattered around the edges. The overall aesthetic is gentle and affectionate.

*Je dédie ce modeste travail,
A la mémoire de mes grands-parents maternels et paternels
Que dieu les accueille dans son vaste paradis
A mes très chers parents, Farída et Saïd
Pour leur amour, leur soutien et leurs encouragements
A ma grande sœur adorée, Lynda, son mari Saïd
et leur petit prince
A mon frère, mon héros, Mohamed
A ma petite sœur, ma princesse, Mélina
A ma tante chérie, Djoudjou
A tous les membres de ma famille maternelle et paternelle
A mon binôme Meriem.
Tout mon amour vous est destiné.*

Imane íM.



Je dédie ce mémoire

A toi, maman, la prunelle de mes yeux

Et a papa, celui qui a approuvé tous mes choix

A toi grand frère, qui est le plus attentionné de ma famille

Et a toi moumouh, qui a su me protéger de loin

A ma protégé titou, qui seras toujours là pour moi

Malgré les différences qui nous lient toi et moi

Et a toi zilouu, le petit cerveau de la famille

A ma belle sœur, la personne la plus naïve du monde

A pousspous, la richesse, la joie, la beauté, le sang de mon sang

A doudouche, que j'espère tenir bientôt dans mes bras

Et a toi soussssou, ma vie sans toi aurait été différente

A mon binôme, au moments inoubliables passés avec toi

Et à toute personne qui est loin de moi, mais si proche du cœur

Je vous aime.

Meriem

Table des matières

Remerciement	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Résumé	
Introduction.....	1
Chapitre I : Généralités sur l'axe gonadotrope	
1. Données anatomo-structurales de l'axe hypothalamo-antéhypophysio-gonadique.....	2
1.1. Hypothalamus.....	2
1.2. Hypophyse.....	2
1.3. Gonades	3
1.3.1. Les testicules.....	3
1.3.2. Les ovaires.....	4
2. Données histologiques de l'axe hypothalamo-antéhypophysio-gonadique	5
2.1. Région hypothalamique.....	5
2.2. L'antéhypophyse.....	7
2.2.1. Le lobe antérieur.....	7
2.2.2. Le lobe intermédiaire.....	8
2.2.3. Le lobe tubéral.....	8
2.3. Les Gonades.....	8
2.3.1. Les testicules.....	8
2.3.2. Les ovaires.....	9
3. Régulation endocrine de l'axe hypothalamo-antéhypophysio-gonadique	10
3.1. Les hormones hypothalamiques.....	10
3.2. Les hormones adénohypophysaires.....	12
3.3. Les hormones gonadiques.....	13
3.3.1. Celles du testicule.....	13

3.3.1.1. Les androgènes.....	13
3.3.1.2. Les inhibines et activines.....	14
3.3.2. Les ovaires.....	14
3.3.2.1. Les œstrogènes.....	14
3.3.2.1 La progestérone.....	15

Chapitre II : Généralités sur les kisspeptines

1. Neuroanatomie du système des kisspeptines.....	16
2. Biochimie des kisspeptines.....	17
3. Récepteurs et voies de signalisation des kisspeptines.....	19
3.1. Récepteur KISS1R.....	19
3.2. Les voies de signalisation.....	20
4. Organisation et intégration du réseau neuronal des kisspeptines.....	21
5. Contrôle de l'activité des kisspeptines.....	27
5.1. Expression génétique.....	27
5.2. Effets de la photopériode et de la mélatonine sur l'expression de KISS1.....	28

Chapitre III : Kisspeptines et la fonction de reproduction

1. Kisspeptines et la sécrétion des hormones gonadotropes.....	30
2. Impact des kisspeptines sur l'axe hypothalamo-antéhypophysio-gonadique.....	31
2.1. Sexualisation des réseaux neuronaux et l'activation de l'axe gonadotrope à la puberté.....	32
2.2. Formation du pic préovulatoire de GnRH et de LH.....	35
2.3. Contrôle de la pulsativité des neurones à GnRH.....	37
3. Action des hormones sexuelles sur les kisspeptines.....	38
4. Déclenchement de la puberté.....	40
5. Kisspeptines dans la régulation de la fonction gonadique et actions sur les gamètes.....	40
5.1. Testicules et spermatozoïdes.....	40
5.2. Ovaires et ovocytes.....	42
6. Kisspeptines dans la gestation et la lactation.....	43
6.1. Gestation.....	43
6.1.1. Développement utérin et fécondation de l'ovocyte.....	43
6.1.2. Nidation et placentation.....	43

6.2. Lactation.....	45
6.2.1. Interaction entre les kisspeptines et la prolactine lors de la galactopoïèse.....	45
6.2.2. Kisspeptines et reflex d'éjection du lait.....	47
7. Kisspeptines et activité des gonades chez les espèces photopériodiques.....	49
Chapitre IV : Troubles de reproduction liés aux kisspeptines et pharmacologie des kisspeptines	
1. Kisspeptines et troubles de reproduction.....	52
1.1. Kisspeptines dans l'hypogonadisme hypophysaire et puberté précoce centrale.....	52
1.1.1. Dans le cas de l'hypogonadisme hypophysaire.....	52
1.1.2. Dans le cas de la puberté précoce centrale.....	52
1.2. Kisspeptines et le syndrome des ovaires polykystiques.....	55
1.3. Kisspeptines et la maladie trophoblastique gestationnelle.....	56
2.4. Kisspeptines comme cible pour les perturbateurs endocriniens	57
2. Pharmacologie des kisspeptines.....	58
2.1 Agonistes des kisspeptines.....	60
2.2. Antagonistes des kisspeptines.....	62
Conclusion	65
Bibliographie.....	66

Liste des abréviations

3V : 3ème ventricule

3 β -HSD : 3-bêta-hydroxystéroïde déshydrogénase

Aa : acide aminé

Ac : acétylation

ACTH: adreno corticotropic hormone

ADN : acide désoxyribonucléique

AHA : aire hypothalamique antérieure

AHAHG : axe hypothalamo-antéhypophysio-gonadique.

AMG: amygdale

AMH: anti-müllerian hormone

ANDRO : Androgénisation

AOB : bulbe olfactif accessoire

APO : aire préoptique

AR : récepteur aux androgènes

ARC : noyau arqué

ARNm : acide ribonucléique messenger

AV : villosité d'ancrage

AVPV : noyau antéroventral périventriculaire

BEC : boucle extracellulaire

BIC: boucle intracellulaire

BNST: bed nucleus of the stria terminalis

BPA : bisphénol a

D2 : dopamine

DAG : diacylglycérol

Dio2 : iodothyronines désiodases de types 2

Dyn: dynorphine

ERE: estrogen responsive element

ERK1/2: extracellular signal-regulated kinases 1 and 2

ER α : récepteur α aux œstrogènes

EVCT: cytotrophoblaste extravilleux

FSH: follicle-stimulating hormone

GABA: acide gamma-aminobutyrique

GH: growth hormone

GnRH : gonadotropin releasing hormone

GnRH-GPR54KO : Lignée de souris avec une suppression des récepteurs aux kisspeptines spécifique aux neurones à GnRH

GPR54 : récepteur de kisspeptine couplé à la protéine G

H3K9/14 : acétylation de la protéine histone H3 sur les résidus lysines en positions 9 et 14

hCG: human chorionic gonadotropin

HTM: hélice transmembranaire

ICV : intracérébroventriculaire

IP : intrapéritonéale

IP3 : inositol triphosphate

IV : intraveineuse

KISS1R : récepteur à kisspeptine

KNDy: kisspeptine/neurokinine/dynorphine

KO: knock out

KOR : récepteur κ aux opioïdes

Kp : kisspeptine

Kp-ir : kisspeptine immunoréactive

LEPR : récepteur à la leptine

LH : luteinizing hormone

LHA : aire hypothalamique latérale

LIF : leukemia inhibitor factor

LPO : aire préoptique latérale

LPZ : zone palissadique latérale

MAPK : mitogen-activated protein kinases

ME : éminence médiane

MEPO : noyau préoptique médiale
mGluR1a : récepteur membranaire A1 au glutamate
MMP : matrix metalloproteinase
MPA : aire préoptique médiale
MPN : noyau préoptique médial
MTG : maladie trophoblastique gestationnelle
MUA : multi-unit activity
NC : non connue
NEO-ORX: orchidectomie neonatale
NHDM: noyau hypothalamo-dorso-median
NHVM : noyau hypothalamo-ventro-median
NK3R : récepteur 3 à la neurokinine
NKB: neurokinine B
NO: monoxyde d'azote
NSC : noyau suprachiasmatique
OVLT : organe vasculaire de la lame terminale
PIP2 : phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate
Pit : hypophyse
PKC : protéine kinase C
PLC : phospholipase C
PMV : noyau prémamillaire ventral
POMC : pro-opio-mélano-cortine
PPCI : puberté précoce centrale idiopathique
PR : récepteur à la progestérone
Preg : pregnénone
PRL : prolactine
PRLR : récepteur à la prolactine
pSTAT5: protein signal transducers and activators of transcription
PVN : noyau paraventriculaire
PVPO : noyau préoptique périventriculaire

RF: releasing factor

RFRP: RFamide-related peptide

RH: releasing hormone

RLF: relaxin-like factor

RP3V : région périventriculaire rostrale du 3ème ventricule

SA : semaine d'aménorrhée

SC : sous-cutanée

SNC : système nerveux central

SON : noyau supraoptique

SOPK : syndrome des ovaires polukystiques

SP1 : facteur de transcription

ST : syncytiotrophoblaste

T3 : triiodothyronine

T4 : tetraiodothyronine

TIDA: tuberoinfundibular dopamine neurons

TIMP: tissue inhibitor of metalloproteinases

TSH: thyroid-stimulating hormone

VCT: cytotrophoblaste villositaire

VEGF-A: vascular endothelial growth factor A

VHT : faisceau hypothalamique ventral

VTM : noyau tubéromammillaire ventral

ZP : zone périnucléaire du noyau supraoptique

α -MSH: α - melanocyte stimulating hormone

Liste des figures

Figure 1 : Représentation schématique dans le plan sagittal des composants de l'axe hypothalamo-hypophysaire.....	3
Figure 2 : coupe d'un testicule humain montrant sa structure générale.....	4
Figure 3 : vue ventrale de l'ovaire et de la trompe.....	5
Figure 4 : Vue schématique de l'axe hypothalamo-hypophysaire montrant les noyaux à neurones parvocellulaires.....	6
Figure 5 : Structure histologique d'un cordon cellulaire au niveau du lobe antérieur de l'hypophyse.....	7
Figure 6 : coupe partielle d'un testicule adulte.....	9
Figure 7 : Coupe histologique d'un ovaire adulte humain.....	10
Figure 8 : la GnRH détectée par immunofluorescence dans l'éminence médiane	11
Figure 9 : Synchronisation de la sécrétion pulsatile de GnRH et LH	11
Figure 10 : Les sécrétions neurohypophysaire et adénohypophysaires et leurs tissus cibles..	12
Figure 11 : Schéma résumant la voie de la stéroïdogénèse dans le testicule humain.....	13
Figure 12 : Schéma des voies principales de la stéroïdogénèse chez la femme.....	15
Figure 13 : du gène kiss-1 aux différentes isoformes de kisspeptine	18
Figure 14 : la kisspeptine-10, une molécule très conservée au cours de l'évolution	19
Figure 15 : Présentation schématique des principales voies de signalisation recrutées lors de l'activation du GPR54 par les kisspeptines.....	21
Figure 16 : Distribution et projections des neurones à kisspeptines au sein du cerveau murin femelle.....	23
Figure 17 : Localisation et proximité anatomique des neurones à GnRH et à kisspeptines chez les rongeurs (a), les ovins (b) et les singes (c)	24
Figure 18 : Interconnexions entre les neurones à kisspeptines de la RP3V et de l'ARC et les neurones à GnRH chez la souris.....	26
Figure 19 : Action nucléaire du récepteur ER α dans les neurones à kisspeptine de l'AVPV..	27
Figure 20 : Les concentrations circulantes de mélatonine en photopériode courte et longue..	28
Figure 21 : Kisspeptine, un acteur majeur de la régulation neuroendocrine de la reproduction..	31
Figure 22 : Schéma représentatif du dimorphisme sexuel de la population de neurones Kiss1 dans l'AVPV chez les rongeurs.....	33

Figure 23 : Interactions entre les signaux œstrogéniques et neuroprogestéroniques dans les neurones à kisspeptines et les astrocytes pour la médiation du rétrocontrôle positif des stéroïdes sexuels.....	36
Figure 24 : Enregistrements de la sécrétion pulsatile de LH et des salves de MUA obtenues dans l'ARC au contact des neurones à kisspeptines chez un bouc castré.....	37
Figure 25 : Schéma représentatif des régulations des neurones à kisspeptine par les stéroïdes sexuels chez les rongeurs d'âge adulte.....	39
Figure 26 : Immunofluorescence de spermatozoïdes humains avec des anticorps dirigés contre la kisspeptine et contre son récepteur, Kiss1R.....	41
Figure 27 : Distribution de l'expression de Kiss1 (A) et Kiss1R (B) dans le trophoblaste humain.....	45
Figure 28 : Mécanismes de l'hypogonadisme induit par l'hyperprolactinémie impliquant les kisspeptines.....	46
Figure 29 : Kisspeptines dans la galactopoïèse.....	48
Figure 30 : réflex d'éjection du lait.....	49
Figure 31 : Kisspeptines, comme intermédiaires dans la régulation photopériodique de l'activité reproductrice du hamster syrien.....	51
Figure 32 : Schéma des causes du syndrome des ovaires polykystiques.....	55
Figure 33 : Structure de l'agoniste TAK-448 (A, C) et TAK-683 (B). (C) modifications apportées par rapport à KP-10 et conséquences pharmacocinétiques.....	61
Figure 34 : Structure biochimique des molécules 9I et 15a.....	63
Figure 35 : Effet du composé 15a sur le taux plasmatique de LH chez les rats mâles castrés..	63

Liste des tableaux

- Tableau 1** : Pourcentage, selon l'espèce, de la distribution des différents récepteurs présents sur les neurones à kisspeptines dans l'ARC (en jaune) et la RP3V (en rouge)..... 26
- Tableau 2** : Mutations de KISS1R et KISS1 entraînant un hypogonadisme hypophysaire isolé normosmique chez l'homme. 53
- Tableau 3** : Mutations de KISS1 et KISS1R entraînant une puberté précoce centrale idiopathique chez l'homme. 54
- Tableau 4** : Possibles applications thérapeutiques des ligands du récepteur Kiss1R..... 59
- Tableau 5** : Possibles applications vétérinaires des ligands du Kiss1R chez les mammifères. 60

Introduction

La GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone), libérée dans le sang porte hypothalamique, est le facteur qui déclenche la libération de la LH (Luteinizing Hormone) et de la FSH (Follicle-Stimulating Hormone) par les cellules gonadotropes antéhypophysaires. Ces deux hormones stimulent les gonades induisant un état favorable à la reproduction. De ce fait, la GnRH a été longtemps considérée comme étant la molécule essentielle pour la régulation de l'axe hypothalamo-antéhypophyso-gonadique (AHAHG). Jusqu'à récemment, le rétrocontrôle ou le mode d'action de l'œstradiol sur les neurones à GnRH, qui possèdent peu ou pas de récepteurs pour cette hormone restait à élucider. L'hypothèse admise était celle de l'existence d'autres neurones (interneurones) présents dans l'hypothalamus medio-basal, capables de détecter l'augmentation d'œstradiol et de transmettre cette information aux neurones à GnRH. Néanmoins, leur identification neurochimique demeurait l'une des grandes questions dans le domaine du contrôle de la reproduction.

Cependant, en 2003, la découverte simultanée par deux équipes, De Roux et al. 2003 ; Seminara et al. 2003, d'un nouveau neuropeptide hypothalamique qui supervise la régulation de l'AHAHG, a provoqué une révolution dans la recherche sur le contrôle central de la reproduction. En effet, les données neuro-anatomiques et physiologiques ont permis de mettre en évidence le rôle majeur dans la reproduction de la kisspeptine, un neuropeptide, et de son récepteur, nommé Kiss1R ou GPR54, qui est de réguler l'activité des neurones à GnRH et notamment de leur mode de sécrétion.

L'action de la kisspeptine débute dès la vie fœtale, passant par l'événement marquant de la reproduction qui est le déclenchement de la puberté et se poursuit pour stimuler la synthèse des gamètes mâles et femelle. En outre, elle joue un rôle important dans les phénomènes physiologiques de la gestation et la lactation.

En raison de son rôle fondamental dans la régulation de la sécrétion d'hormones physiologiques de la reproduction, le ciblage de la voie de la kisspeptine qui a suscité un vif intérêt, a permis de synthétiser plusieurs molécules analogues dont le but est de traiter les troubles de la reproduction chez l'homme et l'animal.

L'objectif de notre mémoire est de faire une synthèse des données de la littérature scientifique internationale sur l'importance du système des kisspeptines dans les mécanismes liés à la physiologie de la reproduction. Pour faire un document plus complet, nous abordons brièvement les aspects physiopathologique et thérapeutique liés à la kisspeptine.

Chapitre I :
Généralités sur l'axe gonadotrope

L'axe gonadotrope ou l'axe hypothalamo-antéhypophysio-gonadique (AHAHG) est un ensemble de trois structures anatomiquement et physiologiquement liées : l'hypothalamus, l'hypophyse antérieure ou hypophyse et les organes génitaux, intervenant dans le contrôle de la reproduction chez les mammifères. L'AHAHG est sous l'influence de facteurs internes, contenus dans le milieu intérieur, et externes, comme la photopériode et les perturbateurs endocriniens.

Les données neuroanatomiques et physiologiques ont permis d'illustrer la fonction principale de ce système, notamment celle de réguler l'activité des neurones à GnRH et leur mode de sécrétion. Dans cette régulation interviennent de nombreuses molécules, parmi lesquelles des neurotransmetteurs, les kisspeptines.

1. Données anatomo-structurales de l'axe hypothalamo-antéhypophysio-gonadique

1.1. Hypothalamus

L'hypothalamus est une région complexe du système nerveux central (SNC). Il est situé sous le thalamus à la base du cerveau, dans le plancher du troisième ventricule. L'hypothalamus est composé de groupes de neurones formant la partie la plus ventrale du diencephale. Il est divisé en trois niveaux latéraux (médian, intermédiaire et latéral) et cinq niveaux caudo-rostral (mamillaire, postérieur, intermédiaire, antérieur et pré-optique).

L'hypothalamus régule de nombreuses fonctions physiologiques de l'organisme, incluant la fonction de reproductions. L'hypothalamus a beaucoup d'interconnexions avec les structures du cerveau antérieur, limbique et du tronc cérébral. De plus, l'hypothalamus est relié à l'hypophyse, autre glande du cerveau, grâce à la tige pituitaire pour former l'axe hypothalamo-hypophysaire (**Figure 1**).

1.2. Hypophyse

L'hypophyse ou glande hypophysaire, ou encore glande pituitaire, est une petite glande endocrine de 5 mm de haut sur 15 mm de large et 10 mm d'épaisseur. Elle pèse 0.60g. Elle est contenue dans une loge osseuse appelée selle turcique creusée dans l'os sphénoïde. Sa vascularisation est assurée par deux systèmes : Le système artériel hypophysaire et le système porte hypothalamo-hypophysaire.

Elle est composée de trois lobes : le lobe antérieur (ou adénohypophyse) dérivant de l'endoderme de la voute pharyngienne qui forme une évagination dénommée poche de Rathke, le lobe postérieur (ou neurohypophyse), nettement plus petit, dérivant du neurectoderme (**Figure 1**) et enfin un petit lobe intermédiaire localisé entre les deux

précédents lobes (antérieur et postérieur), il n'est autre qu'une subdivision du lobe antérieur (Heffner, 2003).

L'hypophyse est relié au cerveau par un mince tronc tissulaire dénommé tige pituitaire ou infundibulum.

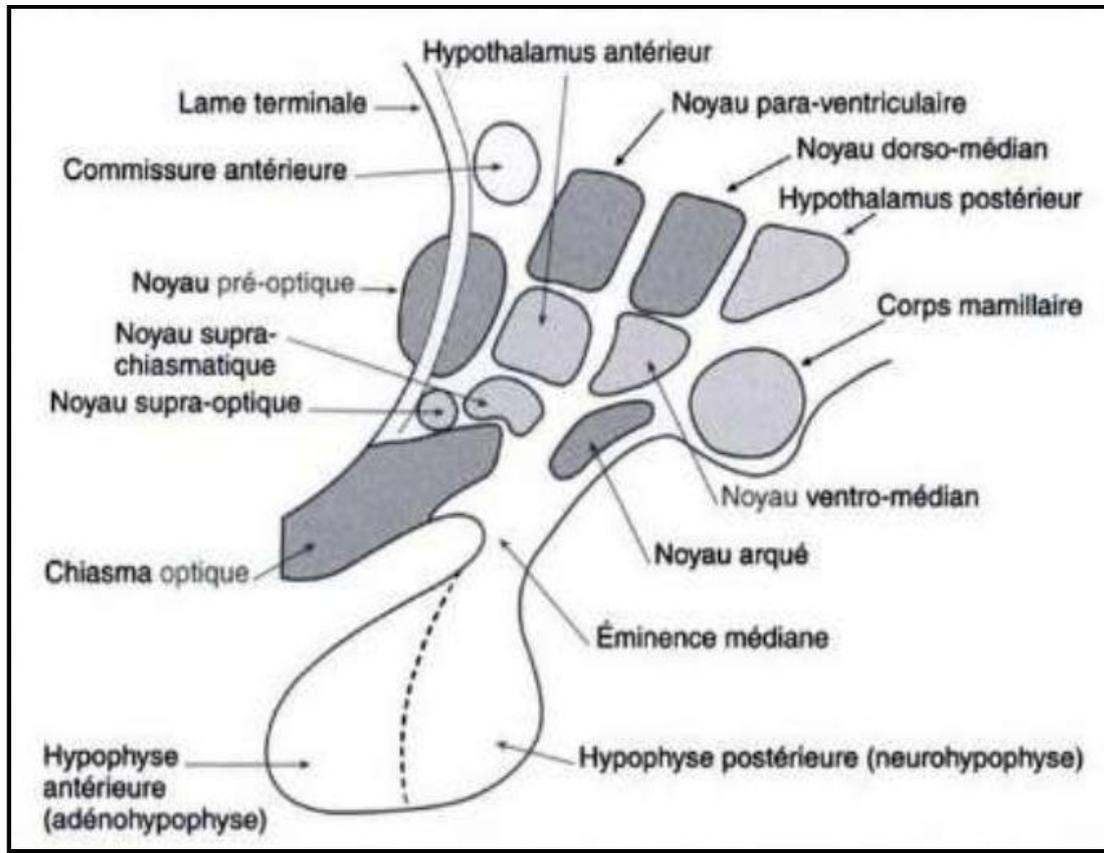


Figure 1 : Représentation schématique dans le plan sagittal des composants de l'axe hypothalamo-hypophysaire (Pritchard *et al.*, 2002).

1.3. Gonades

1.3.1. Les testicules

Les testicules sont une paire d'organes ovales légèrement aplatis qui mesurent environ 4cm de longueur et 2.5cm de diamètre, assurant une double fonction : endocrine via la production d'androgènes et exocrine par la production de spermatozoïdes.

Les testicules, ainsi que leurs prolongements, les épидидymes, sont contenus dans un sac extra-abdominal, le scrotum, situé dans la base du pénis. La paroi de la cavité où se trouvent le testicule et l'épididyme est appelée tunique vaginale (Heffner, 2003).

Chaque testicule est suspendu dans le scrotum par le cordon spermatique qui contient le canal défèrent, des vaisseaux sanguins et lymphatiques et des fibres nerveuses ortho et parasympathiques (Nguyen et Ferry, 2007).

Le testicule est entouré d'une enveloppe conjonctive fibreuse épaisse nommée albuginée. Dans sa partie supérieure, l'albuginée s'épaissit et s'enfonce à l'intérieur du testicule pour former une structure fibreuse : le corps de Highmore. Ce dernier est parcouru par des canaux : le rete testis (des cloisons conjonctives). Les septa testis partent du corps de Highmore, délimitant 200 à 300 lobules testiculaires, chacun contient 2 à 4 tubes ou tubules séminifères (Figure 2).

Des études physiologiques ont démontré qu'une large variété de substances présentes dans la circulation se trouvent exclues du fluide des tubules testiculaires, suggérant ainsi l'existence d'une barrière hémato-testiculaire qui est représentée par des jonctions étanches qui existent entre les cellules de Sertoli mutuellement adjacentes.

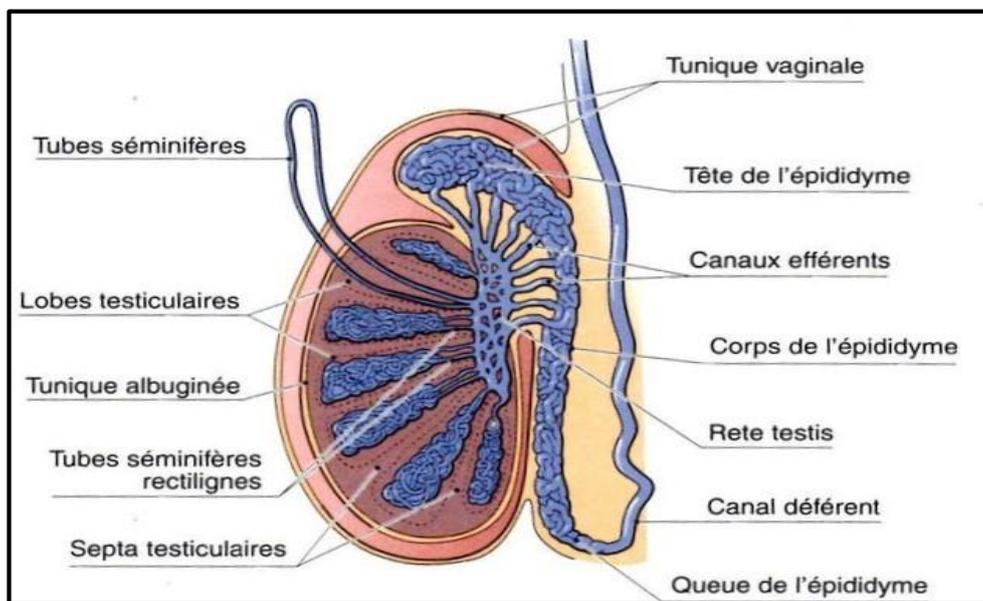


Figure 2 : coupe d'un testicule humain montrant sa structure générale (Johnson et Everitt, 2002).

1.3.2. Les ovaires

Les ovaires ou gonades féminines sont 2 glandes paires et symétriques de forme ovoïde, assurant une double fonction : endocrine par la production d'hormones sexuelles et exocrine : par la production des ovules.

Les deux ovaires droit et gauche, sont placés dans la cavité pelvienne dans une fossette latéro-utérine en arrière du ligament large contre la paroi latérale du pelvis, ils sont extra-péritonéaux (**Figure 3**).

À la période d'activité génitale, l'ovaire atteint ses dimensions maximales : longueur : 3,5cm, largeur : 2cm, épaisseur : 1cm et poids : 8 à 10 gr.

Chaque ovaire présente deux faces : latérale et médiale, ainsi que deux extrémités : tubaire (supérieure) et utérine (inférieure).

De couleur blanc nacré, il est parcouru par des sillons correspondant aux cicatrices consécutives à la rupture des follicules ovariens, de plus en surface apparaissent les saillies des follicules ovariens en évolution.

Après la ménopause, l'ovaire involue, diminue de volume et sa surface devient lisse.

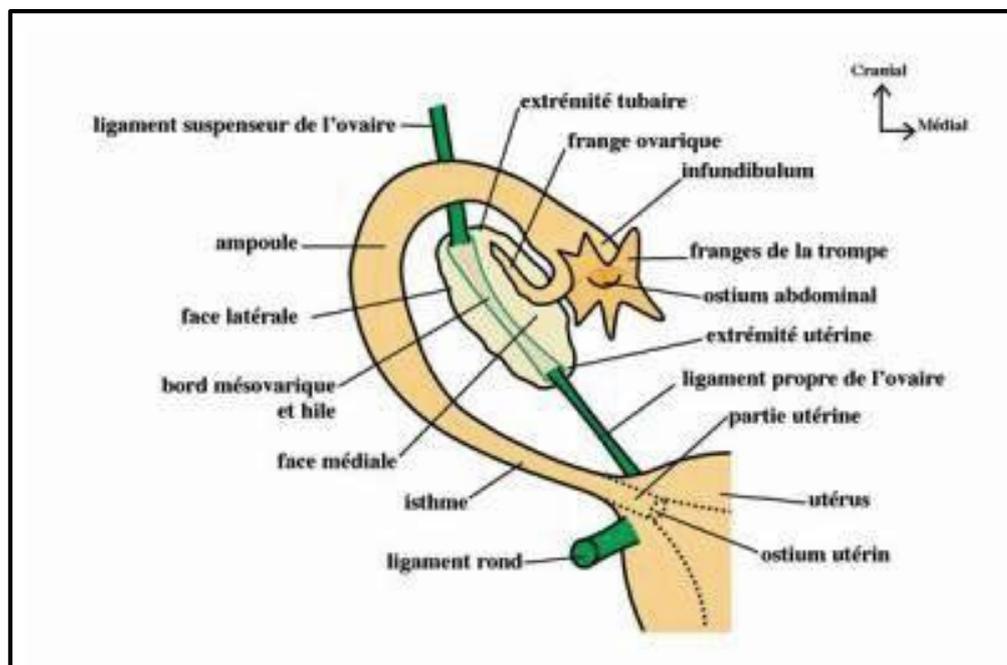


Figure 3 : vue ventrale de l'ovaire et de la trompe.

2. Données histologiques de l'axe hypothalamo-antéhypophyso-gonadique

2.1. Région hypothalamique

L'hypothalamus, région ventrale du diencephale, renferme des amas de neurones spécialisés, regroupés en noyaux hypothalamiques, élaborant des hormones. Ces cellules neurosécrétrices libèrent leurs contenus en hormones soit par les terminaisons axonales dans les espaces péricapillaires de la neurohypophyse et passent ensuite dans le sang, soit le système porte de l'antéhypophyse.

Selon la taille des cellules nerveuses, on distingue les noyaux hypothalamiques, à grandes cellules magnocellulaires, qui sont les noyaux supraoptiques et paraventriculaires, et les autres noyaux à petites cellules parvocellulaires, qui sont le noyau supra-chiasmatique (NSC), le noyau hypothalamo-ventro-médian (NHVM), le noyau hypothalamo-dorso-médian (NHDM), le noyau infundibulaire (arqué), le noyau mamillaire et le noyau hypothalamique postérieur (**Figure 4**).

Les axones des noyaux magnocellulaires traversent l'éminence médiane du tuber cinereum en donnant très peu de terminaisons, forment l'essentiel de la tige hypophysaire et se terminent dans le lobe postérieur de l'hypophyse ou la neurohypophyse. Ils sécrètent l'ocytocine et la vasopressine (**Dadoune, 1990**).

Les noyaux parvocellulaires sont multiples et dispersés, leur systématisation variant selon les espèces (**Figure 4**). Leur fonction étant de contrôler l'activité de l'adénohypophyse, l'ensemble de la région hypothalamique qui les contient est appelée aire hypophysiotrope. Certains noyaux élaborent des neurotransmetteurs classiques du système nerveux central, comme la dopamine. La plupart synthétisent des neurohormones peptidiques. Ce sont des hormones stimulant ou inhibant spécifiquement la sécrétion de chaque hormone adénohypophysaire. Les hormones stimulantes sont appelées Releasing Factors ou Releasing Hormones (RH, RH), ou les inhibitrices sont les Inhibiting factors (IF), ou statines (**Dadoune, 1990**).

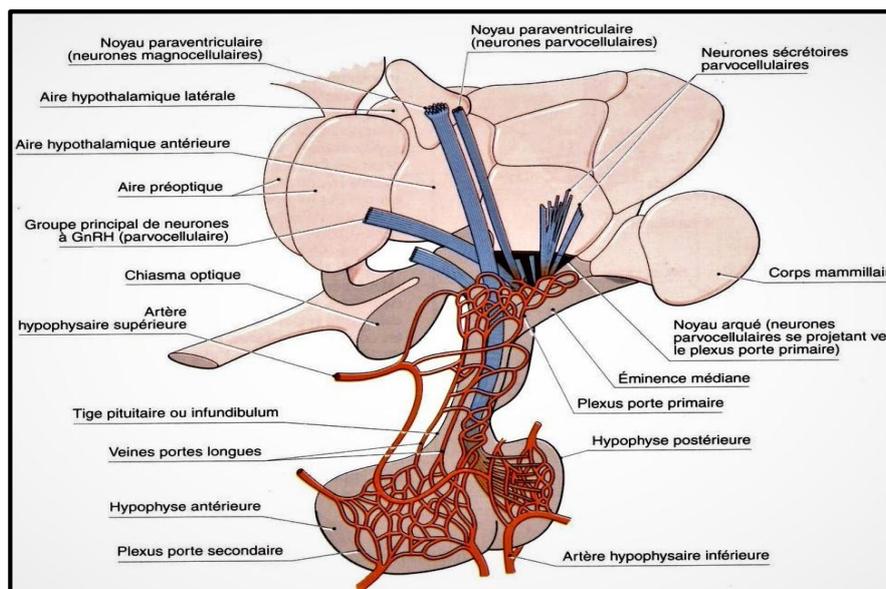


Figure 4 : Vue schématique de l'axe hypothalamo-hypophysaire montrant les noyaux à neurones parvocellulaires (Johnson et Everitt, 2002).

2.2. L'antéhypophyse

Elle est une glande endocrine de type trabéculaire avec cellules endocrines en cordons entourés d'un riche réseau capillaire. Cette glande comprend deux principaux types de cellules sécrétoires : les cellules acidophiles qui sécrètent l'hormone de croissance (GH) et la prolactine et les cellules basophiles qui sécrètent des hormones destinées à stimuler la sécrétion d'autres glandes endocrines de l'organisme, d'où leur nom de stimulines (**Seguy, 1996**).

L'antéhypophyse comporte trois parties : le lobe antérieur, le lobe intermédiaire et le lobe tubéral.

2.2.1. Le lobe antérieur

C'est une glande endocrine de structure trabéculaire, formée de cordons cellulaires tortueux et anastomosés qui forment par endroits des amas arrondis pseudo-acineux. Une basale continue engaine les cordons et les amas de cellules glandulaires et les sépare du tissu conjonctif. Celui-ci est peu abondant et contient de nombreux capillaires fenestrés. Les cellules glandulaires actives sont en périphérie des cordons, près de stroma conjonctif et des vaisseaux, alors que le centre des cordons est occupé par les cellules folliculo-stellaires (**Figure 5**).

Le parenchyme hypophysaire comporte cinq types cellulaires glandulaires principaux. Il existe en outre des cellules plurihormonales (hormonogènes), sécrétant simultanément plusieurs hormones, qui sont les cellules somatotropes, mammotropes, cortico-mélanotropes, thyrotropes et gonadotropes et des cellules non sécrétrices d'hormones, les cellules folliculo-stellaires (**Figure 5**).

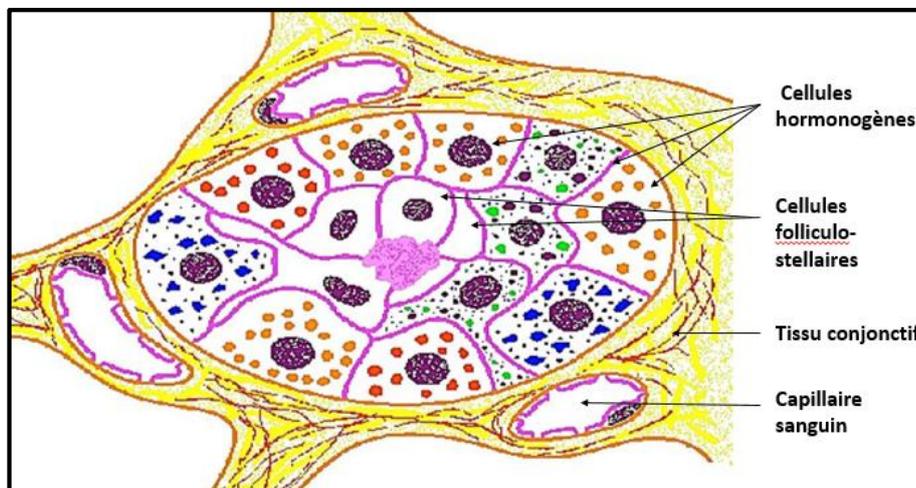


Figure 5 : Structure histologique d'un cordon cellulaire au niveau du lobe antérieur de l'hypophyse.

2.2.2. Le lobe intermédiaire

Dans l'espèce humaine le lobe intermédiaire, issu de la partie postérieure de la poche de Rathke, perd progressivement son individualité au cours de l'enfance. Les cellules qui en dérivent se dispersent vers les lobes antérieur et postérieur. Ce sont des cellules à pro-opiomélanocortine (POMC) qui sont pauvres en ACTH (adrénocorticotrophine) et surtout riches en α -MSH, hormone mélanostimulante. Le lobe intermédiaire est particulièrement riche en fibres dopaminergiques.

2.2.3. Le lobe tubéral

Expansion du lobe antérieur, le lobe tubéral contient les mêmes types cellulaires que lui. Dans certaines espèces, il est particulièrement riche en cellules gonadotropes (**Dadoue, 1990**).

2.3. Les Gonades

2.3.1. Les testicules

Les testicules exécutent deux fonctions distinctes : la spermatogenèse et la production d'androgènes. La spermatogenèse a lieu au sein de structures définies, appelées tubules séminifères, lesquels se trouvent enroulés dans des lobules dont les conduits excrétoires sortent tous des testicules pour s'aboucher à la tête de l'épididyme par l'intermédiaire du rete testis et des canaux dits efférents. Les cellules responsables de la spermatogenèse forment des tubules entourés par une membrane basale. L'épithélium bordant les tubules et contenant les spermatozoïdes en formation est dénommé épithélium séminifère (**Heffner, 2003**).

Dans une coupe transversale de testicule, les spermatocytes d'un même tubule se trouvent à divers stades de maturation qui sont, allant de la périphérie à la lumière du tubule, spermatogonies, spermatocytes I, spermatocytes II, spermatides et spermatozoïdes (**Heffner, 2003 ; Figure 6**).

D'autre part, mêlées aux spermatocytes, les cellules de Sertoli sont les seules cellules non germinales de l'épithélium séminifère. Ces cellules dénommées nourricières, sont toutes en contact avec la membrane basale du tubule à l'une de leurs extrémités et entourent les cellules spermatiques au niveau du pôle opposé (**Heffner, 2003**).

L'autre fonction des testicules, à savoir la production d'androgènes, s'effectue au sein d'îlots de cellules spécialisées localisées dans les espaces inter-lobulaires qui sont les cellules de Leydig. Ces dernières sont de grands éléments clairs d'aspect spongieux (**Heffner, 2003**).

cellules, abritant les follicules ovariens et la médullaire, une zone conjonctivo-vasculaire, en continuité avec le hile de l'organe.

La folliculogénèse ovarienne prend place dans le stroma cortical malléable car très cellulaire (**Figure 7**). Elle décrit le développement des follicules primordiaux (25 à 50 µm) qui entourent, chacun, un ovocyte I jusqu'au stade de follicules mûrs (follicule de De Graaf) qui vont libérer l'ovocyte II. Après l'ovulation, la paroi folliculaire se transforme en corps jaune dont les sécrétions sont essentiellement des hormones progestiniques.

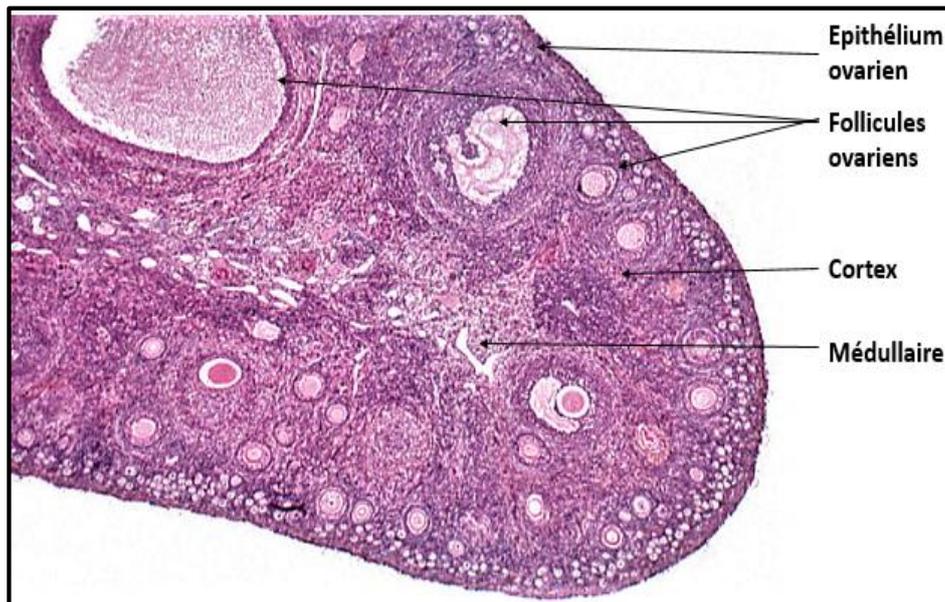


Figure 7 : Coupe histologique d'un ovaire adulte humain

3. Régulation endocrine de l'axe hypothalamo-antéhypophyso-gonadique

3.1. Les hormones hypothalamiques

Diverses neuro-hormones sont synthétisées dans les neurones hypothalamiques du système neuro-sécrétoire dit parvocellulaire (**Figure 4**). Les neurohormones hypothalamiques sont libérées par les terminaisons axonales au niveau du plexus porte primaire de manière à atteindre et contrôler les différents types de cellules sécrétrices, notamment, les cellules gonadotropes et réguler la synthèse et la libération des hormones FSH et LH.

La synthèse et la sécrétion de FSH et LH dépendent d'une même hormone libératrice, le décapeptide GnRH. Les techniques de l'immunocytochimie ont permis de localiser la GnRH elle-même, son ARN messager et son précurseur peptidique dans un groupe principale de neurones qui se répartissent de façon continue sur le noyau septal médio-caudal, le noyau périventriculaire, préoptique médian et les aires hypothalamiques adjacentes.

Les terminaisons nerveuses véhiculant la GnRH sont particulièrement abondantes au près du réseau capillaire porte de la zone palissadique latérale de l'éminence médiane (**Figure 8**), qui constitue le site primaire de la neurosécrétion du GnRH dans les vaisseaux portes (**Johnson et Everitt, 2002**).

Des dosages concomitants de GnRH dans le système porte hypophysaire et des gonadotrophines au niveau périphérique ont bien établie la relation qui lie ces deux sécrétions. Toutes deux s'effectuent parallèlement de façon pulsatile, un « pulse » étant mesurable à chaque heure environ d'où le nom du pulse circhoraire (**Figure 9**).

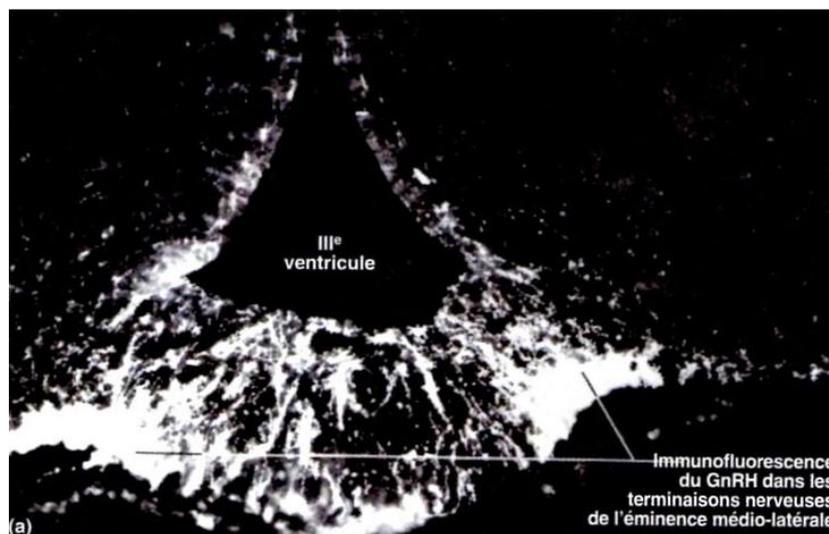


Figure 8 : la GnRH détectée par immunofluorescence dans l'éminence médiane (Johnson et Everitt, 2002).

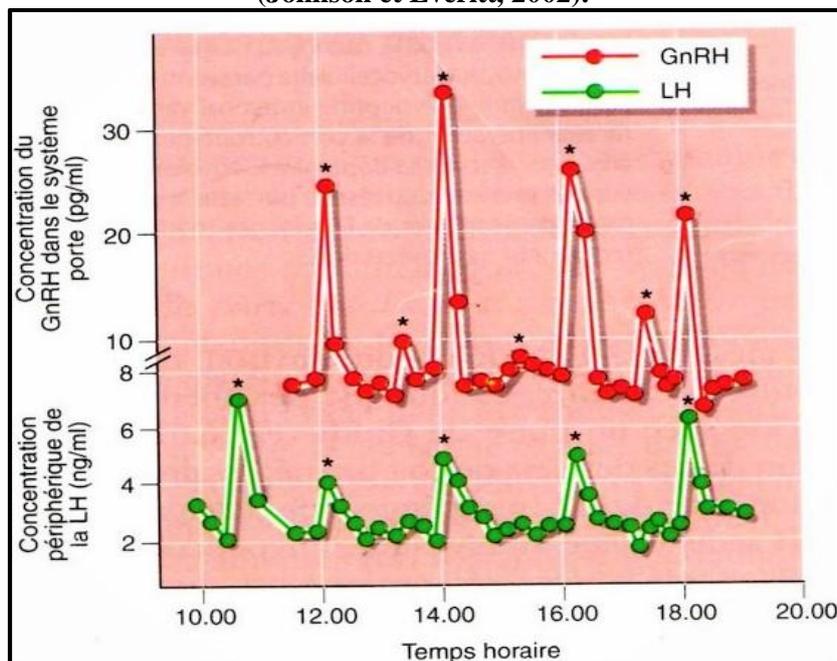


Figure 9 : Synchronisation de la sécrétion pulsatile de GnRH et LH (Johnson et Everitt, 2002).

3.2. Les hormones adénohypophysaires

L'adénohypophyse élabore deux types de molécules, d'où on distingue deux types de cellules :

> Des cellules PSA +, correspondant à des cellules élaborant des grains de sécrétion de nature glycoprotéiques.

> Des cellules PSA-, correspondant à des cellules élaborant des grains de sécrétion polypeptidiques ou protéiques purs.

Cette distinction est fructueuse dans la mesure où l'on sait que l'adénohypophyse sécrète deux types d'hormones : des hormones glycoprotéiques (FSH, LH, TSH). et des hormones polypeptidiques (ACTH, MSH) et protéiques pures (GH, PRL), (**Figure 10 ; Poirier et al., 1976**).

La LH et la FSH sont sécrétées par les cellules gonadotropes, d'un poids moléculaire proche de 30.000 daltons, qui stimulent les fonctions endocrines et exocrines de l'appareil génital dans les deux sexes (**Johnson et Everitt, 2002**).

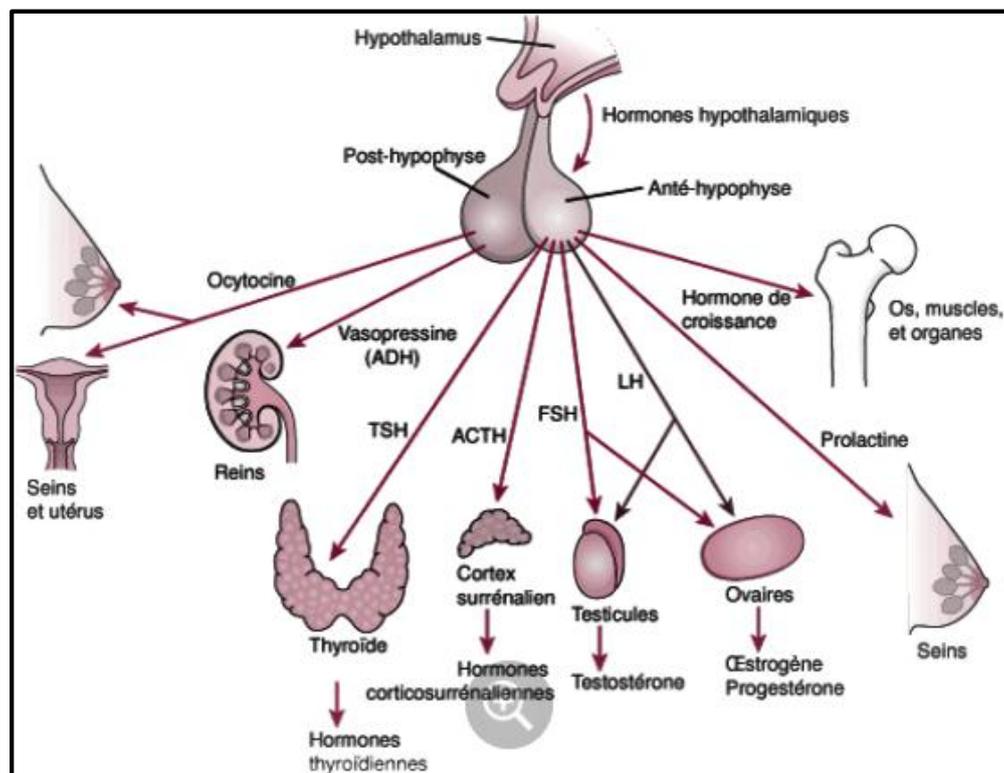


Figure 10 : Les sécrétions neurohypophysaire et adénohypophysaires et leurs tissus cibles.

3.3. Les hormones gonadiques

3.3.1. Celles du testicule

Les androgènes sécrétés par les cellules de Leydig, sont les plus importantes de ces hormones, bien que des œstrogènes, l'inhibine, l'activine et le relaxin-like factor (RLF) soient également sécrétés par les testicules (Johnson et Everitt, 2002).

3.3.1.1. Les androgènes

Les androgènes constituent une classe de stéroïdes, dotés de caractéristiques structurales et fonctionnelles distinctes. L'androgène testiculaire principal est la testostérone, celle-ci est synthétisée à partir de l'acétate et du cholestérol (Figure 11) par les cellules de Leydig du tissu interstitiel sous l'effet de la LH (Saez et al., 1995).

Les cellules de Leydig isolées en culture produisent bien de la testostérone due à la présence de l'enzyme 3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase. La testostérone passe par parties non équivalentes vers les trois compartiments : le sang, la lymphe et traverse la barrière testiculaire pour pénétrer dans les tubules séminifères où elle est presque totalement convertie en androgène plus actif, la dihydrotestostérone, sous l'action de la 5 α réductase des cellules de Sertoli ou bien en œstrogènes qui seront de plus en plus dérivés des cellules de Leydig dans le testicule adulte.

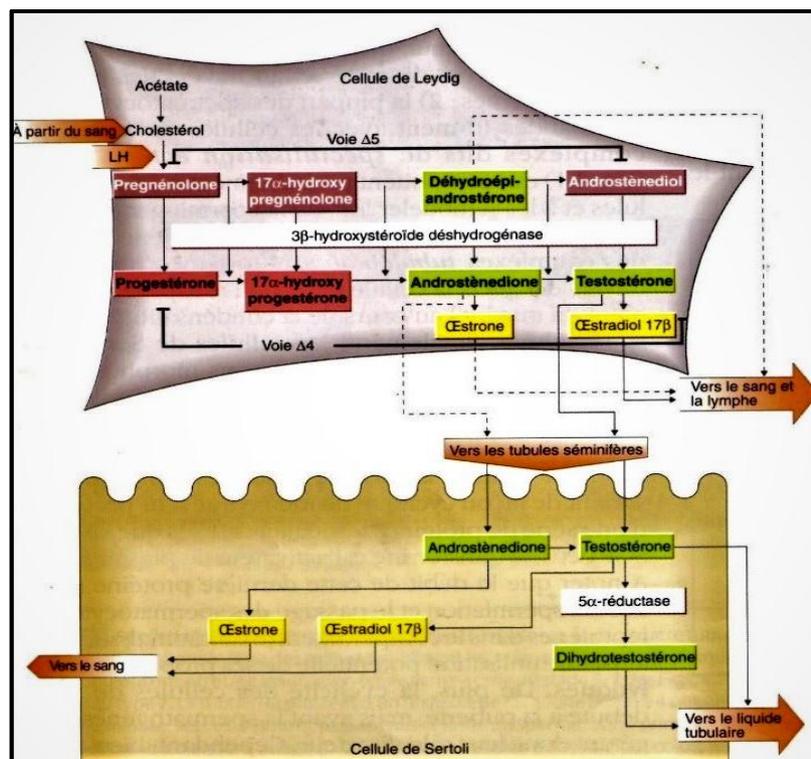


Figure 11 : Schéma résumant la voie de la stéroïdogénèse dans le testicule humain (Johnson et Everitt, 2002).

3.3.1.2. Les inhibines et activines

Ce sont des facteurs de croissance produits tout deux par les cellules de Sertoli, et quittent le testicule par la voie lymphatique dans une proportion de 25% ; la plus grande partie du reste passe dans le liquide des tubules séminifères d'où ils sont réabsorbés lors du passage dans l'épididyme (**Johnson et Everitt, 2002**). Dans la circulation systémique, ces peptides se lient à des cellules cibles, localisées dans l'hypophyse et fonctionnent dès lors comme des hormones endocrines. Cependant, ils exercent également des rôles autocrines et paracrines intra-testiculaires. Le relaxin-like factor (RLF) est un produit peptidique très abondant des cellules de Leydig dont le rôle est peu précis, mais lorsque son gène fait l'objet d'une délétion, la spermatogénèse est perturbée.

3.3.2. Les ovaires

L'activité endocrine de l'ovaire n'est pas indispensable au développement du phénotype femelle pendant la vie fœtale et néonatale, néanmoins, l'activité endocrinienne chez l'ovaire adulte se manifeste pour la première fois lors de la pleine maturation sexuelle de la puberté, par deux sécrétions stéroïdiennes principales : les œstrogènes et progestérone qui sont sécrétés de manière périodique et cyclique, la période précédant l'ovulation est caractérisée par une dominance œstrogénique tandis que la période post-ovulatoire est sous dominance progestative.

3.3.2.1. Les œstrogènes

Les principaux œstrogènes sont la 17 β -œstradiol et l'œstrone, produits par les follicules antraux sous l'action de la FSH, qui sont également responsables de quelque sécrétion des androgènes circulants entre 30-70% (**Johnson et Everitt, 2002**), à savoir principalement androstènedione et la testostérone.

Cultivées séparément *in vitro*, les cellules thécales s'avèrent capables de synthétiser des androgènes à partir d'acétate et de cholestérol (**Figure 12**), tandis que les cellules de la granulosa le sont incapables et produisent par contre les œstrogènes selon deux voies. La première procède par une collaboration cellulaire dans laquelle les androgènes produits par les cellules de la thèque sont aromatisés au niveau des cellules de la granulosa et la deuxième voie est celle d'une synthèse *de novo* à partir d'acétate au niveau de la thèque.

Les stéroïdes ne sont pas les seuls agents paracrines agissant dans le follicule, on retrouve aussi l'activine qui supprime la production d'androgènes de la thèque mais stimule la capacité d'aromatisation de la granulosa, alors que l'inhibine stimule la synthèse des androgènes tout en inhibant leur aromatisation.

Chapitre II :
Généralités sur les kisspeptines

En 1996, l'équipe de Lee et ses collaborateurs, en effectuant des recherches sur les molécules responsables de l'effet anti-métastatique du chromosome 6 humain sur les mélanomes malins, ils ont identifié et cloné un nouveau gène localisé sur le chromosome 1, dont l'expression réduit de manière significative le nombre de métastases et dont la suppression est positivement corrélée au potentiel métastatique des mélanomes. Un an plus tard, la même équipe confirme ces résultats et précise le fait que ce nouveau gène affecte le pouvoir métastatique sans modifier la tumorigénicité des cellules. Ce gène est alors nommé KISS1 en hommage aux « Hershey's kisses », célèbres sucreries produites par la chocolaterie de la ville d'Hershey en Pennsylvanie, où se situe le laboratoire de l'équipe de recherche. Ce gène KISS1 est un gène qui code pour un neuropeptide hypothalamique qui est la kisspeptine.

1. Neuroanatomie du système des kisspeptines

L'expression des kisspeptines a été démontrée pour la première fois dans le placenta, puis observée dans les testicules, les ovaires, le pancréas et l'intestin grêle.

Des études se basant sur l'immunohistochimie et l'hybridation *in situ* ont permis de localiser les kisspeptines et leurs récepteurs au niveau central. Chez les mammifères, deux populations principales de neurones ont été identifiées, l'une dans le noyau arqué (ARC) et l'autre, dans l'aire préoptique (AP). La localisation précise de cette seconde population varie selon l'espèce. Chez les primates et la brebis, les neurones à Kisspeptine de l'AP sont parsemés et ne longent pas le ventricule (**Lehman et al. 2010**). La population de neurones à Kisspeptine de l'AP montre un dimorphisme sexuel prononcé chez toutes les espèces de mammifères étudiées avec une population beaucoup plus importante chez la femelle que chez le mâle. Chez les rongeurs, les neurones à Kisspeptine sont distribués dans le noyau antéroventral paraventriculaire (AVPV) et s'étendent caudalement dans le noyau paraventriculaire préoptique en formant un ensemble appelé aire rostrale préoptique du troisième ventricule (RP3V). Dans l'ARC des rongeurs, certains auteurs n'observent pas de différence dans le nombre de cellules entre mâles et femelles (Clarkson & Herbison, 2006 ; Smith et al. 2006 ; Ansel et al., 2010) contrairement à d'autres. Chez les ovins, les neurones à Kisspeptine sont plus abondants chez la brebis que chez le bélier (**Beltramo et Dufourny, 2015**).

Si les populations de l'ARC et de l'AP sont différentes par leur localisation anatomique, elles le sont aussi par leur contenu en neurotransmetteurs. La majorité des neurones à Kp de l'ARC co-expriment deux autres neuropeptides : la neurokinine B (NKB) et la dynorphine

(Dyn). La NKB a un rôle excitateur et la Dyn un rôle inhibiteur sur la libération de la LH (**Beltramo et Dufourny, 2015**).

Une étude menée par Lehman a démontré que l'existence des récepteurs à NKB et Dyn au niveau des neurones à kisspeptines leur permet d'agir localement de façon paracrine sur les neurones de l'ARC pour moduler la libération de la kisspeptine (**Lehman et al. 2010**).

La présence de deux autres neuropeptides a été notée au niveau de l'AP, ce sont la galanine et la metenkephaline (**Porteous et al. 2011**), qui ont un effet sur la fonction gonadotrope.

Par ailleurs, la co-expression d'une enzyme, la tyrosine hydroxylase avec la kisspeptine a été rapportée dans les noyaux à kisspeptine de l'AP et les terminaisons à kisspeptine sur les neurones à GnRH qui sont de nature dopaminergique (**Kauffman et al., 2007 ; Clarkson et Herbison, 2011**).

2. Biochimie des kisspeptines

En 1996, Lee et ses collaborateurs prédisent à l'aide de la séquence de l'ADN complémentaire de Kiss1 que ce gène coderait pour la synthèse d'une protéine de 164 acides aminés (18kDa).

Cinq ans plus tard, deux groupes de recherches ont pu purifier à partir d'extrait de placenta humain le précurseur de 145 acides aminés (Aa) de poids moléculaire de 15,6 kDa ainsi que différentes isoformes de kisspeptines. Parmi ces différentes isoformes purifiées, on compte une isoforme longue de 54 Aa (kp-54), ainsi que plusieurs petites isoformes composées de 14 (kp-14), 13 (kp-13) et 10 (kp-10) acides aminés (**Figure 13 ; Kotani et al., 2001; Muir et al., 2001; Ohtaki et al., 2001**).

Selon les espèces, l'isoforme longue ne possède pas le même nombre d'acides aminés : chez le rat, par exemple, elle est composée de 52 acides aminés (**Figure 13**). Les dix derniers acides aminés sont extrêmement conservés entre espèces (**Figure 14**).

Toutes ces isoformes ont la particularité d'être issues de différents clivages du précurseur sur sa partie N-terminale et d'avoir en commun la partie C-terminale. Cette dernière présente un motif LRF ou LRY qui a la particularité d'être amidé (**Figure 14**). Il existe de nombreux peptides connus pour posséder un motif identique et qui sont amidés sur leur partie C-terminale.

Les peptides kisspeptine sont classés en tant que famille de peptides amide RF, c'est-à-dire des peptides neuroactifs avec motif Arg-Phe-NH₂ caractéristiques. La kisspeptine la plus abondante dans la circulation humaine est la kisspeptine-54 (**Clarke et al., 2015**).

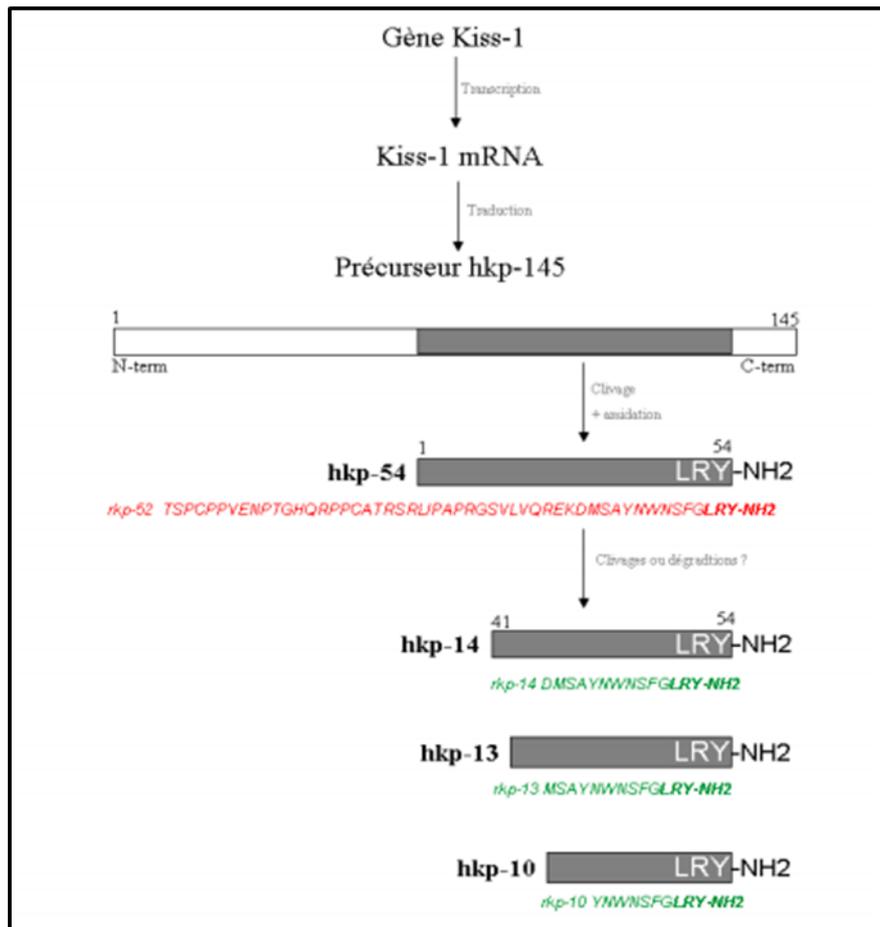


Figure 13 : du gène kiss-1 aux différentes isoformes de kisspeptine (Desrosiers E., 2011).

Une récente étude, in (Opakua et al., 2017) a montré que KISS1 et les kisspeptines qui en sont issues appartiennent à la catégorie des protéines intrinsèquement désordonnées : une partie ou l'ensemble de leur structure n'adopte pas une conformation spatiale définitive et possède une forte flexibilité intramoléculaire. Ainsi, KISS1 et KP-54 ne possèdent pas de conformation préférentielle mais existent plutôt sous la forme d'une pelote aléatoire, ce qui faciliterait les modifications post-traductionnelles ainsi que l'adaptation du ligand pour interagir avec son récepteur. KP-10 présente cependant une structure en hélice, entre les résidus asparagine et tyrosine en position quatre et dix, qui est essentielle pour l'affinité du décapeptide avec son récepteur (Gutiérrez-Pascual et al., 2009 ; Boullenger, 2017).

<u>Kp-10 issus du gène Kiss-1:</u>	
Humain	Y N W N S F G L R F
Primates	Y N W N S F G L R F
Bovin/Cochon	Y N W N S F G L R Y
Equin	Y R W N S F G L R Y
Ovin	Y N W N S F G L R Y
Rongeurs	Y N W N S F G L R Y
Opossum	Y N W N S F G L R Y
Grenouille	Y N W N S F G L R Y
Poissons	Y L W N S F G L R Y
<u>Kp-10 issus du gène Kiss-2:</u>	
Grenouille	F N F N P F G L R F
Medaka	F N Y N P F G L R F
Poisson zèbre	F N Y N P F G L R F
Bar de mer	F N F N P F G L R F

Figure 14 : la kisspeptine-10, une molécule très conservée au cours de l'évolution (Desrosiers E., 2011).

En vert, séquence commune aux RF-amides ; en rouge, acides aminés qui diffèrent d'une espèce à l'autre.

3. Récepteurs et voies de signalisation des kisspeptines

3.1. Récepteur KISS1R

Le récepteur des kisspeptines, KISS1R, a été découvert 4 ans plus tard que la kisspeptine par l'équipe de Lee et al., par un clonage du gène d'un récepteur qui code une séquence de 396 Aa organisés en sept domaines transmembranaires et était à l'origine connu sous le nom de GPR54.

Ce gène localisé sur le bras long du chromosome 19 (19q13.3) chez l'homme (Lee et al., 1999), est un membre de la famille des récepteurs couplés aux protéines G et est structurellement similaire au récepteur de la galanine (37 % à 45 % d'homologie) (Clarke et al., 2015).

Les chercheurs ont pu établir la première cartographie par hybridation in situ (HIS) des régions cérébrales chez le rat où l'ARN messager du récepteur est retrouvé (Lee et al., 1999). Les auteurs montrent ainsi que le GPR54, KISS1R, est exprimé dans de nombreuses régions du cerveau de rat mais que la plus haute expression est localisée dans différents noyaux de l'hypothalamus (Desrosiers, 2011).

D'autres études ont montré que chez l'homme et le rat, le KISS1R s'exprime dans différents organes périphériques, tels que l'hypophyse, les lymphocytes, le tissu adipeux, le

pancréas, le placenta, la moelle épinière, le thymus, l'intestin grêle, le testicule, l'ovaire, la rate, le foie et l'estomac (Clements *et al.*, 2001; Kotani *et al.*, 2001; Muir *et al.*, 2001; Ohtaki *et al.*, 2001; Gaytan *et al.*, 2009; Richard *et al.*, 2009). Ces équipes de recherche ont étudié également l'activité biologique du récepteur et ont trouvé que les différentes isoformes de kp, produits du gène Kiss1, découverts cinq ans plus tôt, activent avec la même affinité le récepteur KISS1R. De plus, ils ont montré que la propriété nécessaire de ces ligands pour activer ce récepteur est l'amidation. En effet, les isoformes de kp privées de leur partie C-terminale amidée n'activent pas le récepteur (Kotani *et al.*, 2001; Muir *et al.*, 2001; Ohtaki *et al.*, 2001).

3.2. Les voies de signalisation

La fixation de la kisspeptine sur son récepteur KISS1R déclenche des cascades d'évènements intracellulaires jusqu'à l'induction de l'effet biologique dans le tissu cible.

Le signal est activé lors de la fixation de la kisspeptine sur son récepteur couplé à la protéine G (Gαq/11), cette dernière active la phospholipase C (PLC) qui hydrolyse le phosphatidyl-inositol-diphosphate (PIP2) en deux molécules : l'inositol- triphosphate (IP3) et le diacylglycérol (DAG). L'accumulation intracellulaire de l'IP3 démontrée pour le GPR54 humain et murin provoque la mobilisation du Ca²⁺ provenant des réserves intracellulaires.

De plus, le diacyl glycérol (DAG), active une protéine kinase C (PKC) qui, à son tour, provoque la phosphorylation des mitogen activated protein kinases (MAPK), telles que ERK1 / 2 et p38, également impliqués dans cette cascade de signalisation (Figure 15). Par ailleurs, l'activation du KISS1R fait appel à deux autres molécules qui sont : l'arrestine β1 et l'arrestine β2. Ces deux molécules agissent sur ERK1/2 d'une manière opposée (Figure 15). Cependant, l'arrestine β1 fait diminuer la phosphorylation d'ERK1/2, alors que l'arrestine β2 la fait augmenter (Pinilla *et al.*, 2012).

D'un point de vue physiologique, il convient de noter que les études utilisant des explants hypothalamiques et des neurones GnRH isolés ont pleinement confirmé l'importance de la voie PLC-Ca²⁺ ci-dessus dans la médiation des effets biologiques des kisspeptines dans un contexte cellulaire en termes de contrôle de la fonction reproductrice.

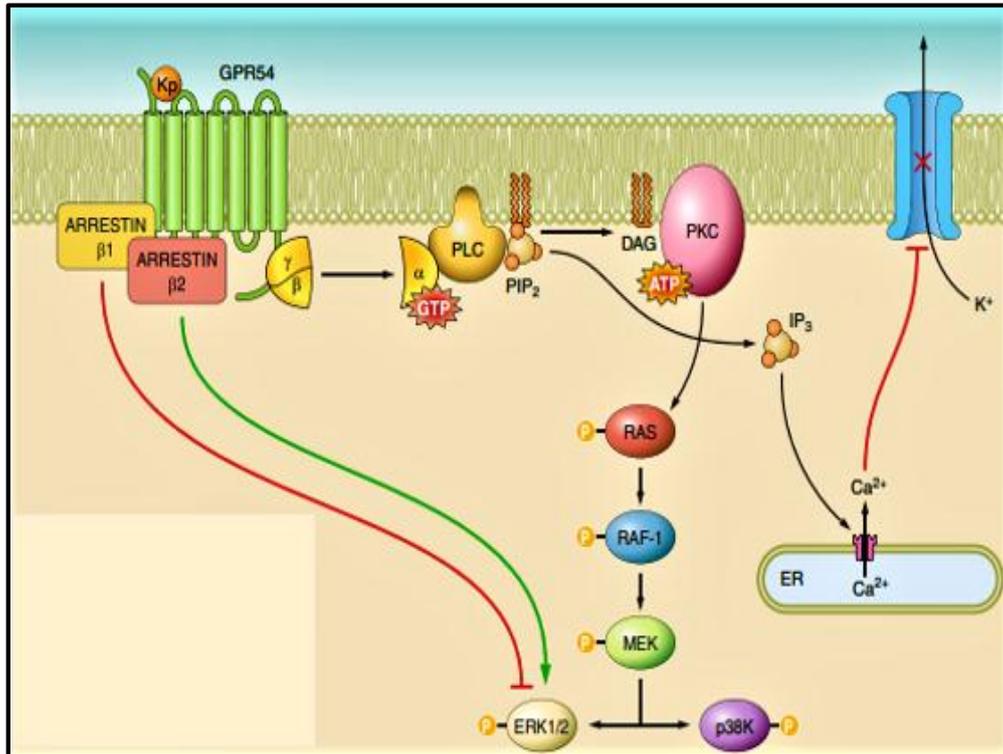


Figure 15 : Présentation schématique des principales voies de signalisation recrutées lors de l'activation du GPR54 par les kisspeptines (Pinilla et al., 2012).

4. Organisation et intégration du réseau neuronal des kisspeptines

Plusieurs études ont montré que les kisspeptines et leurs récepteurs sont exprimés dans une très grande variété de tissus de l'organisme, débutant par le système nerveux central jusqu'aux organes périphériques, tels que les testicules, les ovaires, la prostate, le placenta, le foie, l'intestin grêle, le pancréas, le cœur, les poumons et les reins (Lee et al., 1996 ; Kotani et al., 2001 ; Muir et al., 2001 ; Ohtaki et al., 2001).

Au sein du système nerveux central, la distribution des neurones synthétisant les kisspeptines est très précise et varie selon les espèces.

Chez les rongeurs, la majorité des corps cellulaires des neurones à kisspeptines sont localisés dans deux régions de l'hypothalamus : la région périventriculaire rostrale du troisième ventricule (RP3V) qui contient le noyau antéroventral périventriculaire (AVPV) et l'aire préoptique (APO), et dans le noyau arqué (ARC). En outre, les scientifiques ont localisé la présence d'une population beaucoup moins dense de neurones à kisspeptines dans le noyau dorsomédian et l'hypothalamus postérieur (Clarkson et al., 2009), une autre population existerait aussi dans l'amygdale médiale et le noyau de la strie terminale (BNST) (Gottsch et al., 2004). Les fibres neuronales ayant pour origine l'ARC se dirigent vers l'hypothalamus

latéral, le noyau prémamillaire ventral (PMV), l'aire tegmentale ventrale, les corps mamillaires et les régions périventriculaires et préoptiques. En revanche celles provenant de la RP3V se projettent sur l'aire préoptique, le septum latéral et l'ARC.

Ils ont noté qu'un dimorphisme sexuel caractérise cette distribution des neurones à kisspeptine. En effet, la RP3V contient environ deux fois plus de neurones à kisspeptines chez les femelles que chez les mâles (**Yeo et al., 2016**). Par contre dans l'ARC, il contient autant de neurones à kisspeptines chez le mâle que chez la femelle, mais environ trois à quatre fois plus de neurones à kisspeptines dans sa partie caudale que dans sa partie rostrale (**Yeo et al., 2016**).

Les récepteurs aux kisspeptines ont été un peu moins étudiés en ce qui concerne leurs localisations. Chez les rongeurs d'expérimentation leur localisation cérébrale est désormais relativement bien connue. Ainsi, l'expression du *Kiss1r* est plus importante dans l'aire préoptique, les bulbes olfactifs, le septum médial, la bande diagonale de Broca, l'organe vasculaire de la lame terminale, le noyau paraventriculaire (PVN), l'ARC, certains noyaux de l'amygdale, la partie caudale du noyau du raphé dorsal et l'olive inférieure. Par contre dans le noyau supraoptique (SON), les noyaux habénulaires, les noyaux pré- et supramamillaires, les colliculi inférieurs et supérieurs et la matière grise périaqueducale leur expression est plus faible (**Lee et al., 1999 ; Herbison et al., 2010 ; Higo et al., 2016**).

Concernant les axones des neurones à kisspeptines se projettent dans plusieurs régions cérébrales notamment la tige pituitaire et l'hypothalamus médian (**Hrabovszky, 2014**).

Par exemple chez les rongeurs, les fibres neuronales sont nombreuses dans l'hypothalamus.

Pour les fibres neuronales originaires de l'ARC se dirigent vers le noyau prémamillaire ventral (PMV), l'hypothalamus latéral, les corps mamillaires et les régions périventriculaires et préoptiques. En revanche les fibres provenant de la RP3V se projettent sur l'aire préoptique, le septum latéral et l'ARC. La présence de fibres neuronales en dehors de la région hypothalamique a été notée, notamment : dans la portion antérieure du thalamus paraventriculaire, la matière grise périaqueducale et dans l'amygdale médiane. Les fibres venant de cette dernière se projettent sur l'aire préoptique et les lobes olfactifs accessoires (**Clarkson et al., 2009 ; Yeo et al., 2016**) (**Figure 16**).

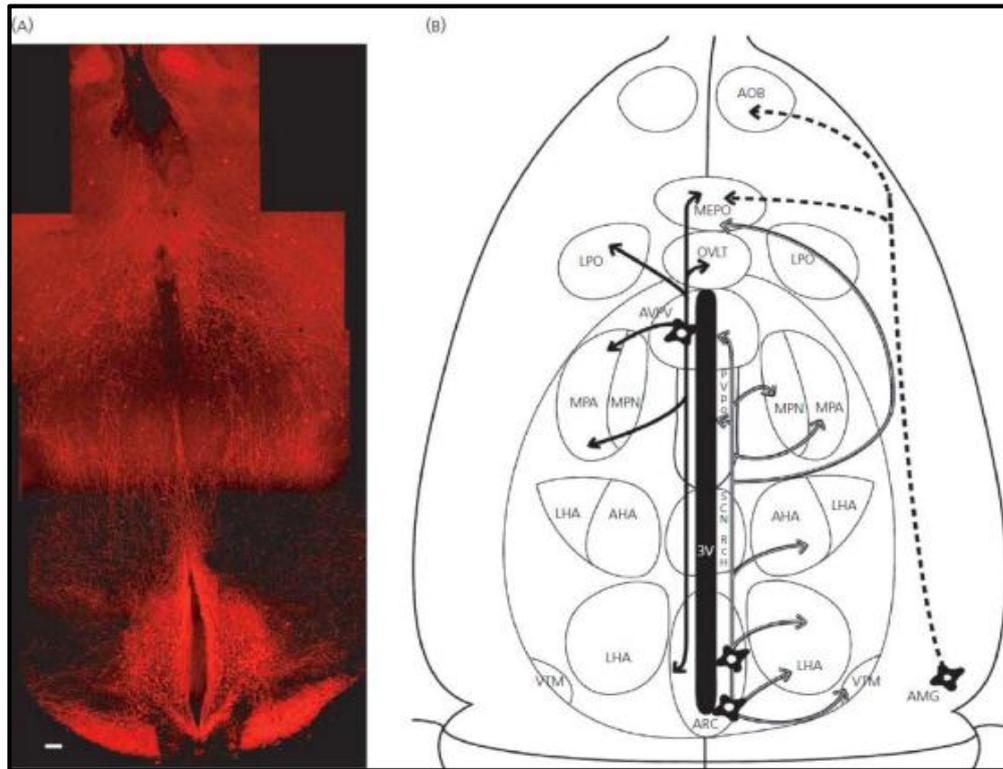


Figure 16 : Distribution et projections des neurones à kisspeptines au sein du cerveau murin femelle (Yeo et al., 2016).

(A) Coupe frontale de l'hypothalamus ventral d'une souris recombinante Kiss1-CRE/tdTomato après immunomarquage pour tdTomato puis lavage au 2,2'-thiodiethanol (barre d'échelle = 200 μ m). (B) Schéma de l'hypothalamus ventral en coupe frontale représentant les projections des neurones à kisspeptines (échelle similaire à A). 3V : 3^eme ventricule, AHA : aire hypothalamique antérieure, AMG : amygdale, AOB : bulbe olfactif accessoire, ARC : noyau arqué, AVPV : noyau antéroventral périventriculaire, LHA : aire hypothalamique latérale, LPO : aire préoptique latérale, MEPO : noyau préoptique médial, MPA : aire préoptique médiale, MPN : noyau préoptique médial, Rch : aire rétrochiasmatique, SCN : aire suprachiasmatique, OVLT : organe vasculaire de la lame terminale, PVpo : noyau préoptique périventriculaire, VTM : noyau tubéromammillaire ventral.

Chez les autres mammifères, la distribution des neurones à kisspeptines et leurs projections sont proportionnellement identiques. Chez les ovins, par exemple, ces neurones se trouvent essentiellement dans l'ARC l'aire préoptique médiale et le noyau dorsomédian, avec des projections dans l'aire préoptique et l'éminence médiane. Cette distribution est marquée par un dimorphisme sexuel concernant les populations de la RP3V et de l'ARC (**Boullenger, 2017**).

Chez l'homme et les primates, les neurones à kisspeptines sont localisés de manière préférentielle dans le noyau infundibulaire (équivalent humain de l'ARC) et dans l'équivalent de la RP3V, avec un dimorphisme sexuel dans l'aire périventriculaire rostrale et l'infundibulum. Ces neurones se projettent notamment sur la tige pituitaire et l'hypothalamus médian (**Hrabovszky, 2014**). De manière intéressante, la localisation des neurones à

kisspeptines coïncide fortement avec celle des neurones à GnRH. En effet, les neurones synthétisant la GnRH sont majoritairement localisés depuis la bande diagonale de Broca jusqu'à l'APO chez les rongeurs, dans l'ARC et l'APO chez les ovins, ainsi que dans le faisceau hypothalamique ventral de l'hypothalamus médiobasal, latéral à l'ARC, chez les primates (**Figure 17 ; Colledge, 2009**).

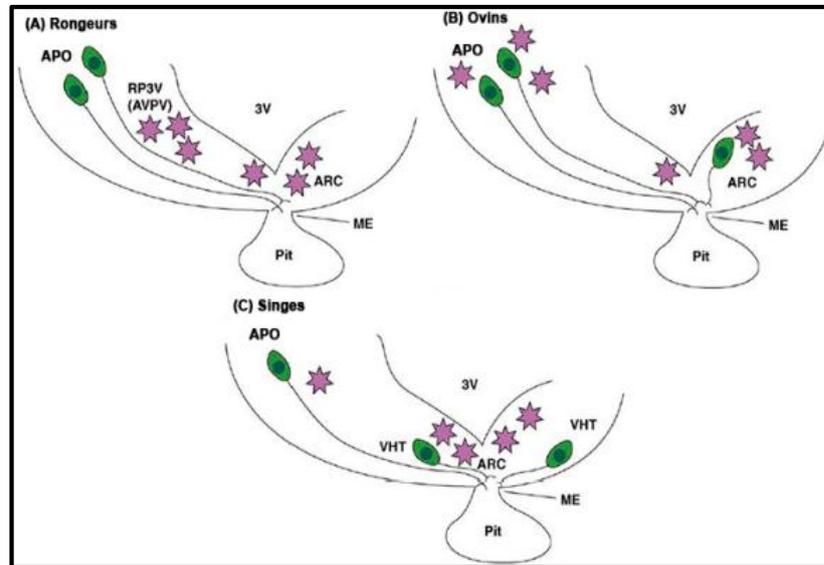


Figure 17 : Localisation et proximité anatomique des neurones à GnRH et à kisspeptines chez les rongeurs (a), les ovins (b) et les singes (c) (Adapté de Colledge, 2009; Boullenger, 2017).

Les neurones à GnRH (en vert) sont majoritairement situés dans l'aire préoptique (APO) et peu présents dans le noyau arqué (ARC) chez les rongeurs, à la fois dans l'APO et l'ARC chez les ovins, dans le faisceau hypothalamique ventral (VHT) latéral à l'ARC et dans l'APO dans une moindre mesure chez les primates. Les neurones à kisspeptines (en violet) sont quant à eux situés dans la RP3V (qui englobe l'APO et l'AVPV) et l'ARC chez les rongeurs et les ovins et essentiellement dans l'ARC chez les primates. 3V : 3ème ventricule, ME : éminence médiane, Pit : hypophyse.

Les neurones à kisspeptines sont essentiellement présents au sein de l'hypothalamus et ils présentent aussi de nombreuses interactions avec les autres types neuronaux. Ainsi, dans toutes les espèces étudiées, la majorité des neurones à GnRH expriment l'ARNm de Kiss1r : 55 % d'après **Messenger et al. (2005)**, 77 % d'après **Irwig et al. (2004)**, 90 % d'après **Han et al. (2005)**.

Plusieurs études montrent que les neurones à kisspeptines ont des contacts étroits avec ceux de GnRH. En effet, ils ont mis en évidence que ces connexions se font avec les corps cellulaires ou les terminaisons axonales des neurones à GnRH selon leur origine hypothalamique (**Kinoshita et al., 2005 ; Clarkson et Herbison, 2006 ; Matsuyama et al., 2011 ; Uenoyama et al., 2011**).

L'étude effectuée par Yip et al. en 2015 a permis de cartographier précisément ces relations entre neurones à kisspeptines et neurones à GnRH, mais aussi entre groupes de

neurones à kisspeptines. Ainsi, chez la souris, les corps cellulaires des neurones à GnRH et les dendrites proximales situés dans l'air préoptique reçoivent des afférences des neurones à kisspeptines localisés dans la RP3V uniquement, alors que les terminaisons axonales des neurones à GnRH se trouvant dans l'éminence médiane et l'ARC reçoivent des afférences des neurones à kisspeptines provenant de la RP3V et de l'ARC. Fait intéressant, les neurones à GnRH établissent également des synapses avec les dendrites et les axones des neurones à kisspeptines situés dans l'ARC, mais pas avec la population de neurones à kisspeptines de la RP3V. Enfin, les neurones à kisspeptines de l'ARC établissent des synapses avec le soma de ceux situés dans la RP3V et les neurones à kisspeptines établissent des connexions réciproques au sein de chaque groupe (**figure 18**). Bien qu'aucune projection des neurones à kisspeptines de la RP3V sur ceux de l'ARC n'ait été mise en évidence, l'existence de fibres provenant de la première région au sein de la seconde (**Yeo et al., 2016**) et le fait que certains neurones de l'ARC répondent aux kisspeptines laissent penser de manière raisonnable que les neurones à kisspeptines de la RP3V se projettent sur les neurones de l'ARC.

Certaines différences par rapport à ce modèle existent selon le sexe et l'espèce considérée. Ainsi, les faisceaux nerveux allant des neurones à kisspeptines de l'ARC vers la RP3V sont plus nombreux chez les femelles que chez les mâles (**Yip et al., 2015**). Chez les ovins, le corps cellulaire des neurones à GnRH reçoit des afférences provenant des neurones à kisspeptines situés à la fois dans la région rostrale périventriculaire du troisième ventricule et le noyau arqué (**Lehman et al., 2010**), alors que chez l'homme il est suspecté que ce soit les neurones à kisspeptines du noyau infundibulaire qui se projettent majoritairement sur les neurones à GnRH (**Hrabovszky, 2014**).

De nombreux autres neurones situés dans les zones de projection des neurones à kisspeptines expriment également l'ARNm de Kiss1r. C'est notamment le cas des neurones produisant l'ocytocine, la dopamine et la proopiomélanocortine (POMC).

En plus de leurs nombreuses projections sur un nombre important de cellules hypothalamiques, les neurones à kisspeptines reçoivent également des afférences depuis d'autres neurones et expriment à leurs surfaces des récepteurs de nombreuses molécules qui sont les stéroïdes sexuels et la prolactine. Le pourcentage de cette expression diffère selon la région, l'ARC et la RP3V, mais aussi selon l'espèce (**Tableau 1**).

L'intégration parfaite du réseau neuronal des kisspeptines au sein de la région hypothalamique chez de nombreuses espèces, leur connexions établies avec les autres neurones, ainsi que la présence de récepteurs de plusieurs molécules à leurs surfaces, permettent à ces derniers de remplir les différentes fonctions qui ont été identifiées.

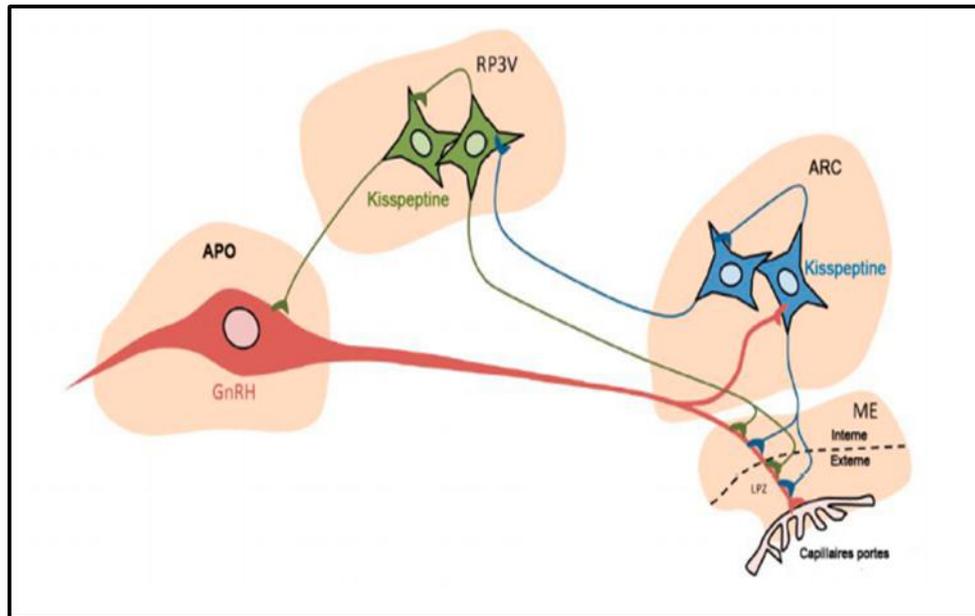


Figure 18 : Interconnexions entre les neurones à kisspeptines de la RP3V et de l'ARC et les neurones à GnRH chez la souris (Adapté de Yip et al., 2015; Boullenger, 2017).

Les neurones à kisspeptines de la RP3V (en vert) se projettent sur le soma et les dendrites proximales des neurones à GnRH (en rouge) de l'APO et les terminaisons axonales dans l'ARC et l'éminence médiane. Les neurones à kisspeptines de l'ARC (en bleu) se projettent sur les terminaisons axonales des neurones à GnRH dans l'ARC et l'éminence médiane. Les neurones à GnRH établissent des connexions avec les neurones à kisspeptines de l'ARC. Les neurones à kisspeptines ont des projections réciproques au sein de chaque groupe et entre les populations. ARC : noyau arqué, LPZ : zone palissadique latérale, ME : éminence médiane, APO : aire préoptique, RP3V : région périventriculaire rostrale du 3ème ventricule.

Tableau 1 : Pourcentage, selon l'espèce, de la distribution des différents récepteurs présents sur les neurones à kisspeptines dans l'ARC (en jaune) et la RP3V (en rouge).

ER α : récepteur alpha aux œstrogènes, PR : récepteur à la progestérone, AR : récepteur aux androgènes, PRLR : récepteur à la prolactine.

Récepteur Espèce	ER α	PR	AR	PRLR
Souris	100 %		64 %	
	98 %			
Rat				86 %
Ovin	93 %	86 %		62 %
	50 %			
Murin		60 %		

5. Contrôle de l'activité des kisspeptines

5.1. Expression génétique

Des études se basant sur les analyses de la modulation d'histone de la région du promoteur Kiss1 fournissent un indice pour comprendre le modèle spécifique à la région de l'expression du gène hypothalamique Kiss1. **Tomikawa et ses collaborateurs (2012)** ont montré que l'acétylation de H3K9 / 14, une modification de l'histone H3 activatrice, dans la région du promoteur Kiss1 est étroitement associée à une augmentation de l'expression du gène Kiss1 à la fois dans l'AVPV et l'ARC des souris. Plus précisément, l'acétylation de l'histone H3K9 / 14 et la liaison ER α dans la région du promoteur kiss1 dans l'AVPV ont été induites par l'estradiol et ont été positivement associées à une augmentation de l'expression du gène Kiss1 dans ce noyau (**Figure 19**).

De plus, l'inhibiteur de la désacétylation des histones a induit l'expression de Kiss1 dans des lignées cellulaires hypothalamiques murines in vitro. Ces résultats suggèrent que l'acétylation de l'histone H3K9 / 14 joue un rôle critique dans l'induction de l'expression du gène Kiss1 de l'AVPV au proestrus chez la souris.

En effet, les niveaux d'acétylation de l'histone H3K9 / 14 dans la région du promoteur Kiss1 sont faibles au dioestrus mais augmentent au proestrus dans l'AVPV chez la souris.

L'estradiol a également amélioré la formation de la boucle de chromatine entre le promoteur et les régions 3' en aval du gène Kiss1, suggérant que la région 3' en aval du gène Kiss1 joue un rôle clé dans la régulation de l'expression du gène Kiss1 en tant qu'amplificateur dans l'AVPV (**Uenoyama et al., 2016**).

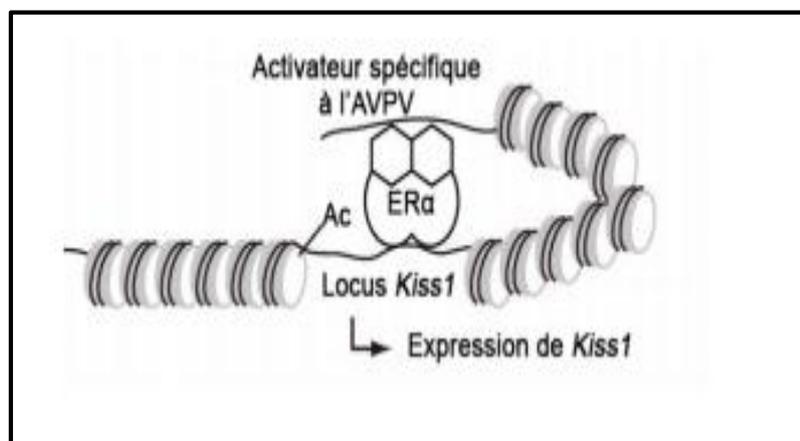


Figure 19 : Action nucléaire du récepteur ER α dans les neurones à kisspeptine de l'AVPV (Adapté de Uenoyama et al., 2016 ; Boullenger, 2017).

5.2. Effets de la photopériode et de la mélatonine sur l'expression de KISS1

La plupart des organismes restreignent leur fertilité à une période limitée pour assurer la naissance et le sevrage des petits au moment le plus favorable de l'année (généralement le début du printemps). La majorité des espèces utilise les variations annuelles de la durée journalière d'éclairement (ou photopériode) pour connaître les saisons. Les variations annuelles de la photopériode sont traduites en rythme de sécrétion de la mélatonine par un système photo-neuroendocrine complexe. La lumière perçue par la rétine synchronise l'activité de l'horloge circadienne biologique, localisée dans les noyaux suprachiasmatiques de l'hypothalamus. Les informations temporelles sont ensuite transmises, *via* les ganglions cervicaux supérieurs, à la glande pinéale, qui synthétise et libère la mélatonine. Cette hormone, issue de la sérotonine, qui constitue un marqueur endocrinien du rythme nyctéméral et saisonnier. Les concentrations circulantes de mélatonine présentent un double rythme : journalier (valeurs nocturnes plus élevées) et saisonnier (pic nocturne plus long en hiver ou photopériode courte) (**Figure 20**).

La mélatonine est synthétisée dans les pinéaloctes mais n'est pas stockée dans ces derniers, cependant, elle est directement libérée dans la circulation générale, où sa demi-vie est d'environ 20 minutes, Celle-ci est 10 à 20 fois plus élevée la nuit que le jour (**Simonneaux et al., 2009**).

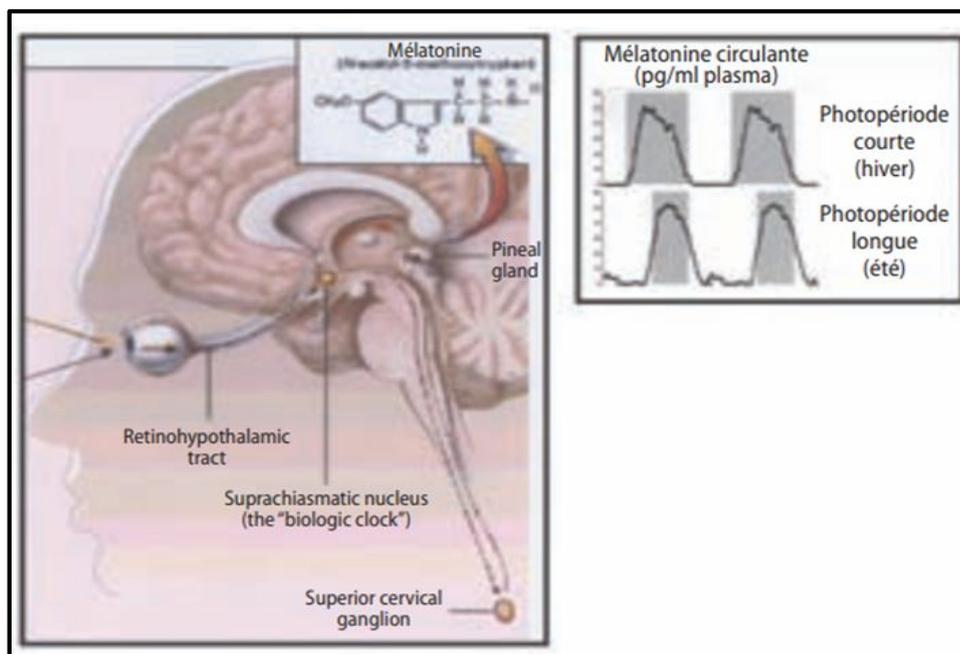


Figure 20 : Les concentrations circulantes de mélatonine en photopériode courte et longue (Simonneaux et al., 2009).

Vu que les structures hypothalamiques ARC et AVPV sont dépourvues de récepteurs à la mélatonine, cette dernière agit indirectement sur l'expression de KISS1 via l'intervention d'autres gènes qui sont la Dio2 et le Rfrp (RFamide-related peptide), dont l'expression dépend aussi de la mélatonine.

Chapitre III :
Kisspeptines et la fonction de reproduction

Depuis la découverte de l'importance des kisspeptines en physiologie de la reproduction, le système composé par les neuropeptides kisspeptines et leurs récepteurs, notamment Kiss1R ont fait l'objet d'une intense activité de recherche. Chez les mammifères, y compris l'homme, les kisspeptines jouent des rôles dans de nombreux aspects de la reproduction. Les données neuroanatomiques et physiologiques ont permis d'illustrer la fonction principale de ces neuropeptides dans la régulation de l'activité des neurones à GnRH et notamment de leur mode de sécrétion (pulsatile ou pic). Puis, son implication dans le déclenchement de la puberté, le contrôle de l'ovulation, la gestation, la lactation et l'activité des gonades chez les espèces photopériodiques.

1. Kisspeptines et la sécrétion des hormones gonadotropes

A la fin de 2004, des travaux avaient signalé l'effet stimulant de Kp-10 et Kp-54 sur la sécrétion de LH chez le rat et la souris. Cette action a été rapidement confirmée et étendue à d'autres espèces de mammifère, comme le mouton, le singe, l'humain, les chèvres, porcs, et vaches (**Pinilla et al., 2012**).

Chez l'homme et la femme, de nombreuses études pharmacologiques ont montré que les kisspeptines (surtout la Kp-54), administrées en intraveineuse (IV) ou en sous cutanée(SC), sont capables de stimuler la sécrétion de LH et FSH (**Dhillo et al., 2005, 2007**). Cet effet a été déjà détecté aux premiers stades du développement postnatal, y compris pendant les périodes infantile et / ou juvénile chez le rat, souris et singe, bien que chez ce dernier, seule la phase juvénile a été testée. De plus, les effets stimulants des kisspeptines ont été détectés dans différents états physiologiques de l'axe gonadotrope, tels que diverses phases du cycle ovarien, la grossesse et l'allaitement (**Pinilla et al., 2012**).

Une autre étude a rapporté une disparition totale du pic LH et du cycle œstral chez la ratte après une injection dans l'aire pré-optique (APO) d'anticorps monoclonaux dirigés contre les kisspeptines (**Kinoshita et al., 2005**). Par ailleurs, une inhibition de l'action stimulatrice des kisspeptines a été observée lors d'une administration de deux antagonistes à la GnRH qui sont la cétrorelax et l'acyline (**Gottsch et al., 2004 ; Irwig et al., 2004 ; Matsui et al., 2004**).

Des travaux, menés *in vitro et in vivo*, par **Thompson et al. (2004)**, **Messenger et al. (2005)** et **Novaira et al. (2009)** ont enfin confirmé que les kisspeptines stimulent la sécrétion de GnRH, en provoquant la dépolarisation des neurones à GnRH (**Figure 21 ; Pielecka-Fortuna et al., 2008**).

Pielecka-Fortuna et son équipe (2008) ont montré que le blocage des afférences GABA et glutamate entraîne une baisse de la réponse des neurones à GnRH après l'administration de kisspeptines, suggérant que les kisspeptines envoient des influx gabaergiques et glutamatergiques vers les neurones à GnRH, améliorant leurs réponse (**Pielecka-Fortuna et Moenter, 2010**).

En 2012, des chercheurs ont montré qu'en proœstrus les kisspeptines agissent sur les neurones producteurs de monoxyde d'azote (NO) en facilitant la phosphorylation de l'oxyde nitrique synthase neuronale (NOSn), enzyme qui catalyse la formation de NO. Ce dernier a un effet inhibiteur sur la sécrétion de LH durant le diœstrus, mais il semble être nécessaire pour la génération du pic de LH, probablement en synchronisant les neurones à GnRH dans leur activité sécrétoire (**Hanchate et al., 2012**).

Il apparait donc, en prenant en compte à la fois les données anatomiques et physiologiques, que les kisspeptines stimulent la sécrétion des hormones gonadotropes en agissant directement et indirectement, *via* le NO, sur les neurones à GnRH.

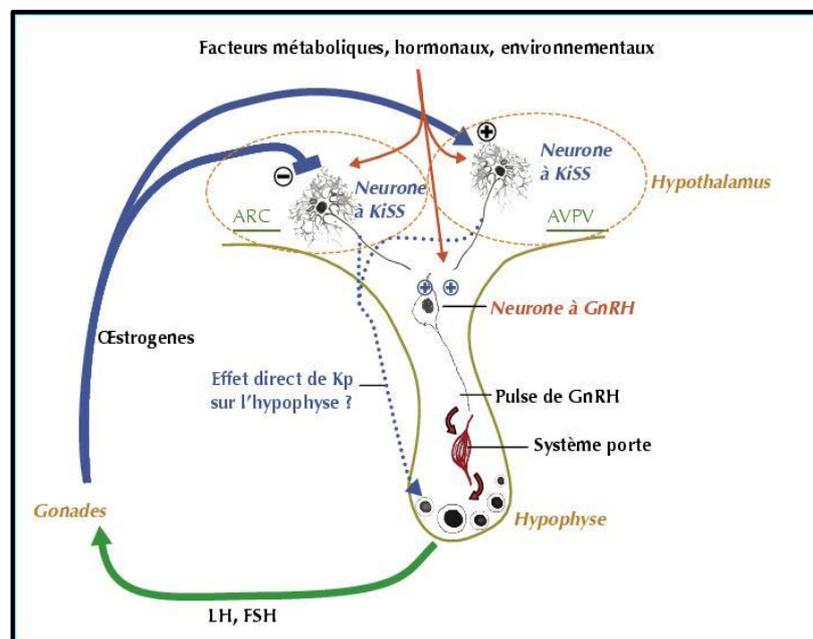


Figure 21 : Kisspeptine, un acteur majeur de la régulation neuroendocrinienne de la reproduction Pielecka-Fortuna et al. (2008).

ARC : Noyau arqué ; AVPV : noyaux antéroventraux périventriculaires

2. Impact des kisspeptines sur l'axe hypothalamo-antéhypophysio-gonadique

Depuis 2003, les kisspeptines et leurs récepteurs KISS1R sont connus comme des acteurs majeurs de l'axe hypothalamo-hypophysio-gonadique. Des mutations des gènes codant le peptide ou son récepteur ont été retrouvées chez des patients atteints de puberté précoce ou

d'hypogonadisme hypogonadotrope. En effet, les kisspeptines sont de puissants stimulateurs des neurones à GnRH, impliqués dans divers mécanismes régulant l'axe gonadotrope comme l'initiation de la puberté ou les rétrocontrôles positifs et négatifs des stéroïdes sexuels.

2.1. Sexualisation des réseaux neuronaux et l'activation de l'axe gonadotrope à la puberté

L'action des kisspeptines débute lors de la vie prénatale de l'individu et se poursuit jusqu'à l'activation de l'axe hypothalamo-hypophysaire au moment de la puberté. Lors de la vie utérine et postnatale, les stéroïdes sexuels influencent l'architecture du réseau neuronal à kisspeptines, ces neuropeptides participent, à leur tour, au déclenchement de la puberté ainsi qu'à la maturation sexuelle de l'organisme (**Boullenger, 2017**).

Un dimorphisme sexuel caractérise les populations de neurones à kisspeptine de la RP3V (aire rostrale préoptique du troisième ventricule) et de l'ARC, selon les espèces. En **2014**, **Clarkson** et son équipe ont montré que, chez les souris mâles, les neurones à GnRH sont dépourvus des récepteurs aux kisspeptines (GnRH-GPR54 KO). En prenant en compte l'absence de différence d'expression de Kiss1R entre les mâles et femelles à la naissance (**Herbison et al., 2010**), il semble cohérent de penser que le dimorphisme sexuel ait notamment pour origine une différence dans la quantité de kisspeptines produites lors de la mise en place des réseaux neuronaux.

En **2014**, **Clarkson** et ses collaborateurs montrent que les rats mâles, en période périnatale, présentent une petite population de neurones à kisspeptines dans l'AVPV. Par ailleurs, l'administration à des rats femelles d'une concentration élevée de testostérone durant la période périnatale provoque une diminution du nombre de neurones à kisspeptines présents dans l'AVPV à l'âge adulte jusqu'à atteindre une quantité comparable à celles des mâles adultes, ainsi qu'une baisse de la quantité de kisspeptines produites par ces mêmes neurones (**Kauffman et al, (2007a ; Homma et al., 2009)**). Les mêmes équipes ont observé chez les rats néonataux castrés, une augmentation du nombre de neurones à kisspeptines dans l'AVPV à l'âge adulte, mais cette quantité de neurones reste cependant intermédiaire entre celles des femelles et des mâles entiers. À partir de cette expérience, il est aisé de déduire que l'importance de la population de neurones à kisspeptines est à l'origine de l'apport en kisspeptines nécessaire à la mise en place des différences entre les populations de neurones à kisspeptines de l'AVPV chez le mâle et la femelle.

En effet, le rôle des stéroïdes sexuels, plus précisément de la testostérone dans la différenciation sexuelle du cerveau en général a été bien prouvée (**Simerly, 2002 ; Morris et**

al., 2004). D'après ces auteurs, les modifications du dimorphisme sexuel des neurones à GnRH sont corrélées à une modification du dimorphisme sexuel concernant la sécrétion de gonadotrophines. Ils ont aussi remarqué l'absence de pic de LH chez les femelles androgénisées et son apparition chez les mâles castrés. Ces deux études suggèrent donc que la testostérone agit durant la période périnatale sur l'organisation des neurones à kisspeptines dans l'AVPV, causant ainsi le dimorphisme sexuel au sein de l'AVPV que l'on retrouve chez l'adulte (**Figure 22**).

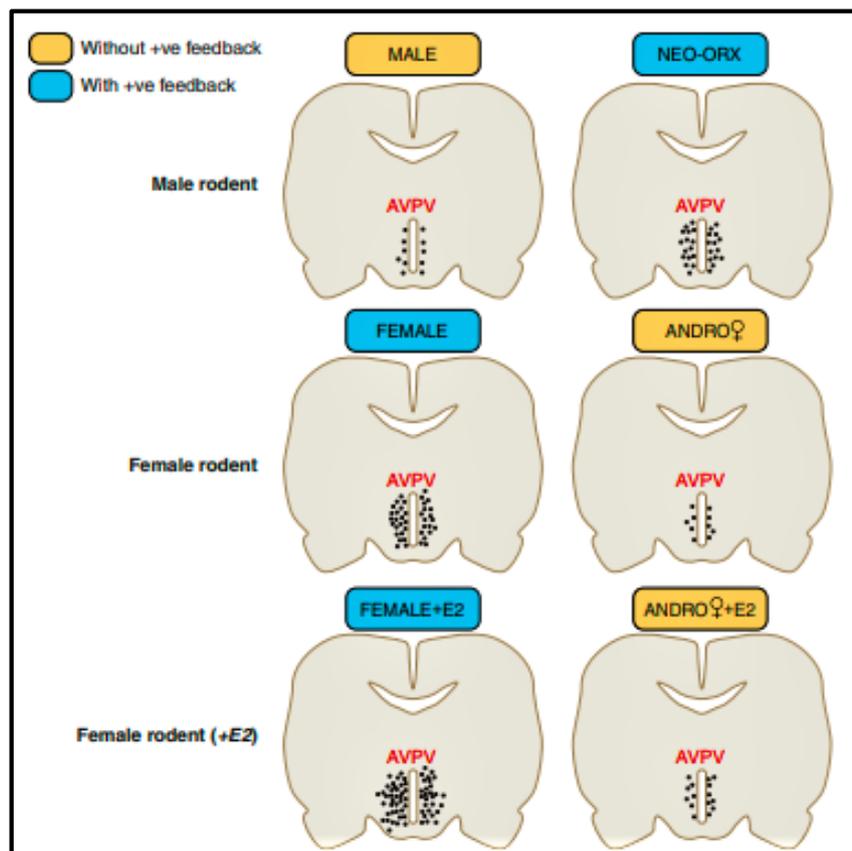


Figure 22 : Schéma représentatif du dimorphisme sexuel de la population de neurones Kiss1 dans l'AVPV chez les rongeurs (Pinilla et *al.*, 2012).

Les points noirs représentent l'expression de l'ARNm Kiss1 dans ce noyau hypothalamique. a) l'orchidectomie néonatale chez les mâles (NEO-ORX), qui améliore l'expression de Kiss1 et permet une rétroaction positive à l'âge adulte (panneaux supérieurs); b) l'androgénisation néonatale chez la femelle (ANDRO) qui empêche la surexpression de Kiss1 spécifique à la femelle dans l'AVPV et émousse les rétrocontrôles positifs à l'âge adulte (panneaux du milieu). De plus, les effets activateurs des œstrogènes (E2) sur l'expression de l'ARNm de Kiss1 dans l'AVPV sont également schématisés chez des rats femelles adultes, soumis ou non à une androgénisation néonatale (en bas panneaux). Présence (cases bleues) ou l'absence (cases grises) de rétroaction positive est notée pour chaque mode

Il existe chez plusieurs espèces, notamment l'homme et les rongeurs, deux pics de testostérone qui apparaissent au début de la vie : un premier indépendant des gonadotrophines

qui survient en milieu de gestation et le deuxième dans les heures ou les semaines qui suivent la naissance (selon l'espèce), qui est d'une intensité importante chez le mâle que chez les femelles (**Clarkson et al., 2014**). Une expérience réalisée par ces auteurs, sur des souris mâles GnRH–GPR54 KO, a montré que ce pic de testostérone est dépendant de GnRH qui est elle-même sous le contrôle des kisspeptines.

A partir des résultats de nombreuses autres études, un modèle pour l'organisation du réseau de neurones à kisspeptines durant la période périnatale a été établi (**Kauffman et al. 2007a ; Homma et al., 2009 et Clarkson et al., 2014**).

Chez la souris mâle, pendant la vie utérine, une population de neurones à kisspeptines dans la RP3V s'est mise en place suite au pic de testostérone embryonnaire qui est indépendant des gonadotrophines. A la naissance, cette population de neurones secrète les kisspeptines qui stimulent la sécrétion de GnRH et ainsi la sécrétion de testostérone par les testicules. La testostérone, à son tour, provoque la masculinisation du cerveau et notamment celle du réseau de neurones à kisspeptines de la RP3V en limitant son développement (**Boullenger, 2017**).

Il a été suggéré que la masculinisation nécessite un pic de testostérone embryonnaire alors que la féminisation du réseau de neurones à kisspeptine de l'AVPV nécessite la présence d'œstrogènes pour être complète (**Bakker et al., 2010 ; Gill et al., 2010**). Ces auteurs affirment que la présence des stéroïdes sexuels gonadiques durant la période juvénile est d'une nécessité critique pour la mise en place des circuits neuronaux permettant l'apparition du pic de LH préovulatoire.

Cette mise en place du dimorphisme sexuel dans l'organisation du réseau de neurones à kisspeptines permet le bon déroulement du déclenchement de la puberté. Au cours de cette période, une nouvelle série de modifications se déroule en ce qui concerne la structure, l'activité et la régulation du réseau de neurones à kisspeptines.

En premier lieu, chez la souris prépubaire, une augmentation de la production de kisspeptines a été observé suite à l'augmentation du nombre des neurones kisspeptinergiques dans la RP3V (**Clarkson et Herbison, 2006 ; Clarkson et al., 2009**). Dans la RP3V et l'ARC, une forte augmentation de l'expression de Kiss1 est constatée dans les deux sexes chez les rongeurs (**Yap et al., 2016**). En parallèle, le nombre de projections des neurones à kisspeptines envoyé aux neurones à GnRH augmentent (**Clarkson et Herbison, 2006 ; Nestor et al., 2012**). De plus, lors de la puberté, les neurones à GnRH expriment une meilleure réponse à l'effet stimulateur des kisspeptines, passant de 27 % à 90 % de neurones activés par les kisspeptines (**Han et al., 2005**).

2.2. Formation du pic préovulatoire de GnRH et de LH

Pour rappel, les stéroïdes sexuels produits, par les gonades, sous l'effet de la LH assurent plusieurs fonctions chez le mâle et la femelle. En plus de leur rôle dans la gamétogenèse, le développement et le maintien d'un tractus génital fonctionnel ainsi que la mise en place des caractères sexuels secondaires et tertiaires, la progestérone, les œstrogènes et la testostérone contrôlent l'activité de l'axe hypothalamo-hypophysaire par des rétrocontrôles qui permettent de réguler la synthèse de GnRH, de LH et de FSH. Les stéroïdes sexuels permettent le maintien de la sécrétion basale de GnRH, LH et FSH via un rétrocontrôle négatif permanent sur l'axe gonadotrope. Cependant, chez la femelle, lorsque l'imprégnation œstrogénique dépasse un certain seuil, les œstrogènes et la progestérone, exercent un rétrocontrôle positif sur l'axe gonadotrope, ce qui permet la genèse du pic de GnRH puis celui de LH qui permet le déclenchement de l'ovulation.

Des études ont montré que les récepteurs aux œstrogènes ER α et à la progestérone PR sont indispensables au rétrocontrôle positif, mais sachant que les neurones à GnRH sont dépourvus de ces récepteurs (**Herbison et Pape, 2001**), ceci permet de dire qu'il existe un autre type cellulaire sensible aux stéroïdes sexuels qui permet de compléter les boucles de rétrocontrôle en agissant comme intermédiaire entre les stéroïdes sexuels et les neurones à GnRH.

Progressivement, les études effectuées sur l'axe hypothalamo-antéhypophysaire et les kisspeptines, ont montré que les neurones qui synthétisent ces neuropeptides, sont eux qui fixent les stéroïdes sexuels grâce aux récepteurs ER α et PR, présents dans la RP3V et qui répondent au rétrocontrôle positif chez la femelle (**Lee et al., 1999**). Des études faites sur des rongeurs ont montré que les neurones à kisspeptines de la RP3V répondent spécifiquement aux œstrogènes par une augmentation de la transcription de Kiss1, cette réponse se fait *via* le récepteur ER α . En plus d'ER α , l'expression de PR par les neurones à kisspeptine est indispensable pour l'apparition du pic LH (**Stephens et al., 2015**).

Les mécanismes moléculaires à l'origine du rétrocontrôle positif effectués par les neurones à kisspeptines commencent à être partiellement élucidés. Les œstrogènes et la neuroprogestérone agissent en coopération afin de stimuler la synthèse de la kisspeptine et ce en impliquant plusieurs types de cellules nerveuses.

Ainsi, il est important de noter que la progestérone impliquée dans ce rétrocontrôle n'est pas seulement d'origine périphérique mais aussi neuronale. La neuroprogestérone est synthétisée par les astrocytes présents dans l'hypothalamus. Sa synthèse est aussi contrôlée

par les œstrogènes *via* ses récepteurs membranaires. Afin que cette neuroprogéstérone soit synthétisée une certaine valeur seuil de la quantité d'œstrogène doit être dépassée (Boullenger, 2017).

Les œstrogènes agissent de différentes manières sur les neurones kisspeptinergiques. En premier lieu, ils augmentent la transcription du gène *kiss1* en empruntant la voie génomique des récepteurs aux œstrogènes. Cependant l'ER α interagit avec d'autres sites, autres que les sites classiques ERE (estrogene responsive elements), qui sont les sites de fixation du facteur de transcription SP1, localisés dans le promoteur du gène *Kiss1* (Li et al., 2007). L'autre effet des œstrogènes au sein des neurones à kisspeptines concerne l'action de la neuroprogéstérone sur la cellule.

Cependant, des études ont prouvé que les récepteurs PR sont nécessaires pour l'action des œstrogènes sur les neurones kisspeptinergiques. Ainsi, les œstrogènes vont augmenter la synthèse des PR *via* des ER α nucléaires, ce qui permet à la neuroprogéstérone d'exercer son action sur les neurones à kisspeptines. Suite à la fixation de la neuroprogéstérone, des voies de signalisation sont déclenchées. Celles-ci, stimuleraient l'action des œstrogènes sur la synthèse des kisspeptines ainsi que leur sécrétion à partir des neurones (Figure 23 ; Boullenger, 2017).

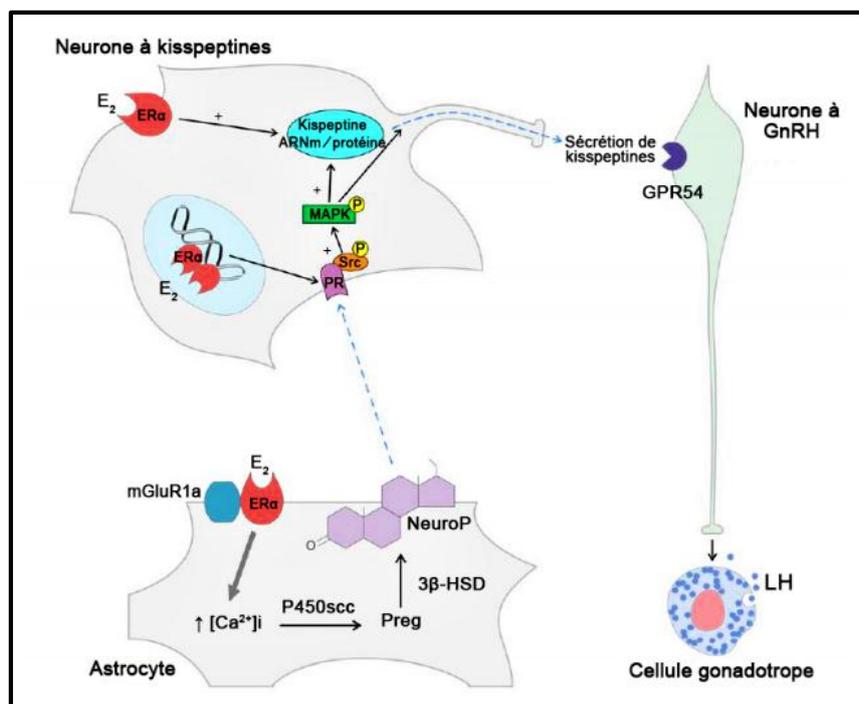


Figure 23 : Interactions entre les signaux œstrogéniques et neuroprogéstéroniques dans les neurones à kisspeptines et les astrocytes pour la médiation du rétrocontrôle positif des stéroïdes sexuels (Adapté de Rudolph et al., 2016).

3 β -HSD : 3-bêta-hydroxystéroïde déshydrogénase, mGluR1a : récepteur membranaire A1 au glutamate, Preg : pregnénolone.

2.3. Contrôle de la pulsativité des neurones à GnRH

Contrairement au rôle attribué aux neurones kisspeptinergiques de la RP3V qui est la genèse du pic de GnRH préovulatoire, ceux de l'ARC quant à eux, contrôlent la sécrétion basale et pulsatile des gonadotrophines. L'ARC est une région de l'hypothalamus qui est considérée comme générateur des pulsations de GnRH, ceci a été prouvé grâce aux observations de la synchronisation entre l'activité électrique de cette région et le rythme de libération de la GnRH. Vu l'absence des ER α au niveau des neurones à GnRH, les neurones à kisspeptines sont les candidats favoris pour contrôler le rythme pulsatile de la GnRH et le rétrocontrôle négatif des stéroïdes sexuels.

Des études en électrophysiologie réalisées chez des chèvres montrent une synchronisation entre l'activité électrique pulsatile de l'ARC et la sécrétion de LH ; cette dernière a pour origine les neurones à kisspeptines de l'ARC, ceci a été prouvé par l'existence d'une activité électrique multiunitaire (MUA) enregistrée à proximité de ces neurones (**Figure 24**). Il est à noter aussi que la transcription de *kiss1* dans l'ARC est inhibée par les œstrogènes et augmentée en leur absence (**Smith et al., 2005**).

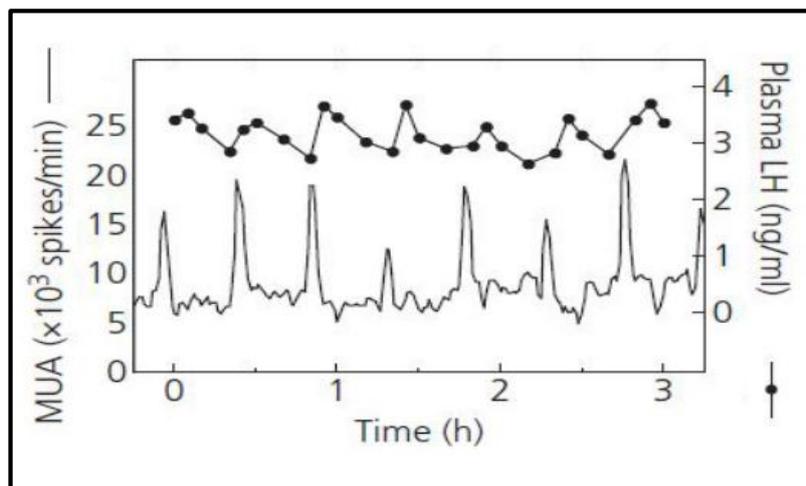


Figure 24 : Enregistrements de la sécrétion pulsatile de LH et des salves de MUA obtenues dans l'ARC au contact des neurones à kisspeptines chez un bouc castré (Ohkura et al., 2009).

La courbe du bas correspond au nombre de pics d'activité électrique selon le temps et la courbe du haut correspond à la concentration plasmatique de LH selon le temps. On peut constater que chaque salve de MUA est suivie d'une sécrétion de LH.

Par ailleurs, la majorité des neurones à kisspeptines de l'ARC (80% à 95%) coexpriment la NKB et DYN A (**Goodman et al., 2007**). Cette population de neurones, dénommés KNDy pour Kisspeptine/Neurokinine B/Dynorphine A (**Cheng et al., 2010**), a été par la suite identifiée chez le rat, la souris, les caprins et chez la femme (**Boullenger, 2017**).

En 2012, une étude faite sur les ovins et les caprins a pu montrer que l'administration de la neurokinine B, provoque une augmentation des fréquences des MUA de l'ARC et la libération de LH (**Wakabayashi et al., 2010 ; Goodman et al., 2013**). La majorité des cellules KNDy de l'ARC expriment le NK3R, récepteur de la NKB qui semble être l'activateur des neurones KNDy à l'origine de la formation des MUA. De plus, vu l'absence des récepteurs NK3R sur les neurones à GnRH, ces derniers reçoivent le signal via les kisspeptines.

Par ailleurs, d'autres études ont montré que l'administration de dynorphine entraîne une diminution de l'activité des neurones KNDy. Le récepteur KOR de dynorphine est exprimé dans 90% des neurones KNDy chez les ovins (**Weems et al., 2016**) et 41% des neurones KNDy chez la souris (**Ruka et al., 2013**).

Ainsi, L'activité de ces neurones est synchronisée suite à l'action paracrine voire autocrine des deux neuropeptides NKB et DynA. La NKB exerce une boucle de rétroaction positive sur les neurones KNDy, ce qui provoque une forte sécrétion de kisspeptines. La quantité de dynorphine, quant à elle, est augmentée suite à l'élévation du taux de NKB, cette élévation induit la fin de la pulsation. Cela permet une sécrétion pulsatile des kisspeptines qui stimulent à leur tour la sécrétion pulsatile et tonique de GnRH et LH.

Le rôle de la NKB dans la stimulation des neurones KNDy est également controversé. La différence entre l'effet stimulateur et l'effet inhibiteur dépend de l'environnement hormonal, notamment œstrogénique. Lorsque la concentration en œstrogènes est très faible, voire nulle, NKB inhibe la sécrétion de LH, alors que lorsque la concentration en œstrogènes est plus élevée, NKB stimule la sécrétion de LH (**Navarro et al., 2011a ; Grachev et al., 2014**).

3. Action des hormones sexuelles sur les kisspeptines

Clarkson et al. (2009) ont montré que les œstrogènes agissent sur les deux populations principales de neurones exprimant les Kp. En effet, des expériences d'ovariectomie ont révélé que l'absence d'œstrogènes est associée à une diminution du nombre de neurones exprimant la Kp dans l'AP et que l'administration d'œstradiol 17 β bloque cet effet (**Beltramo et Dufourny, 2015**). La situation est moins claire dans l'ARC des femelles ovariectomisées qui présentent soit une augmentation de la synthèse de Kp soit une diminution (**Clarkson et al., 2009**). Chez les souris dont le gène codant l'aromatase est invalidé et qui sont incapables de synthétiser les œstrogènes, la Kp n'est pas détectée par immunohistochimie dans les neurones de l'AP mais elle est toujours clairement observable dans l'ARC même si elle est réduite (**Clarkson et al. 2009 ; Beltramo et Dufourny, 2015**).

Chez le hamster orchidectomisé dans le RP3V, une régulation positive de la testostérone est détectée sur le nombre de cellules kisspeptines immunoréactive (kp-ir) tandis qu'aucun effet n'est observé dans l'ARC. Chez la brebis, dans l'AP, il est intéressant de noter que contrairement aux niveaux d'ARNm-Kiss1 qui ne semblaient pas être régulés par l'œstradiol, le nombre de cellules kp-ir augmente suite à la pose d'un implant d'œstradiol sur des brebis ovariectomisées (Smith *et al.*, 2008). Dans l'ARC médian et caudal, comme pour le nombre de cellules Kiss1, le nombre de cellules kp-ir augmente suite à la pose d'un implant d'œstradiol sur des brebis ovariectomisées (Desroziers, 2011).

Pour conclure sur la régulation par les stéroïdes sexuels de l'expression de kp, celle-ci est différente selon les régions et l'espèce étudiée. Chez les rongeurs, les études montrent une régulation positive de l'expression de kp dans les neurones à kp du RP3V et une régulation plutôt négative de l'expression et de kp dans les neurones à kp de l'ARC par l'œstradiol et la testostérone (Figure 25). Chez la brebis, l'expression de Kiss1 n'est pas régulée par l'œstradiol dans l'AP. En revanche, le nombre de cellules kp-ir est régulé positivement suggérant une régulation de type post-transcriptionnelle dans cette région pour cette espèce. De plus, chez cette espèce, l'expression de Kiss1 et de kp ne semble pas être régulée dans l'ARC antérieur par l'œstradiol mais serait régulée de manière dose-dépendante dans l'ARC caudal suggérant l'existence d'une hétérogénéité des neurones à kp de l'ARC (Desroziers, 2011).

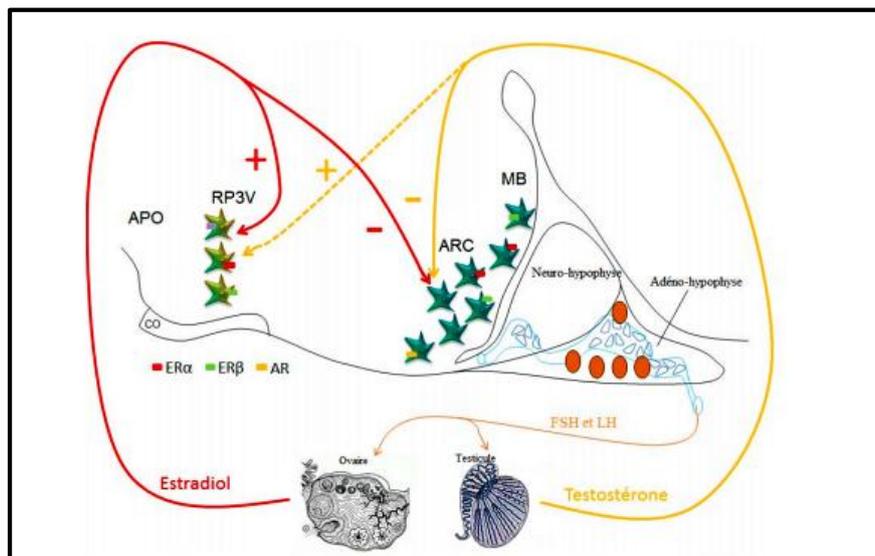


Figure 25 : Schéma représentatif des régulations des neurones à kisspeptine par les stéroïdes sexuels chez les rongeurs d'âge adulte (Desroziers, 2011).

La flèche en trait pointillé signifie que la régulation par la testostérone des neurones du RP3V pourrait passer par l'aromatisation de la testostérone en œstrogène et agir *via* les ER α .

4. Déclenchement de la puberté

En 2003, Roux et ses collaborateurs, ainsi que Seminara et son équipe ont mis en évidence la nécessité des kisspeptines pour le déclenchement de la puberté. Ils découvrent ainsi des mutations au sein du gène Kiss1R chez l'homme et établissent un lien avec les troubles de la puberté et la fertilité rencontrés dans le cas d'hypogonadisme hypogonadotrope (**Clarke et al., 2015**).

Des études chez la souris ont montré que l'absence d'expression du gène kiss1 ou du gène kiss1R entraîne des troubles de l'appareil génital. Au niveau macroscopique, les mâles adultes présentent des testicules de petite taille, un défaut de développement des glandes séminales, de la prostate et des glandes préputiales, ainsi qu'un micropénis ; les femelles adultes présentent des ovaires, un utérus, un col utérin, un vagin et un tissu mammaire très peu développés. L'analyse histologique des tubes séminifères a permis de montrer que la spermatogenèse est bloquée au début de la spermiogenèse. Chez la femelle, la folliculogenèse n'aboutit pas, aucun signe d'ovulation n'est observable, l'endomètre est peu développé et ne contient que très peu de glandes.

Enfin, le profil hormonal des souris adultes déficientes en kisspeptines est significativement différent de celui des souris sauvages, avec des concentrations plasmatiques en testostérone et en FSH plus basses, une absence de fluctuations cycliques des œstrogènes, une concentration plasmatique en LH plus basse et équivalente chez les femelles à celle mesurée lors de l'anœstrus. L'absence de signalisation kisspeptinergique maintient donc les individus mutés à un stade juvénile et empêche la survenue de la puberté (**Boullenger, 2017**).

Plus récemment, il a été démontré que la perfusion intracérébroventriculaire continue d'un antagoniste spécifique de la kisspeptine au moment de la transition pubertaire altère la progression normale de la puberté chez les rats. Enfin, l'administration répétée de kp-10 chez des rats immatures accélère le début de la puberté (**Clarke et al., 2015**).

5. Kisspeptines dans la régulation de la fonction gonadique et actions sur les gamètes

En plus de leur rôle au niveau central, les kisspeptines ont aussi une action périphérique. Ils agissent ainsi directement au niveau des testicules et des ovaires.

5.1. Testicules et spermatozoïdes

Les kisspeptines et leurs récepteurs associés sont fortement exprimés dans les testicules. Chez la souris, Kiss1 est retrouvées dans les cellules de Leydig, les spermatides, les spermatozoïdes et les cellules épithéliales de l'épididyme, tandis que Kiss1R est mis en évidence dans les spermatides, les spermatozoïdes et les cellules de Leydig (**Mei et al., 2013** ;

Salehi et al., 2015). Cependant, l'étude de **Tariq et ses collaborateurs (2013)** a montré que chez les primates, *Kiss1* n'est exprimé que dans les spermatides et les spermatozoïdes et *Kiss1R* dans les cellules précédemment citées ainsi que les cellules de Sertoli. Concernant les spermatozoïdes, **Pinto et al. (2012)** ont montré que les kisspeptines et leurs récepteurs sont localisés au niveau de l'acrosome, du col et de la pièce intermédiaire (**Figure 26**).

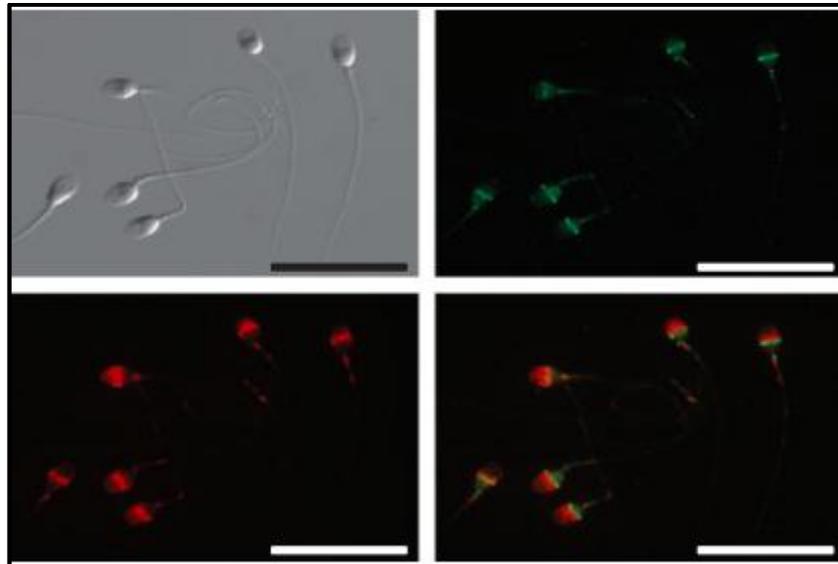


Figure 26 : Immunofluorescence de spermatozoïdes humains avec des anticorps dirigés contre la kisspeptine et contre son récepteur, *Kiss1R* (Pinto et al., 2012).

Analyse par double immunofluorescence de la kisspeptine (signal vert), *KISS1R* (signal rouge) et image fusionnée montrant la co-localisation de la kisspeptine et de son récepteur (signal jaune). Des expériences ont été effectuées au moins six fois avec des résultats. Barre d'échelle, 20 μ m.

Une étude faite par **Salehi et al. (2015)**, a démontré que l'augmentation de la sécrétion de LH entraîne une augmentation de la quantité d'ARNm de *Kiss1* dans les cellules de Leydig et que la suppression de LH entraîne l'effet contraire.

De plus, les kisspeptines ne semblent pas jouer de rôle direct dans la fonction endocrine des testicules. En effet, l'administration *in vitro* de kisspeptines n'entraîne pas d'augmentation de la sécrétion de testostérone dans les cellules de Leydig des murins (**Mei et al., 2013**) et les testicules de singes (**Tariq et Shabab, 2017**). De même, l'injection d'un antagoniste de *Kiss1R* ne modifie pas la concentration plasmatique en testostérone (**Huma et al., 2014**).

Cependant, l'étude conduite par **Irfan et al. (2014)** montre que, dans un contexte d'inhibition de l'axe hypothalamo-hypophysaire, les kisspeptines augmentent la production de testostérone induite par l'injection de l'hormone chorionique gonadotrope (hCG). Il se pourrait donc que, sans avoir d'effet direct, les kisspeptines agissent indirectement sur la production de stéroïdes sexuels.

En outre, concernant la spermatogenèse, de nombreuses études ont révélé que les kisspeptines y seraient impliquées chez différentes espèces. La localisation de Kiss1R et de ses ligands rendrait possible des interactions paracrines entre les cellules de Leydig, de Sertoli et le devenir des spermatozoïdes (**Tariq et al., 2013 ; Meccariello et al., 2014**).

Enfin, les kisspeptines agissent directement sur le fonctionnement des spermatozoïdes. En effet, elles entraînent une augmentation de la concentration intracellulaire en Ca^{2+} , probablement depuis les réserves cytoplasmiques (**Pinto et al., 2012**). Il a été montré que les kisspeptines augmentent la motilité des spermatozoïdes en induisant une hyperactivation transitoire de manière concentration-dépendante et un effet inhibé est démontré en présence d'un antagoniste de Kiss1R (**Pinto et al., 2012**). Les kisspeptines qui agissent sur les spz seraient contenues dans le liquide séminal et pourraient être sécrétées, entre autres, par les cellules épithéliales épидидymaires (**Hsu et al., 2014**). Les kisspeptines pourraient ainsi participer à la motilité des spermatozoïdes et à leur capacitation dans les voies génitales femelles, leur permettant ainsi d'atteindre l'ovocyte et de le féconder.

5.2. Ovaires et ovocytes

Lors de l'ovulation, les Kisspeptines joueraient non seulement un rôle au niveau hypothalamique, mais aussi dans l'ovaire. Les ARNm des Kisspeptines et de leur récepteur ont été détectés dans l'ovaire chez plusieurs espèces. Chez le rat, Kiss1 est exprimé dans la granulosa, la thèque interne, les corps jaunes, l'ovocyte, le tissu interstitiel et l'épithélium de la surface ovarienne (**Castellano et al., 2006**), le Kiss1R est quant à lui exprimé dans la thèque, le corps jaune et le tissu interstitiel. Ceci suggère l'existence d'un système local à Kisspeptines capable d'un contrôle direct de l'activité de l'ovaire. Le niveau d'expression de l'ARNm des Kisspeptines change pendant le cycle œstral chez la ratte, et est nettement accru pendant la phase préovulatoire. Cette augmentation fait défaut si le pic préovulatoire des gonadotrophines est bloqué mais elle est induite par un traitement avec l'hCG, un agoniste du récepteur de la LH (**Castellano et al., 2006**).

L'utilisation d'animaux déficients en Kiss1R a aussi révélé l'importance de la signalisation du système Kisspeptine dans l'ovaire (**Beltramo et Dufourny, 2015**). En 2012, **Ricu** et ses collaborateurs ont montré que des injections d'un antagoniste des kisspeptines (le peptide 243) dans les ovaires, entraînent un retard de la puberté et de fortes irrégularités du cycle œstral des rats sans que la concentration plasmatique en LH soit modifiée, ce qui suggère que les kisspeptines participent localement dans les ovaires au développement folliculaire et à l'ovulation. Au sein des ovaires, les kisspeptines permettent de maintenir la

réserve ovarienne dans le temps, en participant aux voies assurant la survie des ovocytes non ovulés et en limitant le recrutement d'un nombre trop important de follicules. En parallèle, elles facilitent l'ovulation des follicules les plus développés et les rend plus efficaces. Ce faisant, les kisspeptines participent également à la fonction endocrine des ovaires en favorisant la formation des corps jaunes et la production de progestérone par ces derniers. L'absence complète du Kiss1R bloque la maturation folliculaire et l'ovulation.

6. Kisspeptines dans la gestation et la lactation

6.1. Gestation

6.1.1. Développement utérin et fécondation de l'ovocyte

De nombreuses études ont pu montrer que l'absence de kisspeptines au niveau central entraîne une hypoplasie de l'utérus (**Seminara et al., 2003**). Cependant, le développement des glandes endométriales est principalement sous le contrôle périphérique (**Boullenger, 2017**). **León et al. (2016)**, ont ainsi mis en évidence que les glandes de l'endomètre dépendent à 75 % des kisspeptines d'origine périphérique.

Chez la femme, les kisspeptines et leurs récepteurs sont localisés dans l'épithélium glandulaire et luminal de l'endomètre, ainsi que dans les cellules épithéliales de l'oviducte (**Cejudo Roman et al., 2012**). En outre, l'expression de Kiss1 et celle de Kiss1R ont été détectées dans l'utérus de nombreuses espèces : de souris (**Zhang et al., 2014**), de rat (**Terao et al., 2004**) et de l'humain (**Cejudo Roman et al., 2012**).

En se basant sur ces différentes expériences, il a été suggéré que les kisspeptines sont nécessaires au développement correct de l'utérus et notamment des glandes endométriales. Leur production évolue au cours du cycle sexuel pour atteindre un pic lors de l'œstrus. En étant produites à la fois par les cellules de l'ampoule et de l'isthme, mais également par l'ovocyte et les cellules du cumulus oophorus, les kisspeptines participeraient à la formation d'un environnement favorable et joueraient un rôle local dans la fécondation des ovocytes par les spermatozoïdes en induisant la capacitation et l'hyperactivation de ces derniers. Ces neuropeptides pourraient aussi intervenir dans la prévention d'une implantation prématurée de l'embryon dans l'oviducte (**Gaytán et al., 2007**).

6.1.2. Nidation et placentation

La nidation est une étape essentielle dans le déroulement de la grossesse. Après la fécondation, c'est le préalable indispensable au développement du futur individu. L'embryon s'implante solidement dans la muqueuse utérine et peut poursuivre son développement. Ainsi, de nombreuses expériences ont pu démonstrées que les kisspeptines permettent l'implantation

de l'embryon dans l'endomètre maternel, en agissant sur la production de molécules nécessaires à cette étape, favorisant l'adhésion du blastocyste à la matrice extracellulaire et en stimulant les différenciations cellulaires caractéristiques de la décidualisation

Cependant, les niveaux les plus élevés d'expression de kisspeptines périphériques dans le corps ont été trouvés dans les cellules syncytiotrophoblastes du placenta (**Figure 29**). Les niveaux circulants de kisspeptines ont montré une augmentation avec la gestation chez la femme, avec des niveaux à la fin de la grossesse qui augmentent jusqu'à 7 000 fois plus que chez les témoins non gravides.

Les kisspeptines réguleraient donc la sécrétion de LIF *leukemia inhibitory factor* par l'endomètre. Cette molécule est en effet indispensable pour l'implantation (**Stewart et al., 1992**) et son administration a permis d'obtenir l'adhésion des embryons chez les souris déficientes en Kiss 1 : *Kiss1*-KO (**Calder et al., 2014**).

La placentation est également régulée par les kisspeptines produites par le syncytiotrophoblaste. Celles-ci limitent le développement excessif du placenta en diminuant l'invasion protéolytique de l'endomètre par les cellules trophoblastiques et en régulant la néovascularisation placentaire ; ceci a été prouvé par une étude menée par **Francis et al. (2014)**, qui a mis en évidence que les kisspeptines régulent l'expression de certains gènes dans les cellules trophoblastiques. Ces gènes sont notamment ceux permettant la synthèse des MMP (matrix metalloproteinases), TIMP (Tissue inhibitors of metalloproteinases) et de VEGF-A (Vascular endothelial growth factor). Ces deux derniers ont pour propriétés respectives de limiter l'activité des MMP et de favoriser l'angiogenèse.

Les kisspeptines produites par le syncytiotrophoblaste permettraient donc de limiter l'invasion du trophoblaste, en réduisant l'activité protéolytique locale et en inhibant la migration des cytotrophoblastes et donc permettraient également de réguler la formation du placenta (**Figure 27 ; Bilban et al., 2004**).

6.2. Lactation

La lactation est un processus complexe qui met en jeu différents messagers chimiques. Parmi ceux-ci, la prolactine et l'ocytocine qui ont des rôles particulièrement importants. La prolactine permet la production de lait par la glande mammaire, préalablement développée lors de la mammogenèse, en stimulant la synthèse de ses différents constituants, elle est également responsable de l'arrêt de la cyclicité qui survient durant la lactation chez certaines espèces (anoestrus de lactation). Le stimulus mécanique provoqué par la tétée est extrêmement important pour la lactation.

La sécrétion de la prolactine est contrôlée par les neurones endocriniens hypothalamiques, en particulier les neurones dopaminergiques tubéroinfundibulaires (TIDA) situés dans le noyau arqué de l'hypothalamus (ARC). Ces neurones sécrètent de la dopamine dans le système porte hypophysaire, ce qui conduit à l'activation des récepteurs de la dopamine D2 dans les cellules lactotropes hypophysaires, provoquant la suppression de l'expression du gène de la prolactine et de la sécrétion de prolactine.

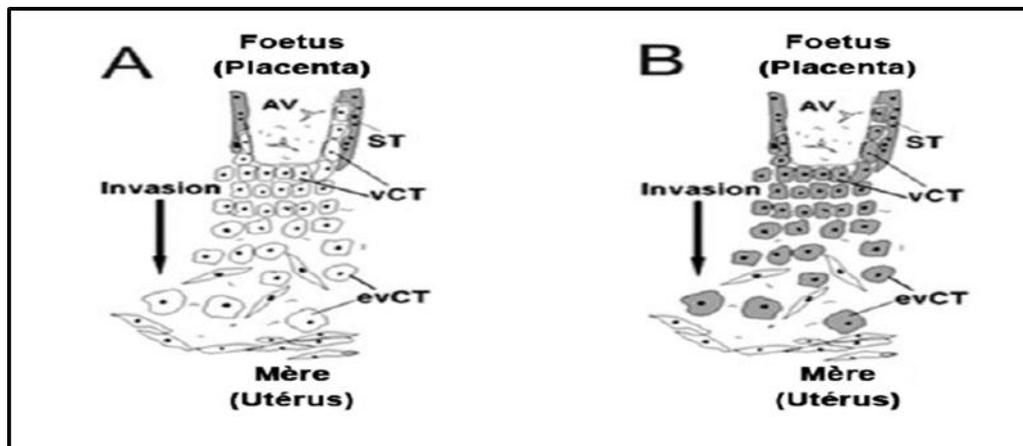


Figure 27 : Distribution de l'expression de Kiss1 (A) et Kiss1R (B) dans le trophoblaste humain (Bilban et al., 2004).

Les zones d'expression des gènes sont représentées par les plages grisées ; AV : villosité d'ancrage, evCT: cytotrophoblaste extravilloux, ST: syncytiotrophoblaste, vCT: cytotrophoblaste villositaire.

6.2.1. Interaction entre les kisspeptines et la prolactine lors de la galactopoïèse

La prolactine est une hormone protéique produite et sécrétée par l'hypophyse antérieure (Brown et al. (2014)). Sa sécrétion est contrôlée par les neurones endocriniens hypothalamiques, en particulier les neurones dopaminergiques tubéroinfundibulaires (TIDA) situés dans l'ARC.

Cependant, sa sécrétion est inhibée par la fixation de la dopamine sur leurs récepteurs D2 situés aux niveaux des cellules lactotropes hypophysaires, provoquant ainsi la suppression de l'expression du gène de la prolactine. Cette dernière interagit avec la cellule cible via des récepteurs spécifiques situés sur la membrane plasmique par conséquent, ils permettent aux neurones TIDA de détecter les niveaux de prolactine circulante et de réguler sa sécrétion (Donato et Frazao, 2016).

Lorsque la prolactine est à une concentration plasmatique élevée, elle entraîne chez l'être humain, le rat et la souris une baisse de la sécrétion de GnRH ainsi que des hormones gonadotropes et provoque alors une diminution de la cyclicité.

Il est actuellement bien établi qu'une sécrétion augmentée de prolactine chez les femmes qui allaitent peut induire une stérilité chez celles désirant un enfant. Une équipe du Kremlin-

Bicêtre à Paris, valide l'hypothèse que cette hyperprolactinémie bloque l'ovulation en inhibant la sécrétion de l'hormone hypothalamique GnRH. Comme les neurones à GnRH expriment peu le PRLR ou pSTAT5, il est donc peu probable que la prolactine modifie la fertilité en agissant directement sur les neurones à GnRH mais plutôt en modulant l'activité de l'axe gonadotrope *via* les neurones à kisspeptines. Ainsi, il a été constaté que la concentration en kisspeptines dans l'ARC baisse fortement chez la ratte en lactation (Yamada *et al.*, 2007). De plus, 86 % des neurones à kisspeptines de la RP3V et 70 % des neurones à kisspeptines de l'ARC expriment PRLR chez le rat (Kokay *et al.*, 2011) et entre 70 % et 85 % des neurones à kisspeptines de l'ARC expriment pSTAT5 en réponse à l'administration de prolactine chez le rat (Sjoeholm *et al.*, 2011 ; Araujo-Lopes *et al.*, 2014). Ainsi, la réduction de fertilité par la prolactine durant la lactation semble être due à l'inhibition des neurones kisspeptinergiques et donc de la production de kisspeptine, entraînant une diminution de GnRH et des gonadotrophines (Figure 28 ; Sonigo *et al.*, 2013).

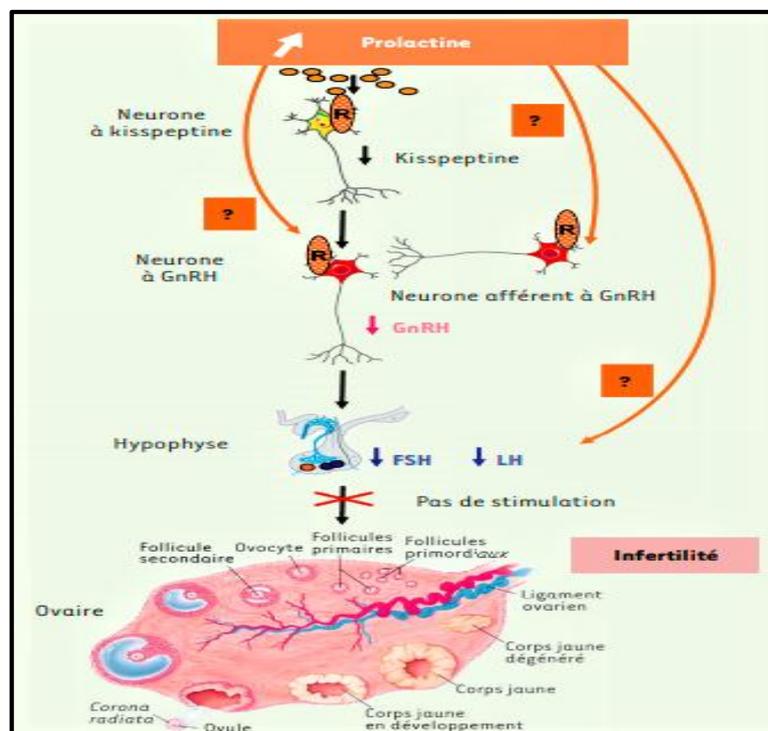


Figure 28 : Mécanismes de l'hypogonadisme induit par l'hyperprolactinémie impliquant les kisspeptines (Sonigo *et al.*, 2013).

Les taux élevés de prolactine (orange) font baisser l'expression de kisspeptine dans les neurones à kisspeptine (jaune) par le biais des récepteurs de la prolactine (R). Ceci provoque une baisse du relargage de la GnRH (rouge), conduisant à une perte du signal GnRH nécessaire à l'ovulation. Les hormones hypophysaires, FSH et LH (bleu) sont alors faiblement sécrétées. La prolactine pourrait aussi avoir des effets directs sur les neurones à GnRH et/ou les cellules gonadotropes, ou encore d'autres neurones à GnRH afférents.

En effet, la fixation de la prolactine sur ses récepteurs (PRLR) présents sur les neurones à kisspeptine de l'ARC et la RP3V inhibe l'expression du gène Kiss1, d'où résulte l'absence de

sécrétion de cette dernière et l'inhibition de l'axe gonadotrope, ceci a été prouvé par des perfusions systémiques ou intracérébroventriculaires (icv) de prolactine. D'autres études ont prouvé qu'environ 80% des neurones exprimant Kiss1 dans l'ARC expriment pSTAT5 (Protein Signal Transducers and Activators of Transcription) après administration intrapéritonéale (ip) aiguë de prolactine chez des souris femelles en diestrus (**Donato et Frazao, 2016 ; Brown et al., 2014**).

Réciproquement, les kisspeptines agissent probablement sur la sécrétion de prolactine. En effet, une étude *in vitro* menée sur des cellules adénohypophysaires bovines a montré que Kp-10 administrée à haute dose stimule la sécrétion de prolactine (**Kadokawa et al., 2008**). Cette augmentation de la prolactinémie sous l'effet des kisspeptines est accompagnée d'une baisse de la production de dopamine dans l'éminence médiane. Il se trouve aussi, qu'entre 30 % et 80 % des neurones TIDA expriment ER α et que l'action de Kp-10 sur les neurones TIDA nécessite la présence préalable d'œstrogènes (**Ribeiro et al., 2015**). Ainsi, les neurones à kisspeptines agissent sur la sécrétion de prolactine en inhibant la sécrétion de dopamine par les neurones TIDA, ce qui lève l'inhibition des cellules lactotropes de l'adénohypophyse, le tout sous contrôle oestrogénique (**Figure 29**). L'information sensorielle captée au niveau de la mamelle remonte jusqu'à l'hypothalamus via les colonnes antérolatérales de la moelle épinière et le tronc cérébral, pour finir par stimuler les neurones ocytocinergiques et inhiber les neurones TIDA : ce sont les réflexes d'éjection du lait et d'entretien de la lactation.

6.2.2. Kisspeptines et réflexe d'éjection du lait

Les kisspeptines permettent également le réflexe d'éjection du lait provoquée par une stimulation mécanique de la mamelle. Ces neuropeptides stimuleraient, directement ou indirectement, la sécrétion d'ocytocine (**Figure 30**). En effet de nombreuses expériences ont pu montrer que l'injection IV de kisspeptines entraîne une augmentation de la concentration plasmatique en ocytocine (**Kotani et al. 2001**), en revanche cet effet n'est cependant pas reproduit en réponse à l'administration en ICV de Kp-10, ce qui suggère un effet périphérique indirect des kisspeptines sur la sécrétion d'ocytocine chez la ratte non gestante.

D'autre part, chez la ratte gestante, les neurones à ocytocine répondent fortement à l'administration centrale de kisspeptines (**Scott et Brown, 2011 ; Seymour et al., 2017**) due à la densification des axones kisspeptinergiques dans la zone périnucléaire (ZP) du noyau supraoptique (SON) durant la gestation.

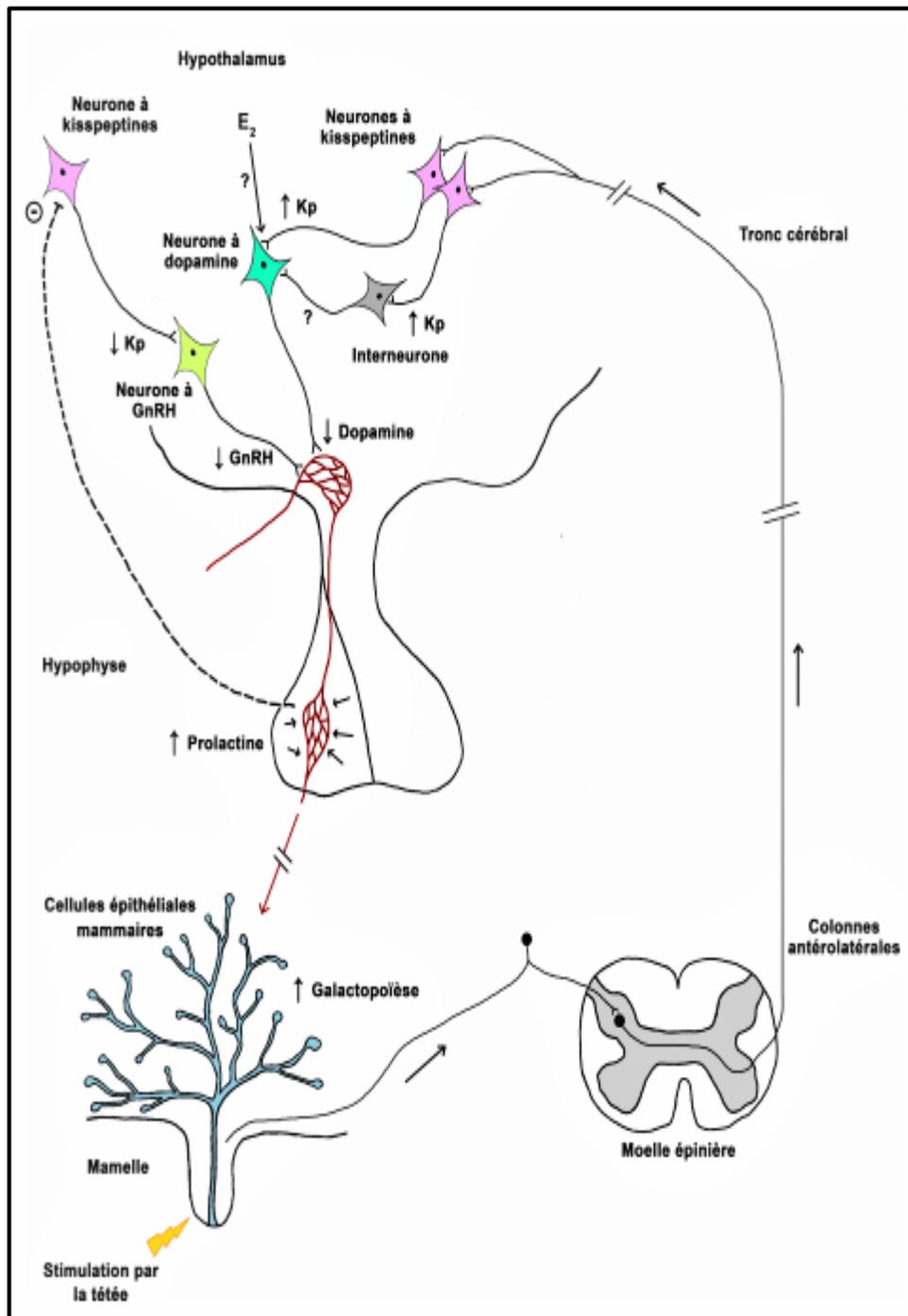


Figure 29 : Kisspeptines dans la galactopoïèse (Boullenger, 2017).

La tétée stimule la production de lait grâce à l'augmentation de prolactine. Ceci se fait via les neurones à kisspeptines (rose) qui inhibent les neurones TIDA (vert) directement ou indirectement par des interneurons (gris). Les œstrogènes sont nécessaires à l'action des kisspeptines sur les neurones TIDA, mais le mécanisme d'action est inconnu. Une fois sécrétée, la prolactine stimule la production de lait par les cellules épithéliales mammaires. Elle limite également la sécrétion de la GnRH en inhibant les neurones kisspeptinergiques.

Cependant, bien que Kiss1R soit exprimé dans la ZP et le noyau paraventriculaire (PVN), il n'a pas de modification de la quantité d'ARNm de Kiss1R entre l'état de gestation et de non gestation. Il est donc possible que l'augmentation de l'excitation des neurones à ocytocine par les kisspeptines ne se fasse pas par une augmentation de leur sensibilité à celle-ci (**Seymour et al., 2017**). De plus, la ZP contient des neurones GABAergiques et glutamatergiques et il a été montré que, lors de la lactation, l'activité des neurones GABA passe de l'inhibition à l'excitation des neurones à ocytocine (**Lee et al., 2015**).

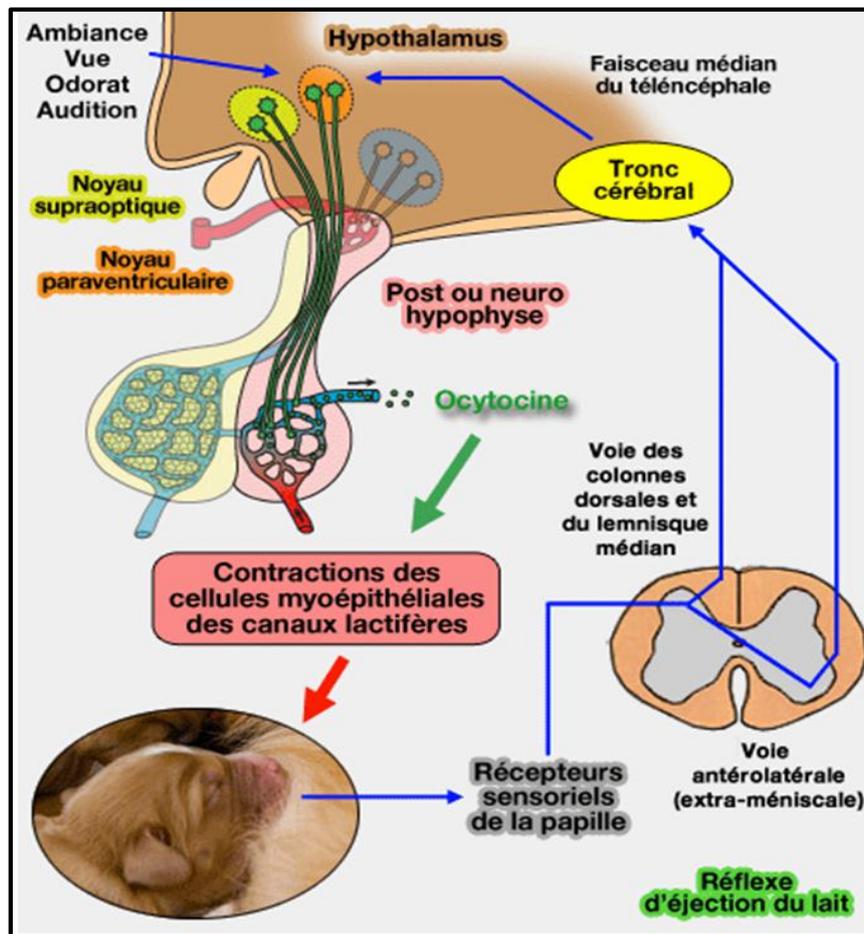


Figure 30 : réflex d'éjection du lait.

7. Kisspeptines et activité des gonades chez les espèces photopériodiques

Les espèces saisonnières sont caractérisées par des épisodes réguliers d'activation/inactivation de leur système reproducteur et il est bien établi que les variations photopériodiques de la durée du pic nocturne de mélatonine synchronisent la reproduction chez des espèces saisonnières comme le hamster syrien ou le mouton.

Chez les mammifères, le gène Rfrp (RFamide-Related Peptide) code deux peptides, Rfrp-1 et Rfrp-3, qui comme les kisspeptines, appartiennent à la famille des neuropeptides : RF-amides. Chez le hamster syrien, sexuellement actif (photopériode longue), le gène Rfrp est exprimé dans la région médiobasale de l'hypothalamus, région qui possède des récepteurs de la mélatonine. Plusieurs auteurs affirment que le Rfrp est inhibé par la mélatonine chez plusieurs espèces saisonnières, telles que les ovins et les hamsters (**Boullenger, 2017**). Chez le hamster syrien, Rfrp provoque une augmentation de l'expression de Kiss1 dans l'ARC et donc l'activation de l'axe gonadotrope (**Ancel et al., 2012**), alors qu'il exerce un effet inverse chez les ovins (**Sari et al., 2009**).

Par ailleurs, le gène Dio2 codant la déiodinase 2, enzyme clé de la synthèse de la forme active de l'hormone thyroïdienne : tri-iodothyronine (T3) à partir de la thyroxine (T4), semble jouer un rôle dans la régulation de l'activité des neurones à kisspeptines. Pour rappel, la déiodinase 2 est exprimée dans un type cellulaire particulier à la base du troisième ventricule, les tanocytes, où elle régule localement la production de T3.

En période de jours longs, la mélatonine est de faible concentration et rend possible la production de TSH par les cellules thyrotropes de la pars tuberalis. La TSH favorise l'expression de DIO2 dans les tanocytes, ce qui permet la conversion de T4, issue des capillaires sanguins ou du liquide cérébro-spinal, en T3. L'augmentation locale en T3 inhibe la reproduction, probablement *via* la stimulation des neurones à Rfrp qui ont une activité inhibitrice des neurones à kisspeptines chez la brebis (**Boullenger, 2017**).

Des études ont montré que chez les moutons, espèces photopériodiques, l'expression des kisspeptines dans l'ARC et l'APO chute lorsque la photopériode augmente et elle remonte lors de la réduction de la photopériode (**Smith et al., 2008**). Cependant, chez le rat, espèce dont la reproduction n'est pas modulée en fonction des saisons, l'expression de Kiss1 reste constante et élevée en photopériode longue et courte (**Revel et al., 2006**). Il est probable que ce soit également le cas chez l'humain, dont l'activité de reproduction ne dépend pas directement de la photopériode.

Des chercheurs ont examiné si les kisspeptines pouvaient être impliquées dans le contrôle saisonnier de la reproduction chez le hamster syrien. Le Kiss1 est exprimé dans des neurones de l'ARC et de l'AVPV du hamster syrien mâle et femelle, avec un dimorphisme sexuel au niveau de l'AVPV. Lorsque les animaux sont exposés pendant 8 semaines à une photopériode courte, l'activité reproductrice est inhibée et l'expression de Kiss1 est fortement réduite dans l'ARC et l'AVPV.

Néanmoins, la diminution d'expression de *Kiss1* est due à des mécanismes différents dans les deux structures. Dans l'ARC, l'inhibition est directement liée à l'augmentation de la production de mélatonine en photopériode courte et n'est pas due à l'effet rétroactif inhibiteur des hormones sexuelles. Dans l'AVPV, en revanche, la diminution de l'expression de *Kiss1* en photopériode courte ne dépend pas directement de la mélatonine mais de la levée de l'effet rétroactif positif des hormones gonadiques. Ainsi, en photopériode courte, la mélatonine inhibe l'expression de *Kiss1*, de façon directe dans l'ARC et indirecte dans l'AVPV, via une diminution des taux circulants d'hormones sexuelles (**Figure 31 ; Simonneaux et al., 2009**). L'injection de mélatonine en photopériode longue inhibe l'activité testiculaire, tandis que l'ablation de la glande pinéale en photopériode courte stimule l'activité reproductrice (**Simonneaux et al., 2009**).

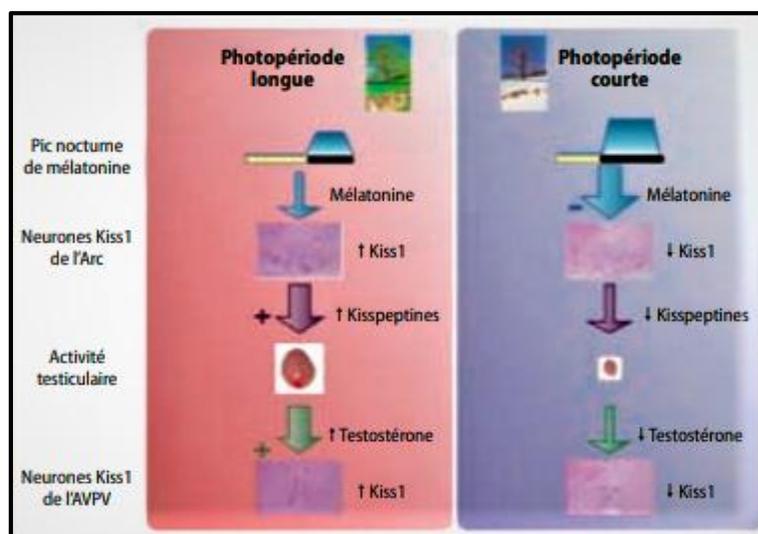


Figure 31 : Kisspeptines, comme intermédiaires dans la régulation photopériodique de l'activité reproductrice du hamster syrien (Simonneaux et al., 2009).

Ainsi, la mélatonine en photopériode courte inhibe l'expression de *Kiss1* dans l'ARC, ce qui inactive l'axe gonadotrope et réduit l'activité testiculaire. La diminution des taux circulants de testostérone lève l'effet rétroactif positif de cette hormone sexuelle sur l'expression de *Kiss1* dans l'AVPV (**Simonneaux et al., 2009**).

Chapitre IV :
Troubles de reproduction liés aux kisspeptines et
pharmacologie des kisspeptines

Dés lors de la découverte des kisspeptines, leur utilisation dans certaines pathologies touchant la fonction reproductrice humaine comme animale, s'est faite de manière concomitante à la découverte de leur rôle dans la fonction de reproduction.

1. Kisspeptines et troubles de reproduction

1.1. Kisspeptines dans l'hypogonadisme hypophysaire et puberté précoce centrale

1.1.1. Dans le cas de l'hypogonadisme hypophysaire

L'hypogonadisme hypophysaire est dû à un déficit en gonadotrophines, qui est provoqué, soit par un défaut de synthèse, de libération ou bien de l'effet de la GnRH endogène.

Il existe deux formes de l'hypogonadisme hypophysaire : des formes associées et des formes isolées. 30% des cas de ces dernières sont liés à des anomalies génétiques qui touchent différents gènes y compris ceux codant pour GnRH et son récepteur, la neurokinine B et son récepteur (TAC3 et TACR3) et enfin, ceux codant pour les kisspeptines et leurs récepteurs (KISS1 et KISS1R) (Topaloglu et Kotan, 2016).

Les majorités des cas observés d'hypogonadisme hypophysaire ne sont pas liés aux mutations du gène codant pour la kisspeptine et son récepteur vue que cette dernière représente seulement 3 à 5% de ces cas. En 2017, 16 mutations seulement concernant Kiss1/Kiss1R ont été identifiées comme étant responsables de cette maladie elles sont reprises dans le tableau 2. La plupart de ces mutations entraînent une modification de la structure du récepteur des kisspeptines, ce qui empêche l'activation de la cascade de signalisation intracellulaire. Il peut également arriver que ce soit la présentation des récepteurs à la surface des cellules ou bien l'affinité des kisspeptines qui soient altérés.

De nombreuses anomalies ont été observées chez les patients atteints par cette maladie y compris des défauts de développement des organes génitaux et des caractéristiques secondaires masculines et féminines. De plus, la sécrétion des stéroïdes sexuels et des gonadotrophines reste à un niveau basal et afin de rétablir les concentrations, des injections d'hormones sont pratiquées, notamment de la testostérone, des œstrogènes ou des analogues de la GnRH et des gonadotrophines (Brioude et al., 2013 ; Demirbilek et al., 2015).

1.1.2. Dans le cas de la puberté précoce centrale

L'origine centrale de la puberté précoce est démontrée par l'élévation des gonadotrophines après stimulation par la GnRH (Beauloye, 2016), elle se définit par le développement des caractères sexuels secondaires avant l'âge de 8 ans chez les filles et 9 ans chez les garçons en raison d'une réactivation prématurée de l'axe hypothalamo-hypophysaire.

Tableau 2 : Mutations de KISS1R et KISS1 entrainant un hypogonadisme hypophysaire isolé normosmique chez l'homme (Boullenger, 2017).

BEC : boucle extracellulaire, BIC : boucle intracellulaire, HTM : hélice transmembranaire, NC : non connue.

Gène	Mutation	Conséquence protéique	Localisation	Conséquence fonctionnelle	Référence
<i>KISS1R</i>	c.443T>C	p.Leuc148Ser	BIC-2	Défaut d'activation de la protéine G	(Seminara <i>et al.</i> , 2003) (Wacker <i>et al.</i> , 2008)
	c.991C>T	p.Arg331*	Extrémité C-terminale	Défaut d'activation de la protéine G	(Seminara <i>et al.</i> , 2003)
	c.1195T>A	p.*399Arg	Extrémité C-terminale	Défaut d'activation de la protéine G	(Seminara <i>et al.</i> , 2003)
	c.305T>C	p.Leuc102Pro	BEC-1	Défaut d'expression membranaire de KISS1R et d'activation de la protéine G	(Tenenbaum-Rakover <i>et al.</i> , 2007)
	c.815T>C	p.Phe272Ser	HTM-6	Défaut d'expression membranaire de KISS1R et d'activation de la protéine G	(Nimri <i>et al.</i> , 2011)
	IVS4-13_+142del 155	p.247*	BIC-3	NC	(de Roux <i>et al.</i> , 2003)
	IVS2-4_-2delGCins ACCGGCT	Protéines aberrantes	Site d'épissage de l'intron 2	NC	(Teles <i>et al.</i> , 2010)
	c.667T>C	p.Cys223Arg	HTM-5	Défaut de mobilisation calcique	(Semple <i>et al.</i> , 2005)
	c.891G>T	p.Arg297Leuc	BEC-3	Défaut de mobilisation calcique	(Semple <i>et al.</i> , 2005)
	c.1101_1102insC	p.Arg333Profs	Extrémité C-terminale	NC	(Lanfranco <i>et al.</i> , 2005)
	c.1079A>T	p.His360Leuc	Extrémité C-terminale	NC	(Cerrato <i>et al.</i> , 2006)
	c.969C>A	p.Tyr323*	HTM-7	NC	(Demirbilek <i>et al.</i> , 2015)
	c.1023_1024insCGCC GGCCC	p.Arg342_Pro343insProArg Arg	Extrémité C-terminale	Défaut d'expression membranaire de KISS1R	(Chevrier <i>et al.</i> , 2013)

La puberté précoce centrale (PPC) peut être due à de nombreuses anomalies telles que des tumeurs hypothalamiques, mais le plus souvent est idiopathiques (PPCI) (2/3 des cas) et touche une large majorité de filles (15-20 filles pour un garçon touché).

Jusqu'à 2017, peu d'anomalies génétiques en lien avec la PPCI ont été identifiées, cependant des mutations ont été trouvées dans les gènes Kiss1 et Kiss1R (**Tableau 3**).

Tableau 3 : Mutations de KISS1 et KISS1R entraînant une puberté précoce centrale idiopathique chez l'homme (Boullenger, 2017).

Gène	Mutation	Conséquence protéique	Localisation	Conséquence fonctionnelle	Référence
<i>KISS1R</i>	c.1157C>G	p.Arg386Pro	Extrémité C-terminale	Activation prolongée de KISS1R et baisse du taux de dégradation	(Teles <i>et al.</i> , 2008) (Bianco <i>et al.</i> , 2011)
<i>KISS1</i>	c.369C>T	p.Pro74Ser	Extrémité N-terminale de	Résistance à la dégradation	(Silveira <i>et al.</i> , 2010)

En 2006, Luan et ses collaborateurs ont démontré, que la PPCI peut être causé par des mutations touchant les séquences fonctionnelles du gène Kiss1R, mais aussi elle peut être liée à des séquences non transcrites mais qui sont statistiquement associée à la PPCI. Cette mutation entraîne une modification de la transcription de *c-fos*, qui à son tour provoque un changement dans la transcription de Kiss1R conduisant à la prolongation de l'activation du récepteur par les kisspeptines et donc à la puberté précoce centrale.

Depuis, de nombreux autres polymorphismes qui touchent le gène Kiss1R ont été décrits comme étant des mutations qui contribuent au PPCI, cependant certaines n'ont pas été directement liées, mais pourraient éventuellement intervenir dans la pathologie de la maladie (**Ko *et al.*, 2011 ; Oh *et al.*, 2017**).

Enfin, les kisspeptines pourraient également servir d'outil dans le diagnostic et le suivi du traitement de la puberté précoce centrale. En effet, plusieurs études ont montré que la concentration plasmatique en kisspeptines est significativement plus élevée chez les patients atteints de PPCI que chez les individus non atteints et que cette même valeur diminue fortement suite à la mise en place d'un traitement contre la puberté.

1.2. Kisspeptines et le syndrome des ovaires polykystiques

Le syndrome des ovaires polykystiques (SOPK) est une maladie très répandue qui touche entre 5 à 15% des femmes en âge de procréer. Il est caractérisé par un dysfonctionnement ovulatoire, une hyperandrogénie. Ce syndrome s'accompagne fréquemment d'une ou plusieurs comorbidités qui sont : l'obésité, l'insulinorésistance, les maladies cardiovasculaires, certains cancers de l'appareil reproducteur et la dépression.

Les femmes atteintes de SOPK présentent généralement une sécrétion de gonadotrophines dérégulée avec un excès d'androgènes qui consiste un des points clés de cette maladie, qui a pour principale conséquence l'augmentation des concentrations plasmatiques de LH, et des rapports LH-FSH perturbés (**Figure 34**), ce qui contribue à la formation de kystes dans les ovaires (**Figure 32**).

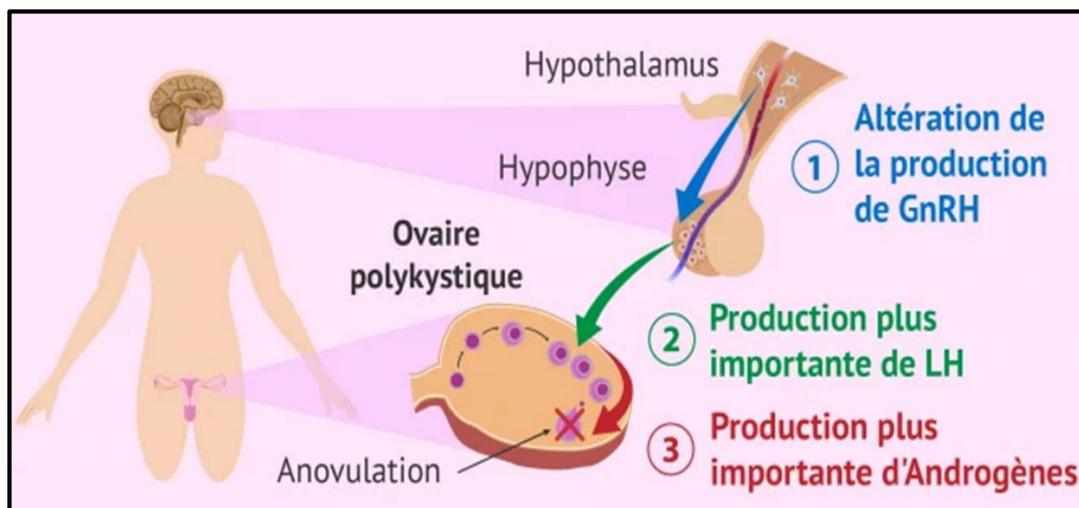


Figure 32 : Schéma des causes du syndrome des ovaires polykystiques.

Malgré les divers tableaux cliniques que peuvent présenter les patientes atteintes de ce syndrome, les chercheurs ont suspecté que l'altération au niveau du système des kisspeptines pourrait bien être la cause de ce syndrome (**Moore et Campbell, 2017**).

Cette hypothèse a été basée sur le fait que plusieurs expériences ont pu démontrer que l'exposition périnatale à des doses élevées de testostérone perturbe la mise en place des réseaux neuronaux kisspeptinergiques, ainsi il a été montré que chez un modèle animal où des brebis exposées *in utero* à de la testostérone, les neurones KNDy de l'ARC ont subi des modifications morphologiques et organisationnelles (**Ahn et al., 2015**). Ces neurones sont moins interconnectés, se projettent moins sur les neurones à GnRH et possèdent moins de récepteurs à la NKB.

Afin de démontrer que les neurones à kisspeptines interviennent dans le rétrocontrôle des stéroïdes sexuelles sur l'axe hypothalamo-hypophysaire, des expériences ont été faites sur des modèles animaux, où il ont remarqué que la baisse de progestérone provoquée par le déséquilibre en LH et FSH entraîne une stimulation du système kisspeptinergique due à la baisse du rétrocontrôle négatif, d'autre part, l'inhibition de l'aromatase, a mené à l'observation d'une augmentation de l'expression de Kiss1r dans la RP3V, ce qui est compatible avec une potentielle augmentation de la stimulation des neurones à GnRH (**Kauffman et al., 2015**). Ces résultats montrent que le lien entre les kisspeptines et l'effet des stéroïdes sexuels dans cette maladie forme un cercle vicieux.

1.3. Kisspeptines et la maladie trophoblastique gestationnelle

La maladie trophoblastique gestationnelle (MTG) est une prolifération de tissu trophoblastique chez la femme enceinte ou récemment fécondée. Les manifestations peuvent comprendre une augmentation excessive de la taille de l'utérus, des vomissements, des hémorragies vaginales et une pré-éclampsie, surtout en début de grossesse.

La MTG comprend plusieurs tumeurs rares qui surviennent dans l'utérus et qui prennent naissance dans les cellules qui forment le placenta durant la grossesse. Cependant, la plupart des cas de MTG ne sont pas cancéreux. On estime que les formes cancéreuses de MTG représentent moins de 1 % de tous les cancers de l'appareil reproducteur féminin.

Les niveaux d'expression des récepteurs des kisspeptines ont augmenté dans le tissu placentaire des patientes présentant la MTG par rapport au tissu placentaire normal. En outre, la kisspeptine plasmatique est augmentée chez les patientes atteintes de néoplasie trophoblastique gestationnelle et des chutes pendant et après la chimiothérapie. La fonction précise des kisspeptines dans ces cas n'est pas claire, bien qu'il ait été supposé qu'elle pourrait agir pour réguler l'invasion des cellules trophoblastiques (**Bilban et al., 2004**). Ainsi, plusieurs études ont procédé à l'étude du lien potentiel entre les taux de kisspeptine et un dysfonctionnement placentaire tel que la pré-éclampsie, où ils ont observé que le taux de kisspeptine sérique était diminué entre 16 et 20 SA et il est inversement corrélé à la gravité de la maladie chez ces femmes pré-éclamptiques (**Ziyaraa et al., 2016**).

En **2012**, **Park** et son équipe ont d'abord suggéré un lien entre les kisspeptines et la fausse couche. Ils ont observé que les niveaux d'expression des kisspeptines placentaires sont plus faibles chez les femmes avec des fausses couches récurrentes par rapport au tissu placentaire dans les grossesses arrêtées électivement, bien qu'aucune correspondance pour l'âge

gestationnel n'ait été réalisée. De plus, les taux plasmatiques de kisspeptine-10 maternelles sont plus faibles chez les femmes présentant des saignements en début de grossesse.

D'autres études ont montré que les niveaux des kisspeptines plasmatiques étaient significativement plus faibles au cours du premier trimestre de grossesse chez les femmes qui ont subi une fausse couche par rapport à des grossesses saines, et ont suggéré que les kisspeptines peuvent fournir un nouveau marqueur potentiel pour identifier les femmes enceintes asymptomatiques présentant un risque accru de fausse couche (**Jayasena et al., 2014 ;Hu et al., 2019**).

2.4. Kisspeptines comme cible pour les perturbateurs endocriniens

Les perturbateurs endocriniens sont des substances chimiques, d'origine anthropique ou naturelle, susceptibles de générer des effets nocifs sur la santé humaine et animale par le biais de leurs propriétés hormonales. Ces effets sont multiples et ils interfèrent avec le fonctionnement des hormones (synthèse, transport, action, métabolisme) mais également avec l'information génétique (modification de la séquence et de l'expression des gènes) et épigénétique, comme la méthylation de l'ADN, la modification de la chromatine et de l'expression des gènes (**Hampl et al., 2016**).

Les perturbateurs endocriniens peuvent interagir avec l'organisme en imitant l'action d'une hormone naturelle, entraînant ainsi la réponse due à cette hormone (effet mimétique ou agoniste), mais peuvent aussi empêcher une hormone de se fixer à son récepteur et entraver ainsi la transmission du signal hormonal (effet de blocage ou antagoniste). Ces molécules peuvent ainsi perturber la production, la dégradation, la régulation des hormones ou le transport d'une hormone dans l'organisme.

Vu que les perturbateurs endocriniens ont un effet néfaste sur la santé de la reproduction (**Hollander, 1997**), et étant donné que ces molécules peuvent se fixer sur les récepteurs aux œstrogènes (**Adams, 1995**), et vu le rôle important des kisspeptines dans la reproduction, cela a conduit les chercheurs à étudier les effets de ces composés, qui sont proches des œstrogènes, sur le système kisspeptinergique.

Effectivement, les études réalisées par **Bateman et Patisaul, en 2008**, ont démontré que les femelles de rats exposées à un phytoestrogène, la génistéine, du Bisphénol A (BPA) ou de l'œstradiol durant les premiers jours de vie, correspondant à la période périnatale, présentent une baisse de la densité de fibres kisspeptinergiques dans la RP3V et une diminution de leurs projections sur les neurones à GnRH. Ces modifications de l'organisation neuronale perdurent à l'âge adulte et les femelles présentent une puberté et un anoestrus précoces ainsi qu'une

perturbation du rétrocontrôle négatif exercé par les stéroïdes sexuels (**Losa-Ward et al., 2012**). La mycotoxine zéaralénone, autre molécule, provoque quant à elle une puberté précoce centrale chez les rats femelles exposés en période prépubère. Ceci est accompagné par une augmentation importante et précoce de la sécrétion de GnRH, de l'expression de Kiss1 et Kiss1R dans l'hypothalamus ainsi que des projections des neurones à kisspeptines sur les neurones à GnRH (**Kriszt et al., 2015 ; Yang et al., 2016**).

Chez la brebis in-utero, l'exposition à ces perturbateurs engendre une réduction de l'expression de kiss1 essentiellement dans l'ARC et l'APO (**Bellingham et al., 2009**).

Dans le cadre génétique, il a été démontré que le BPA affecte le mécanisme de régulation de l'expression génétique de kiss1, en diminuant l'expression de certains gènes qui inhibent l'expression du gène kiss1 (**Heger, 2014**), ce qui explique l'augmentation du nombre de neurones à kisspeptines dans la RP3V chez des rongeurs adultes qui ont été traités par ce composé en période périnatale (**Bai et al., 2011 ; Naulé et al., 2014**).

Etant-donné que les perturbateurs endocriniens peuvent présenter des effets à faible ou forte dose, et aussi comme d'après de certaines expériences ils sont capables d'interagir avec les afférences excitatrices ou inhibitrices des neurones à kisspeptines, en diminuant ou augmentant leurs nombres, les effets des différentes molécules sur le système kisspeptinergique sont donc difficiles à cerner.

2. Pharmacologie des kisspeptines

Le développement d'agonistes et d'antagonistes superactifs de différents peptides neuroendocriniens, tels que les kisspeptines, ont fourni des outils puissants pour interroger le contrôle physiologique de divers systèmes endocriniens et pour identifier des agents thérapeutiques potentiels pour leur intervention dans une gamme diversifiée des pathologies (**Tableau 4**).

Principalement dans le développement d'agonistes et d'antagonistes de GPR54, deux approches peuvent être mises en œuvre. La première est la modification de la structure peptidique native pour améliorer les activités agonistes ou générer des propriétés antagonistes, ceci est réalisé par l'augmentation de l'affinité de liaison aux récepteurs dans le but de stabiliser le peptide, en générant des interactions peptidiques supplémentaires et aussi améliorer la demi-vie in vivo, qui est réalisée grâce à la substitution d'un acide aminé qui fait diminuer la sensibilité à la dégradation protéolytique ou bien en améliorent la liaison aux protéines plasmatiques.

Tableau 4 : Possibles applications thérapeutiques des ligands du récepteur Kiss1R (Beltramo et Dufourny, 2015).

Pathologie ou traitement	Type de substance
PMA (procréation médicale assistée)	Agoniste
Contraception	Antagoniste
Puberté retardée	Agoniste
Puberté précoce	Antagoniste
Maladies liées à l'hypogonadisme hypogonadotrope (par exemple aménorrhée hypothalamique, mutation génétique, etc)	Agoniste
Cancers hormono-dépendants (exemple cancer de la prostate)	Antagoniste/Agoniste (désensibilisation)

L'inconvénient des analogues peptidiques est la nécessité de les administrer par voie parentérale. Cependant, cela est largement compensé par la préparation de dépôts à libération lente qui peuvent être efficaces même pendant des mois après une seule administration.

La deuxième approche consiste à étudier la pharmacocinétique et la dynamique de ces molécules (Pinilla *et al.*, 2012).

Depuis la découverte de la première molécule d'intérêt, qui n'est autre que le décapeptide terminal de la molécule kisspeptine : Kp-10, en 2001, qui correspond à un fragment de plus petite taille avec une activité biologique (Kotani *et al.*, 2001; Ohtaki *et al.*, 2001). En plus de présenter une grande affinité pour Kiss1R, sa puissance pharmacologique est trois à dix fois plus importante que Kp-54. Etant donné son approche médicale potentielle, les recherches se sont concentrées sur cette molécule (Ohtaki *et al.*, 2001).

Comme cité dans le 2^{ème} chapitre, Les derniers acides aminés positionnés à l'extrémité C-terminale des kisspeptines sont indispensables à l'activité de la molécule. Grâce à la relation structure activité des résidus composant la kisspeptine, les chercheurs ont pu synthétiser de nombreux analogues avec des activités agonistes ou antagonistes.

Plusieurs applications dérivées de l'utilisation d'agonistes ou d'antagonistes des kisspeptines sont envisageables chez les animaux (Tableau 5). La maîtrise de la reproduction chez les animaux de rente est un point central dans la gestion des élevages.

Tableau 5 : Possibles applications vétérinaires des ligands du Kiss1R chez les mammifères (Beltramo et Dufourny, 2015).

	Application	Espèce cible	Type de substance
Animaux domestiques	Reproduction en contre-saison	Brebis et chèvre Cerf (<i>Cervus elaphus</i>)	Agoniste
	Synchronisation de l'ovulation	Brebis et chèvre	Agoniste
	Stimulation des mâles	Ruminants	Agoniste
	Maîtrise de l'ovulation	Bovins	Agoniste
	Castration	Porc, chien et chat	Antagoniste/ Agoniste (désensibilisation)
Animaux sauvages en captivité	Stimulation de la reproduction	Espèces et sous-espèces en voie de disparition (par exemple les cervidés)	Agoniste
	Inhibition du rut	Espèces dangereuses pendant la saison du rut (par exemple éléphant)	Antagoniste

2.1 Agonistes des kisspeptines

En 2006, Niida et ses collaborateurs ont mis en évidence un pentapeptide avec une activité agoniste équivalente à celle de KP-10. Le principe de l'étude était de remplacer l'acide aminé Phe54 par un tryptophane et en substituant Phe50 et l'extrémité N-terminale par différents radicaux.

Cette recherche a été poursuivie par Tomita et son équipe en 2008, et avait pour but d'améliorer la stabilité *in vivo* des pentapeptides et atteindre une demi-vie de 38h pour l'analogue FTM145, obtenu par la substitution Gly51 et Leuc52 (Séquence cible des MMP) par un dipeptide.

Par ailleurs, le remplacement dans la KP-10 de Tyr45 par son énantiomère dextrogyre aboutit à la synthèse d'un nouvel agoniste ([dY]1 KP-10), caractérisé par sa faible affinité au Kiss1R *in vitro* par rapport à KP-10 et une importante puissance pharmacologique *in vivo* (Curtis et al., 2010).

Enfin, en 2012, Asami et son équipe suivent le même principe, en remplaçant les résidus Tyr45, Trp47, Arg53 et Gly51 par leurs énantiomères, des formes modifiées ou des radicaux différents, aboutissent à deux nouvelles molécules à activité agoniste, la TAK-448 et TAK-683 (Figure 33) qui sont stables *in vivo*. En 2017, seul le peptide TAK-448 est commercialisé, à des fins de recherche.

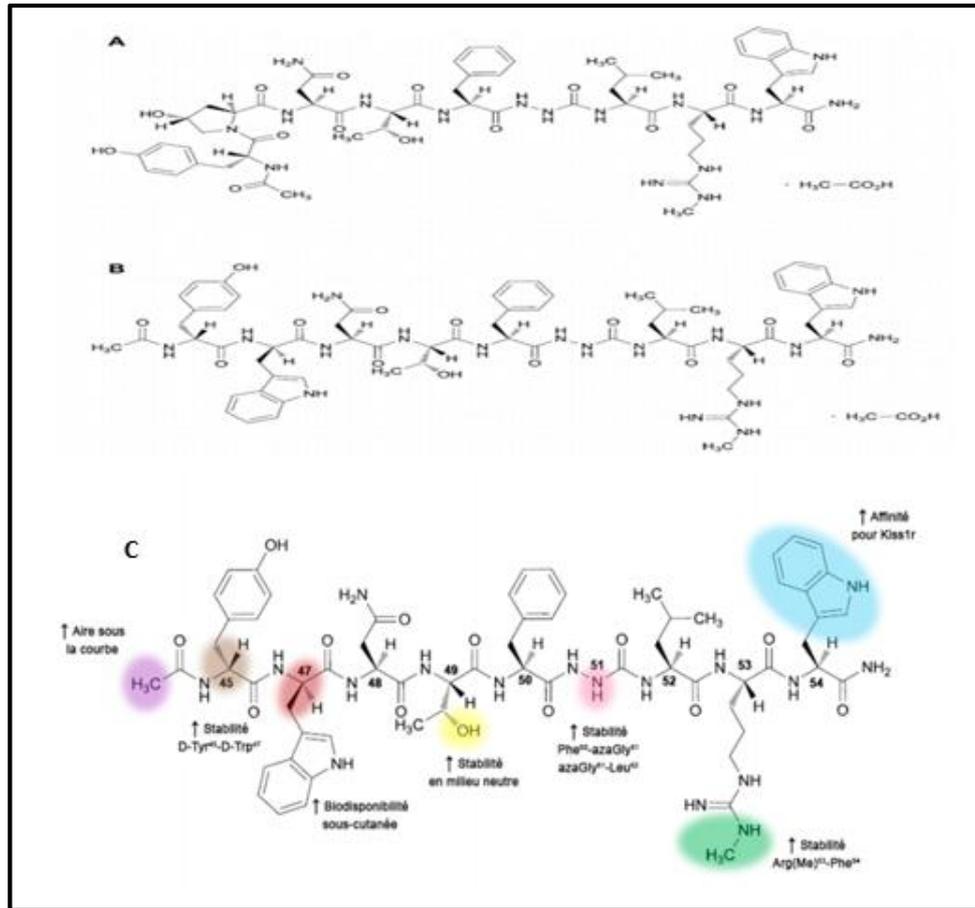


Figure 33 : Structure de l'agoniste TAK-448 (A, C) et TAK-683 (B). (C) modifications apportées par rapport à KP-10 et conséquences pharmacocinétiques (Asami et al., 2012). Violet : acétylation de D-Tyr45, marron : substitution de L-Tyr45 par D-Tyr45, rouge : substitution de L-Trp47 par D-Trp47, jaune : substitution de Ser49 par une thréonine, rose : substitution de Gly51 par une azaglycine, vert : méthylation d'Arg53, bleu, substitution de Phe54 par un tryptophane. L'asparagine en position 46 a été éliminée pour augmenter l'activité de la molécule.

Dans le but de démontrer que la Kp-54 a deux effets inverses, une expérience a été faite chez des hommes et des femmes sains, en administrant la Kp-54 d'une façon ponctuelle. Le résultat était une augmentation de la sécrétion de LH, FSH et des stéroïdes sexuels chez les deux sexes. Par contre, l'administration chronique de cette molécule induit l'effet inverse, voire même la suppression de la sécrétion de GnRH et des gonadotrophines (Seminara et al., 2006 ; Jayasena et al., 2009).

Les molécules analogues des kisspeptines, TAK-448 et TAK-683, sont-elles aussi capables d'induire les mêmes effets de stimulation puis de tachyphylaxie (désensibilisation brutale suite à l'administration répétée de la molécule). En effet, chez l'animal, ces molécules induisent à court terme une stimulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire plus importante

que celle obtenue avec la Kp-54. Lors d'administration chronique de ces deux analogues, les effets sont inversés, de façon comparable à ceux observés avec la Kp-54.

Dans le domaine de l'élevage, la maîtrise de la reproduction est un enjeu important, en vue d'optimiser la disponibilité des produits, tels que la viande, le lait ou ses dérivés. En **2014 Beltramo et Dufourny** ont mené une étude dans le but d'induire et de synchroniser l'ovulation chez la femelle bovine, (**Tableau 5**) en développant des composés dérivés de la KP-10 qui présentent une durée d'action prolongée et maîtrisée dans l'organisme, tout en conservant des propriétés de dégradabilité dans l'environnement.

En outre, il a été récemment découvert que le MVT-602 (anciennement appelé TAK-448) a un potentiel thérapeutique dans le traitement des troubles de reproduction chez la femme (**Abbara et al., 2020**). En effet, des études faites par cette équipe, ont pu aboutir à quelques résultats : Le MVT-602 et le KP54 ont tous deux induit une amplitude de pic LH similaire, cohérente avec leur mécanisme d'action analogue *via* la stimulation de Kiss1R sur les neurones hypothalamiques GnRH.

Il a été noté que, l'injection continue à haute dose de cet agoniste peut induire une tachyphylaxie, qui peut être rétablie par une administration peu fréquente (par exemple, tous les 2 à 3 jours) de faibles doses.

2.2. Antagonistes des kisspeptines

L'étude des acides aminés impliqués dans l'activité de KP-10 et son affinité envers Kiss1R a permis de développer des molécules antagonistes des kisspeptines. La première molécule qui a été découverte en 2009, est le peptide 234 (**Roseweir et al., 2009**), synthétisé en substituant Tyr45 par une alanine dextrogyre acétylée, Ser49 par une glycine et Leu52 par un tryptophane dextrogyre. Les propriétés antagonistes du composé 234 ont été documentées dans une variété d'espèces, y compris le singe et le rat.

En 2010, ce peptide a été amélioré afin qu'il soit plus actif *in vivo*, par l'ajout d'une séquence pénétratine (Arg-Arg-Met-Lys-Trp-Lys-Lys-NH₂), attachée *via* une tyrosine à l'extrémité N-terminale du peptide 234. Cette manipulation a permis d'aboutir un nouvel analogue qui est le peptide 271 (**Pineda et al., 2010**).

Cet analogue, inhibe *in vitro* les effets de l'activation de Kiss1R de près de 93 %. En effet, il inhibe l'élévation de LH induite par l'administration de Kp-10 et une puberté tardive a été aussi observée (**Roseweir et al., 2009**). Ces effets ont été aussi observés lors de l'administration de l'antagoniste 271 chez la brebis et le rat (**Pineda et al., 2010**).

Kobayashi et son équipe, en 2010, ont pu synthétiser de nouvelles molécules non peptidiques de petites tailles, qui sont la 9I et 15a, caractérisées par leur capacité d'inhiber la Kp-10 (**Figure 34**).

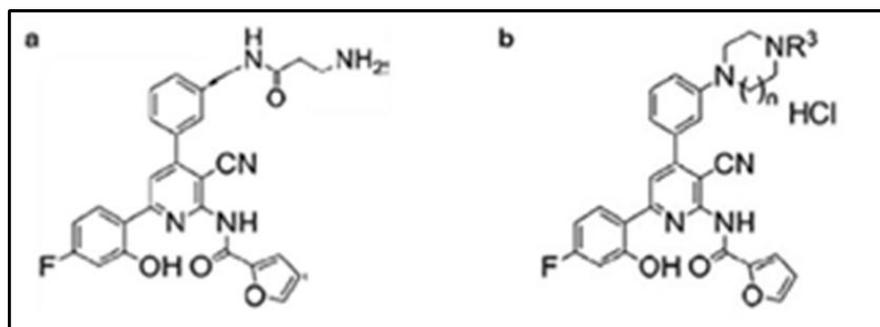


Figure 34 : Structure biochimique des molécules 9I et 15a (Kobayashi et *al.*, 2010).

(a) : molécule structurelle de 9I et (b) : molécule structurelle de 15a.

Des études chez le rat castré ont montré que le composé 15a est également capable de réduire, fortement, la concentration plasmatique en LH (**Figure 35**) (**Kobayashi et *al.*, 2010**).

Cependant, en 2017, seul le peptide 234 est commercialisé et uniquement à des fins de recherche.

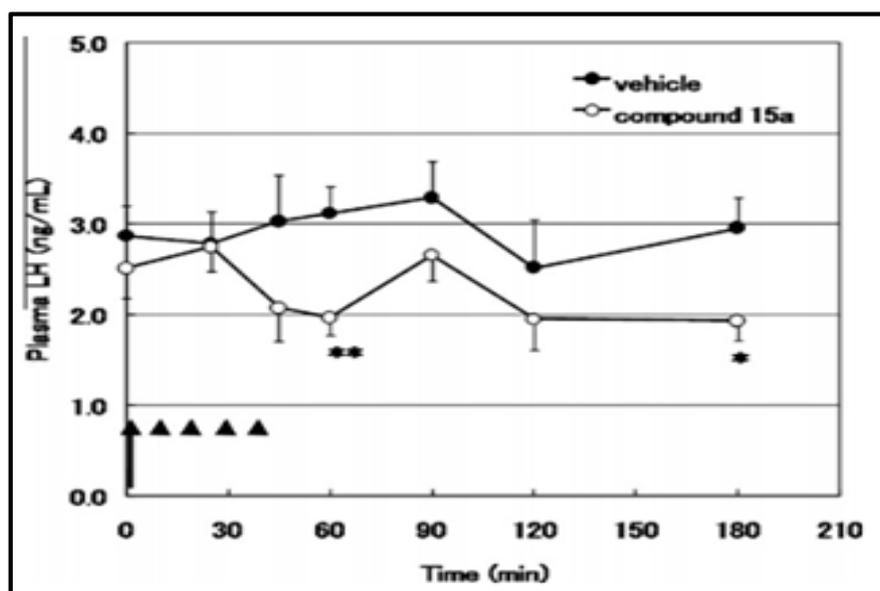


Figure 35 : Effet du composé 15a sur le taux plasmatique de LH chez les rats mâles castrés (Kobayashi et *al.*, 2010).

Contrairement à l'injection chronique des kisspeptines et ses agonistes qui inhibent totalement la sécrétion de LH, l'injection des antagonistes inhibent seulement la sécrétion pulsatile de LH et non pas la sécrétion basale (**Kobayashi et *al.*, 2010**).

Néanmoins, l'intérêt thérapeutique de ces molécules antagonistes est bien réel. Elles pourraient notamment trouver une place toute particulière dans les maladies présentant un lien avec les hormones sexuelles, en permettant de réduire leur sécrétion tout en évitant les effets secondaires d'une suppression totale.

Bien que les deux molécules 234 et 15a présentent des affinités pour Kiss1R proches, la molécule 15a est plus avantageuse grâce à sa structure et sa taille qui lui permettent une pénétration facile à travers la barrière hématoencéphalique et une absorption meilleure par voie orale (**Roseweir et al., 2009 ; Kobayashi et al., 2010**).

Conclusion

Nous retenons de notre étude bibliographique que depuis la découverte du rôle des kisspeptines dans la reproduction il y a presque une vingtaine d'années, la compréhension des mécanismes de régulation de l'activation des neurones à GnRH a considérablement progressé et permis, notamment, d'élaborer de nouvelles hypothèses sur le fonctionnement des réseaux neuronaux qui contrôlent la reproduction, mais aussi la gestation, la lactation, chez l'homme et les espèces animales en général et photopériodiques en particulier.

Ces avancées majeures de la physiologie de la reproduction ont ainsi permis de progresser un peu plus dans la compréhension de certaines maladies complexes de la reproduction, telles que les maladies trophoblastiques gestationnelles, hypogonadisme hypophysaire, SOPK et la puberté précoce centrale. De plus, de par la place importante que tiennent les kisspeptines dans la physiologie et la physiopathologie de la reproduction, ces molécules recèlent un très fort potentiel d'utilisation pharmacologique et plusieurs molécules aux effets agonistes (MVT-602) ou antagonistes (peptides 234) sont en cours de développement. Ainsi, au vu des études en cours et des récentes découvertes, il n'est pas impossible que, dans un futur plus ou moins proche, ces peptides soient couramment utilisés dans des techniques de procréation médicalement assistées, dans la surveillance de la grossesse et le traitement de certaines affections uro-génitales.

Plus encore, les kisspeptines pourraient mener au développement de nouveaux outils de maîtrise de la reproduction animale, plus performant, potentiellement peu invasifs et plus respectueux du bien-être animal et ainsi modifier les méthodes de production et la pratique de la médecine vétérinaire. En effet, les méthodes actuelles ne permettent pas une maîtrise complète de l'ovulation, et aussi les hormones de type œstrogénique mises en œuvre sont des polluants qui ne sont pas facilement dégradés, qui s'accumulent dans la terre et les eaux, et qui présentent une menace pour la santé humaine.

Chez les animaux d'élevage, même si c'est en contradiction avec ce qui précède, l'induction de l'ovulation en contre-saison et la synchronisation de l'ovulation sont deux objectifs majeurs ; ils pourraient être atteints grâce à la mise au point et à l'utilisation d'agonistes du Kiss1R avec une durée de vie prolongée. Ainsi, chez certaines espèces pour corriger une baisse de fertilité, un agoniste de Kiss1R pourrait être utilisé pour rétablir une meilleure fertilité qui est un enjeu important, en vue d'optimiser la disponibilité des produits, tels que : la viande, le lait ou ses dérivés tout au long de l'année.

Si les kisspeptines restent à la hauteur de l'enthousiasme qu'elles génèrent, nul doute que le monde de la reproduction embrassera définitivement un nouveau tournant.

Bibliographie

1. **ABBARA A., ENG P.C., PHYLACTOU M., CLARKE S.A., RICHARDSON R. et al.**, (2020) Kisspeptin receptor agonist has therapeutic potential for female reproductive disorders. *The Journal of Clinical Investigation*. 130(12):6739-6753.
2. **ADAMS NR.** (1995) Detection of the effects of phytoestrogens on sheep and cattle.. *J. Anim. Sci.*73:1509-1515.
3. **AHN T., FERGANI C., COOLEN LM., PADMANABHAN V., LEHMAN MN.** (2015) Prenatal Testosterone Excess Decreases Neurokinin 3 Receptor Immunoreactivity within the Arcuate Nucleus KNDy Cell Population. *J. Neuroendocrinol.*27:100-110.
4. **ANCEL C., BENTSEN AH., SÉBERT M-E., TENA-SEMPERE M., MIKKELSEN JD., SIMONNEAUX V.** (2012) Stimulatory Effect of RFRP-3 on the Gonadotrophic Axis in the Male Syrian Hamster: The Exception Proves the Rule. *Endocrinology*. 153:1352-1363.
5. **ARAUJO-LOPES R., CRAMPTON JR., AQUINO NSS., MIRANDA RM., KOKAY IC., REIS AM., et al.** (2014) Prolactin Regulates Kisspeptin Neurons in the Arcuate Nucleus to Suppress LH Secretion in Female Rats. *Endocrinology*.155:1010-1020.
6. **ASAMI T., NISHIZAWA N., ISHIBASHI Y., NISHIBORI K., HORIKOSHI Y., MATSUMOTO H., et al.** (2012) Trypsin resistance of a decapeptide KISS1R agonist containing an N ω -methylarginine substitution. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 22:6328-6332.
7. **BAI Y., CHANG F., ZHOU R., JIN P-P., MATSUMOTO H., SOKABE M., et al.** (2011) Increase of Anteroventral Periventricular Kisspeptin Neurons and Generation of E2-Induced LH-Surge System in Male Rats Exposed Perinatally to Environmental Dose of Bisphenol-A. *Endocrinology*. 152:1562-1571.
8. **BAKKER J., PIERMAN S., GONZÁLEZ-MARTÍNEZ D.** (2010) Effects of aromatase mutation (ArKO) on the sexual differentiation of kisspeptin neuronal numbers and their activation by same versus opposite sex urinary pheromones. *Horm. Behav.*57:390-395.
9. **BATEMAN HL., PATISAUL HB.** (2008) Disrupted female reproductive physiology following neonatal exposure to phytoestrogens or estrogen specific ligands is associated with decreased GnRH activation and kisspeptin fiber density in the hypothalamus. *NeuroToxicology*. 29:988-997.
10. **BEAULOYE V.** (2016). PUBERTES PRÉCOCES. *louvain med*, 135 (5): 279-282.
11. **BELLINGHAM M., FOWLER PA., AMEZAGA MR., RHIND SM., COTINOT C., MANDON-PEPIN B., et al.** (2009) Exposure to a complex cocktail of environmental endocrine-disrupting compounds disturbs the kisspeptin/GPR54 system in ovine hypothalamus and pituitary gland. *Environ. Health Perspect.* 117:1556-1562.
12. **BELTRAMO M. et DUFOURNY L.** (2015). Le système kisspeptine : au coeur du contrôle de la reproduction. *Neurobiologie Intégrative de la Reproduction*, 168(1) : 67- 76.
13. **BILBAN M., GHAFARI-TABRIZI N., HINTERMANN E., BAUER S., MOLZER S., ZORATTI C., et al.** (2004) Kisspeptin-10, a KiSS-1/metastin-derived decapeptide, is a physiological invasion inhibitor of primary human trophoblasts. *J. Cell Sci.*117:1319-1328.
14. **BOULLENGER J.F.A.** (2017). les kisspeptines dans la fonction de reproduction des mammifères : synthèse bibliographique et perspectives ; thèse de doctorat vétérinaire. Faculté de médecine de Créteil. France.
15. **BRIOUDE F., BOULIGAND J., FRANCOU B., FAGART J., ROUSSEL R., VIENGCHAREUN S., et al.** (2013) Two Families with Normosmic Congenital Hypogonadotropic Hypogonadism and Biallelic Mutations in KISS1R (KISS1 Receptor): Clinical Evaluation and Molecular Characterization of a Novel Mutation. *PLOS ONE*. 8:e53896.

16. **BROWN RSE., HERBISON AE., GRATTAN DR.** (2014) Prolactin Regulation of Kisspeptin Neurones in the Mouse Brain and its Role in the Lactation-Induced Suppression of Kisspeptin Expression. *J. Neuroendocrinol.* 26:898-908.
17. **CALDER M., CHAN Y-M., RAJ R., PAMPILLO M., ELBERT A., NOONAN M., et al.** (2014) Implantation Failure in Female Kiss1^{-/-} Mice Is Independent of Their Hypogonadic State and Can Be Partially Rescued by Leukemia Inhibitory Factor. *Endocrinology.*155:3065-3078.
18. **CASTELLANO JM., GAYTAN M., ROA J., VIGO E., NAVARRO VM., BELLIDO C., et al.** (2006) Expression of KiSS-1 in Rat Ovary: Putative Local Regulator of Ovulation?. *Endocrinology.* 147:4852-4862.
19. **CEJUDO ROMAN A., PINTO FM., DORTA I., ALMEIDA TA., HERNÁNDEZ M., ILLANES M., et al.** (2012) Analysis of the expression of neurokinin B, kisspeptin, and their cognate receptors NK3R and KISS1R in the human female genital tract. *Fertil. Steril.*97:1213-1219.
20. **CHENG G., COOLEN LM., PADMANABHAN V., GOODMAN RL., LEHMAN MN.** (2010) The Kisspeptin/Neurokinin B/Dynorphin (KNDy) Cell Population of the Arcuate Nucleus: Sex Differences and Effects of Prenatal Testosterone in Sheep. *Endocrinology.* 151:301-311.
21. **CLARKE H., DHILLO WS., JAYASENA CN.** (2015) Comprehensive Review on Kisspeptin and Its Role in Reproductive Disorders. *Endocrinol. Metab.*30:124-141.
22. **CLARKSON J. et HERBISON A.E.** (2011) Dual Phenotype Kisspeptin-Dopamine Neurones Of The Rostral Periventricular Area Of The Third Ventricle Project To Gonadotrophin Releasing Hormone Neurones. *Journal of Neuroendocrinology.*23: 293-301.
23. **CLARKSON J., BUSBY ER., KIRILOV M., SCHÜTZ G., SHERWOOD NM., HERBISON AE.** (2014) Sexual Differentiation of the Brain Requires Perinatal Kisspeptin-GnRH Neuron Signaling. *J. Neurosci.*34:15297-15305.
24. **CLARKSON J., D'ANGLEMONT DE TASSIGNY X., COLLEDGE WH., CARATY A., HERBISON AE.** (2009) Distribution of kisspeptin neurones in the adult female mouse brain. *J. Neuroendocrinol.*21:673-682.
25. **CLARKSON J., HERBISON AE.** (2006) Postnatal Development of Kisspeptin Neurons in Mouse Hypothalamus; Sexual Dimorphism and Projections to Gonadotropin-Releasing Hormone Neurons. *Endocrinology.*147:5817-5825.
26. **CLEMENTS M.K., McDONALD T.P., WANG R., XIE G., O'DOWD B.F., GEORGE S.R., AUSTIN C.P. et LIU Q.** (2001) FMRFamide-Related Neuropeptides Are Agonists of the Orphan G-Protein-Coupled Receptor GPR54. *BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS.* 284:1189-1193.
27. **COLLEDGE WH.** (2009) Kisspeptins and GnRH neuronal signalling. *Trends Endocrinol. Metab.*20:115-121.
28. **CURTIS AE., COOKE JH., BAXTER JE., PARKINSON JRC., BATAVELJIC A., GHATEI MA., et al.** (2010) A kisspeptin-10 analog with greater in vivo bioactivity than kisspeptin-10. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* 298:E296-E303.
29. **DADOUNE J.P.** (1990). *Histologie.* France : Flammarion. 296p.
30. **DEMIRBILEK H., OZBEK MN., DEMIR K., KOTAN LD., CESUR Y., DOGAN M., et al.** (2015) Normosmic idiopathic hypogonadotropic hypogonadism due to a novel homozygous nonsense c.C969A (p.Y323X) mutation in the KISS1R gene in three unrelated families. *Clin. Endocrinol. (Oxf).* 82:429-438.

31. **DESROSIERS E.** (2011). Ontogenèse des neurones à kisspeptine chez le rat : neurogenèse et cartographie spatio-temporelle de kisspeptine de l'embryogenèse à l'âge adulte. Université François-Rabelais. France.
32. **DHILLO WS., CHAUDHRI OB., PATTERSON M., THOMPSON EL., MURPHY KG., BADMAN MK., et al.** (2005) Kisspeptin-54 Stimulates the Hypothalamic-Pituitary Gonadal Axis in Human Males. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90:6609-6615.
33. **DHILLO WS., CHAUDHRI OB., THOMPSON EL., MURPHY KG., PATTERSON M., RAMACHANDRAN R., et al.** (2007) Kisspeptin-54 Stimulates Gonadotropin Release Most Potently during the Preovulatory Phase of the Menstrual Cycle in Women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 92:3958-3966.
34. **DONATO JR J., FRAZÃO R.** (2016) Interactions between prolactin and kisspeptin to control reproduction. *Arch. Endocrinol. Metab.* 60:587-595.
35. **FRANCIS VA., ABERA AB., MATJILA M., MILLAR RP., KATZ AA.** (2014) Kisspeptin Regulation of Genes Involved in Cell Invasion and Angiogenesis in First Trimester Human Trophoblast Cells. *PLOS ONE*.9:e99680.
36. **GAYTÁN F., GAYTÁN M., CASTELLANO JM., ROMERO M., ROA J., APARICIO B., et al.** (2009) KiSS-1 in the mammalian ovary: distribution of kisspeptin in human and marmoset and alterations in KiSS-1 mRNA levels in a rat model of ovulatory dysfunction. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* 296:E520-E531.
37. **GAYTÁN M., CASTELLANO JM., ROA J., SÁNCHEZ-CRIADO JE., TENA-SEMPERE M., GAYTÁN F.** (2007) Expression of KiSS-1 in rat oviduct: possible involvement in prevention of ectopic implantation?. *Cell Tissue Res.*329:571-579.
38. **GILL JC., WANG O., KAKAR S., MARTINELLI E., CARROLL RS., KAISER UB.** (2010) Reproductive Hormone-Dependent and -Independent Contributions to Developmental Changes in Kisspeptin in GnRH-Deficient Hypogonadal Mice. *PLOS ONE*.5:e11911.
39. **GOODMAN RL., HILEMAN SM., NESTOR CC., PORTER KL., CONNORS JM., HARDY SL., et al.** (2013) Kisspeptin, Neurokinin B, and Dynorphin Act in the Arcuate Nucleus to Control Activity of the GnRH Pulse Generator in Ewes. *Endocrinology*.154:4259-4269.
40. **GOODMAN RL., LEHMAN MN., SMITH JT., COOLEN LM., DE OLIVEIRA CVR., JAFARZADEHSHIRAZI MR., et al.** (2007) Kisspeptin Neurons in the Arcuate Nucleus of the Ewe Express Both Dynorphin A and Neurokinin B. *Endocrinology*.148:5752-5760.
41. **GOTTSCH ML., CUNNINGHAM MJ., SMITH JT., POPA SM., ACOHIDO BV., CROWLEY WF., et al.** (2004) A Role for Kisspeptins in the Regulation of Gonadotropin Secretion in the Mouse. *Endocrinology*.145:4073-4077.
42. **GRACHEV P., MILLAR RP., O'BYRNE KT.** (2014) The Role of Neurokinin B Signalling in Reproductive Neuroendocrinology. *Neuroendocrinology*.99 :7-17.
43. **GUTIÉRREZ-PASCUAL E., LEPRINCE J., MARTÍNEZ-FUENTES AJ., SÉGALAS-MILAZZO I., PINEDA R., ROA J., et al.** (2009) In Vivo and in Vitro Structure-Activity Relationships and Structural Conformation of Kisspeptin-10-Related Peptides. *Mol. Pharmacol.* 76:58-67.
44. **HAMPL R., KUBÁTOVÁ J., STÁRKA L.** (2016) Steroids and endocrine disruptors—History, recent state of art and open questions. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 155:217-223.
45. **HAN S-K., GOTTSCH ML., LEE KJ., POPA SM., SMITH JT., JAKAWICH SK., et al.** (2005) Activation of Gonadotropin-Releasing Hormone Neurons by Kisspeptin as a Neuroendocrine Switch for the Onset of Puberty. *J. Neurosci.*25:11349-11356.

46. HANCHATE NK., PARKASH J., BELLEFONTAINE N., MAZUR D., COLLEDGE WH., TASSIGNY X d'Anglemont de., et al. (2012) Kisspeptin-GPR54 Signaling in Mouse NO-Synthesizing Neurons Participates in the Hypothalamic Control of Ovulation. *J. Neurosci.* 32:932-945.
47. HEFFNER L.J. (2003). *Reproduction humaine*. France : De Boeck. 121p.
48. HEGER S., MASTRONARDI C., DISSEN GA., LOMNICZI A., CABRERA R., ROTH CL., et al. (2007) Enhanced at puberty 1 (EAP1) is a new transcriptional regulator of the female neuroendocrine reproductive axis. *J. Clin. Invest.* 117:2145-2154.
49. HERBISON AE., D'ANGLEMONT DE TASSIGNY X., DORAN J., COLLEDGE WH. (2010) Distribution and Postnatal Development of Gpr54 Gene Expression in Mouse Brain and Gonadotropin-Releasing Hormone Neurons. *Endocrinology*.151:312-321.
50. HERBISON AE., PAPE J-R. (2001) New Evidence for Estrogen Receptors in GonadotropinReleasing Hormone Neurons. *Front. Neuroendocrinol.*22:292 308.
51. HIGO S., HONDA S., IJIMA N., OZAWA H. (2016) Mapping of Kisspeptin Receptor mRNA in the Whole Rat Brain and its Co-Localisation with Oxytocin in the Paraventricular Nucleus. *J. Neuroendocrinol.* 28.
52. Hollander D. (1997) Environmental Effects on Reproductive Health: The Endocrine Disruption Hypothesis. *Journal of peer-reviewed research*, 29(2).
53. HOMMA T., SAKAKIBARA M., YAMADA S., KINOSHITA M., IWATA K., TOMIKAWA J., et al. (2009) Significance of Neonatal Testicular Sex Steroids to Defeminize Anteroventral Periventricular Kisspeptin Neurons and the GnRH/LH Surge System in Male Rats. *Biol. Reprod.*81:1216-1225.
54. HRABOVSKY E. (2014) Neuroanatomy of the Human Hypothalamic Kisspeptin System. *Neuroendocrinology*.99:33-48.
55. HSU M-C., WANG J-Y., LEE Y-J., JONG D-S., TSUI K-H., CHIU C-H. (2014) Kisspeptin modulates fertilization capacity of mouse spermatozoa. *Reprod. Camb. Engl.*147:835-845.
56. HUMA T., ULLA F., HANIF F., RIZAK JD., SHAHAB M. (2014) Peripheral administration of kisspeptin antagonist does not alter basal plasma testosterone but decreases plasma adiponectin levels in adult male rhesus macaques. *Turk. J. Biol.*38:450-456.
57. IRFAN S., EHMCKE J., WAHAB F., SHAHAB M., SCHLATT S. (2014) Intratesticular action of kisspeptin in rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *Andrologia*.46:610-617.
58. IRWIG MS., FRALEY GS., SMITH JT., ACOHIDO BV., POPA SM., CUNNINGHAM MJ., et al. (2004) Kisspeptin activation of gonadotropin releasing hormone neurons and regulation of KiSS-1 mRNA in the male rat. *Neuroendocrinology*. 80:264-272.
59. JAYASENA CN., ABBARA A., IZZI-ENGBEAYA C., COMNINOS AN., HARVEY RA., GONZALEZ MAFFE J., et al. (2014) Reduced Levels of Plasma Kisspeptin During the Antenatal Booking Visit Are Associated With Increased Risk of Miscarriage. 99(12): E2652-E2660.
60. JAYASENA CN., NIJHER GMK., CHAUDHRI OB., MURPHY KG., RANGER A., LIM A., et al. (2009) Subcutaneous Injection of Kisspeptin-54 Acutely Stimulates Gonadotropin Secretion in Women with Hypothalamic Amenorrhea, But Chronic Administration Causes Tachyphylaxis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 94:4315-4323.
61. JOHNSON H.M. et EVERITT B.J. (2002). *Reproduction*. France : De Boeck. 298p.
62. KADOKAWA H., SUZUKI S., HASHIZUME T. (2008) Kisspeptin-10 stimulates the secretion of growth hormone and prolactin directly from cultured bovine anterior pituitary cells. *Anim. Reprod. Sci.*105:404-408.

63. KAUFFMAN A.S., GOTTSCH M.L., ROA J., BYQUIST A.C., CROWN A., CLIFTON D.K. HOFMAN G.E., STEINER R.A. et TENA-SEMPERE M. (2007) Sexual Differentiation of Kiss1 Gene Expression in the Brain of the Rat. *Endocrinology*. 148:1774-1783.
64. KINOSHITA M., TSUKAMURA H., ADACHI S., MATSUI H., UENOYAMA Y., IWATA K., et al. (2005) Involvement of Central Metastin in the Regulation of Preovulatory Luteinizing Hormone Surge and Estrous Cyclicity in Female Rats. *Endocrinology*.146:4431-4436.
65. KO JM., LEE Hae Sang., LEE Hyo Sung., HWANG JS. (2011) Genetic Variations of GNRHI, GNRHR and GPR54 genes in Korean Girls with Central Precocious Puberty. *J. Korean Soc. Pediatr. Endocrinol.*. 16:38.
66. KOBAYASHI T., SASAKI S., TOMITA N., FUKUI S., NAKAYAMA M., KIBA A., et al. (2010) 2-Acylamino-4,6-diphenylpyridine derivatives as novel GPR54 antagonists with good brain exposure and in vivo efficacy for plasma LH level in male rats. *Bioorg. Med. Chem.*. 18:5157-5171.
67. KOKAY IC., PETERSEN SL., GRATTAN DR. (2011) Identification of Prolactin-Sensitive GABA and Kisspeptin Neurons in Regions of the Rat Hypothalamus Involved in the Control of Fertility. *Endocrinology*.152:526-535.
68. KOTANI M., DETHEUX M., VANDENBOGAERDE A., COMMUNI D., VANDERWINDEN J-M., POUL EL., et al. (2001) The Metastasis Suppressor Gene KiSS-1 Encodes Kisspeptins, the Natural Ligands of the Orphan G Protein-coupled Receptor GPR54. *J. Biol. Chem.*. 276:34631-34636.
69. KRISZT R., WINKLER Z., POLYÁK Á., KUTI D., MOLNÁR C., HRABOVSKY E., et al. (2015) Xenoestrogens Ethinyl Estradiol and Zearalenone Cause Precocious Puberty in Female Rats via Central Kisspeptin Signaling. *Endocrinology*. 156:3996-4007.
70. LEE DK., NGUYEN T., O'NEILL GP., CHENG R., LIU Y., HOWARD AD., et al. (1999) Discovery of a receptor related to the galanin receptors. *FEBS Lett.*.446:103-107.
71. LEE J-H., MIELE ME., HICKS DJ., PHILLIPS KK., TRENT JM., WEISSMAN BE., et al. (1996) KiSS-1, a Novel Human Malignant Melanoma Metastasis-Suppressor Gene. *J. Natl. Cancer Inst.*. 88:1731-1737.
72. LEE SW., KIM Y-B., KIM JS., KIM WB., KIM YS., HAN HC., et al. (2015) GABAergic inhibition is weakened or converted into excitation in the oxytocin and vasopressin neurons of the lactating rat. *Mol. Brain*.8:34.
73. LEHMAN N.M., COOLEN L.M. et GOODMAN R.L. (2010) Minireview: Kisspeptin/Neurokinin B/Dynorphin (KNDy) Cells of the Arcuate Nucleus: A Central Node in the Control of Gonadotropin-Releasing Hormone Secretion. *Endocrinology*.151: 3479-3489.
74. LEÓN S., FERNANDOIS D., SULL A., SULL J., CALDER M., HAYASHI K., et al. (2016) Beyond the brain-Peripheral kisspeptin signaling is essential for promoting endometrial gland development and function. *Sci. Rep.*.6:29073.
75. LI D., MITCHELL D., LUO J., YI Z., CHO S-G., GUO J., et al. (2007) Estrogen Regulates KiSS1 Gene Expression through Estrogen Receptor α and SP Protein Complexes. *Endocrinology*. 148:4821-4828.
76. LOSA-WARD SM., TODD KL., MCCAFFREY KA., TSUTSUI K., PATISAUL HB. (2012) Disrupted Organization of RFamide Pathways in the Hypothalamus Is Associated with Advanced Puberty in Female Rats Neonatally Exposed to Bisphenol A. *Biol. Reprod.*. 87(2):28, 1–9.

77. **MATSUI H., TAKATSU Y., KUMANO S., MATSUMOTO H., OHTAKI T.** (2004) Peripheral administration of metastin induces marked gonadotropin release and ovulation in the rat. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 320:383-388.
78. **MATSUYAMA S., OHKURA S., MOGI K., WAKABAYASHI Y., MORI Y., TSUKAMURA H., et al.** (2011) Morphological evidence for direct interaction between kisspeptin and gonadotropin-releasing hormone neurons at the median eminence of the male goat: An immunoelectron microscopic study. *Neuroendocrinology*.94:323-332.
79. **MECCARIELLO R., CHIANESE R., CHIOCCARELLI T., CIARAMELLA V., FASANO S., PIERANTONI R., et al.** (2014) Intra-Testicular Signals Regulate Germ Cell Progression and Production of Qualitatively Mature Spermatozoa in Vertebrates. *Front. Endocrinol.* 5.
80. **MEI H., DORAN J., KYLE V., YEO S-H., COLLEDGE WH.** (2013) Does Kisspeptin Signaling have a Role in the Testes?. *Front. Endocrinol.* 4.
81. **MESSAGE S., CHATZIDAKI EE., MA D., HENDRICK AG., ZAHN D., DIXON J., et al.** (2005) Kisspeptin directly stimulates gonadotropin-releasing hormone release via G protein-coupled receptor 54. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102:1761-1766.
- MOORE AM. et CAMPBELL RE.** (2017) Polycystic ovary syndrome: Understanding the role of the brain. *Front. Neuroendocrinol.* 46:1-14.
82. **MORRIS JA., JORDAN CL. et BREEDLOVE SM.** (2004) Sexual differentiation of the vertebrate nervous system. *Nat. Neurosci.* 7:1034-1039.
83. **MUIR A.I., CHAMBERLAIN L., ELSHOURBAGY N.A. et al.** (2001) AXOR12, a Novel Human G Protein-coupled Receptor, Activated by the Peptide KiSS-1. *THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY*. 31: 28969–28975.
84. **NAULÉ L., PICOT M., MARTINI M., PARMENTIER C., HARDIN-POUZET H., KELLER M., et al.** (2014) Neuroendocrine and behavioral effects of maternal exposure to oral bisphenol A in female mice. *J. Endocrinol.* 220:375-388.
85. **NAVARRO VM., CASTELLANO JM., MCCONKEY SM., PINEDA R., RUIZ-PINO F., PINILLA L., et al.** (2011) Interactions between kisspeptin and neurokinin B in the control of GnRH secretion in the female rat. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* 300:E202-E210.
86. **NESTOR CC., BRISCOE AMS., DAVIS SM., VALENT M., GOODMAN RL., HILEMAN SM.** (2012) Evidence of a Role for Kisspeptin and Neurokinin B in Puberty of Female Sheep. *Endocrinology*.153:2756-2765.
87. **NGUYAN V. et FERRY N.** (2007). La reproduction des vertébrés. France : De Boeck. 83p.
88. **NIIDA A., WANG Z., TOMITA K., OISHI S., TAMAMURA H., OTAKA A., et al.** (2006) Design and synthesis of downsized metastin (45–54) analogs with maintenance of high GPR54 agonistic activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 16:134-137.
89. **NOVAIRA HJ., NG Y., WOLFE A., RADOVICK S.** (2009) Kisspeptin increases GnRH mRNA expression and secretion in GnRH secreting neuronal cell lines. *Mol. Cell. Endocrinol.* 311:126-134.
90. **OH YJ., RHIE Y-J., NAM H-K., KIM HR., LEE K-H.** (2017) Genetic Variations of the KISS1R Gene in Korean Girls with Central Precocious Puberty. *J. Korean Med. Sci.* 32:108-114.
91. **OHKURA S., TAKASE K., MATSUYAMA S., MOGI K., ICHIMARU T., WAKABAYASHI Y., et al.** (2009) Gonadotrophin-Releasing Hormone Pulse Generator Activity in the Hypothalamus of the Goat. *J. Neuroendocrinol.* 2009;21:813-821.

- 92. OHTAKI T., SHINTANI Y., HONDA S., MATSUMOTO H., HORI A., KANEHASHI K., et al.** (2001) Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature*.411 :613-617.
- 93. OPAKUA AI de., MERINO N., VILLATE M., CORDEIRO TN., ORMAZA G., SÁNCHEZ-CARBAYO M., et al.** (2017) The metastasis suppressor KISS1 is an intrinsically disordered protein slightly more extended than a random coil. *PLOS ONE*. 12:e0172507.
- 94. PARK D-W., LEE S-K., HONG SR., HAN A-R., KWAK-KIM J., YANG KM.** (2012) Expression of Kisspeptin and its Receptor GPR54 in the First Trimester Trophoblast of Women with Recurrent Pregnancy Loss. *Am. J. Reprod. Immunol.* 67:132-139.
- 95. PIELECKA-FORTUNA J., CHU Z., MOENTER SM.** (2008) Kisspeptin Acts Directly and Indirectly to Increase Gonadotropin-Releasing Hormone Neuron Activity and Its Effects Are Modulated by Estradiol. *Endocrinology*. 149:1979-1986.
- 96. PIELECKA-FORTUNA J., MOENTER SM.** (2010) Kisspeptin Increases γ -Aminobutyric Acidergic and Glutamatergic Transmission Directly to Gonadotropin-Releasing Hormone Neurons in an Estradiol-Dependent Manner. *Endocrinology*. 151:291-300.
- 97. PINEDA R., GARCIA-GALIANO D., ROSEWEIR A., ROMERO M., SANCHEZ-GARRIDO MA., RUIZ-PINO F., et al.** (2010) Critical Roles of Kisspeptins in Female Puberty and Preovulatory Gonadotropin Surges as Revealed by a Novel Antagonist. *Endocrinology*. 151:722-730.
- 98. PINILLA L., AGUILAR E., DIEGUEZ C., MILLAR R.P. et TENA-SEMPERE M.** (2012) Kisspeptins And Reproduction: Physiological Roles And Regulatory Mechanisms. *Physiol Rev*. 92:1235-1316.
- 99. PINTO FM., CEJUDO-ROMÁN A., RAVINA CG., FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ M., MARTÍNLOZANO D., ILLANES M., et al.** (2012) Characterization of the kisspeptin system in human spermatozoa. *Int. J. Androl.*35:63-73.
- 100. POIRIER J., COHEN I., BERNAUDIN J.F.** (1976). *Histologie humaine*. France : Maloine. 94p.
- 101. PORTEOUS R., PETERSEN S.L., YEO S.H., BHATTARAI J.P., CIOFI P., D'ANGLEMONT DE TASSIGNY X., COLLEDGE W.H., CARATU A. et HERBISON A.E.** (2011) Kisspeptin Neurons Co-Express Met-Enkephalin and Galanin in the Rostral Periventricular Region of the Female Mouse Hypothalamus. *The Journal of Comparative Neurology*. 129:3456-3469.
- 102. PRITCHARD T C, KEVIN D. ALLOWAY.** (2002). *Neurosciences médicales : Les bases neuroanatomiques et neurophysiologiques*, De Boeck Supérieur. 526p.
- 103. REVEL FG., SABOUREAU M., MASSON-PÉVET M., PÉVET P., MIKKELSEN JD., SIMONNEAUX V.** (2006) Kisspeptin Mediates the Photoperiodic Control of Reproduction in Hamsters. *Curr. Biol.* 16:1730-1735.
- 104. RIBEIRO AB., LEITE CM., KALIL B., FRANCI CR., ANSELMO-FRANCI JA., SZAWKA RE.** (2015) Kisspeptin Regulates Tuberoinfundibular Dopaminergic Neurons and Prolactin Secretion in an Oestradiol-Dependent Manner in Male and Female Rats. *J. Neuroendocrinol.* 27:88-99.
- 105. RICHARD N., CORVAISIER S., CAMACHO E. et KOTTLER M.L.** (2009) Kiss-1 and GPR54 at the pituitary level : Overview and recent insights. *ELSEVIER*.30:123-129.

- 106. RICU MA., RAMIREZ VD., PAREDES AH., LARA HE.** (2012) Evidence for a Celiac Ganglion/Ovarian Kisspeptin Neural Network in the Rat: Intraovarian Anti-Kisspeptin Delays Vaginal Opening and Alters Estrous Cyclicity. *Endocrinology*.153:4966-4977.
- 107. ROSEWEIR AK., KAUFFMAN AS., SMITH JT., GUERRIERO KA., MORGAN K., PIELECKA-FORTUNA J., et al.** (2009) Discovery of Potent Kisspeptin Antagonists Delineate Physiological Mechanisms of Gonadotropin Regulation. *J. Neurosci.* 29:3920-3929.
- 108. Roux N, Genin E, Carel JC, Matsuda F, Chaussain JL, Milgrom E.** (2003) Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 100:10972-6.
- 109. RUDOLPH LM., BENTLEY GE., CALANDRA RS., PAREDES AH., TESONE M., WU TJ., et al.** (2016) Peripheral and Central Mechanisms Involved in the Hormonal Control of Male and Female Reproduction. *J. Neuroendocrinol.* 28.
- 110. RUKA KA., BURGER LL., MOENTER SM.** (2013) Regulation of Arcuate Neurons Coexpressing Kisspeptin, Neurokinin B, and Dynorphin by Modulators of Neurokinin 3 and κ -Opioid Receptors in Adult Male Mice. *Endocrinology*.154:2761-2771.
- 111. SALEHI S., ADESHINA I., CHEN H., ZIRKIN BR., HUSSAIN MA., WONDISFORD F., et al.** (2015) Developmental and Endocrine Regulation of Kisspeptin Expression in Mouse Leydig Cells. *Endocrinology*.156:1514-1522.
- 112. SARI IP., RAO A., SMITH JT., TILBROOK AJ., CLARKE IJ.** (2009) Effect of RF-Amide-Related Peptide-3 on Luteinizing Hormone and Follicle-Stimulating Hormone Synthesis and Secretion in Ovine Pituitary Gonadotropes. *Endocrinology*. 150:5549-5556.
- 113. SCOTT V., BROWN CH.** (2011) Kisspeptin Activation of Supraoptic Nucleus Neurons in Vivo. *Endocrinology*.152:3862-3870.
- 114. SEGAY B.** (1996). *Physiologie*. France : Maloine. 444p.
- 115. SEMINARA SB., DIPIETRO MJ., RAMASWAMY S., CROWLEY WF., PLANT TM.** (2006) Continuous Human Metastatin 45–54 Infusion Desensitizes G Protein-Coupled Receptor 54-Induced Gonadotropin-Releasing Hormone Release Monitored Indirectly in the Juvenile Male Rhesus Monkey (*Macaca mulatta*): A Finding with Therapeutic Implications. *Endocrinology*. 147:2122-2126.
- 116. SEMINARA SB., MESSENGER S., CHATZIDAKI EE., THRESHER RR., ACIERNO JSJ., SHAGOURY JK., et al.** (2003) The GPR54 Gene as a Regulator of Puberty. *N. Engl. J. Med.* 349:1614-1627.
- 117. SEYMOUR AJ., SCOTT V., AUGUSTINE RA., BOUWER GT., CAMPBELL RE., BROWN CH.** (2017) Development of an excitatory kisspeptin projection to the oxytocin system in late pregnancy. *J. Physiol.*595:825-838.
- 118. SIMERLY RB.** (2002) Wired for Reproduction: Organization and Development of Sexually Dimorphic Circuits in the Mammalian Forebrain. *Annu. Rev. Neurosci.*25:507-536.
- 119. SIMONNEAUX V., FLORENT G.R., ANSEL L.** (2009) La régulation de la reproduction saisonnière par la mélatonine nécessite un Kiss. *Correspondances en Métabolismes Hormones Diabète et Nutrition*. 3 :109-114.
- 120. SJOEHOLM A., BRIDGES RS., GRATAN DR., ANDERSON GM.** (2011) Region-, Neuron-, and Signaling Pathway-Specific Increases in Prolactin Responsiveness in Reproductively Experienced Female Rats. *Endocrinology*.152:1979-1988.
- 121. SMITH JT., COOLEN LM., KRIEGSFELD LJ., SARI IP., JAAFARZADEHSHIRAZI MR., MALTBY M., et al.** (2008) Variation in Kisspeptin and RFamide-Related Peptide (RFRP) Expression and Terminal Connections to Gonadotropin-

Releasing Hormone Neurons in the Brain: A Novel Medium for Seasonal Breeding in the Sheep. *Endocrinology*.149:5770-5782

SMITH JT., DUNGAN HM., STOLL EA., GOTTSCH ML., BRAUN RE., EACKER SM., et al. (2005) Differential Regulation of KiSS-1 mRNA Expression by Sex Steroids in the Brain of the Male Mouse. *Endocrinology*.146:2976-2984.

122. **SONIGO C., YOUNG J. et BINART N.** (2013) Hyperprolactinémie et infertilité. *Médecine/Sciences*.3 :242-244.
123. **STEPHENS SBZ., TOLSON KP., ROUSE ML., POLING MC., HASHIMOTO-PARTYKA MK., MELLON PL., et al.** (2015) Absent Progesterone Signaling in Kisspeptin Neurons Disrupts the LH Surge and Impairs Fertility in Female Mice. *Endocrinology*.156:3091-3097.
124. **STEWART CL., KASPAR P., BRUNET LJ., BHATT H., GADI I., KÖNTGEN F., et al.** (1992) Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukaemia inhibitory factor. *Nature*.359:76-79.
125. **TARIQ AR., SHABAB M.** (2017) Effect of kisspeptin challenge on testosterone and inhibin secretion from in vitro testicular tissue of adult male rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *Andrologia*.49.
126. **TARIQ AR., SHAHAB M., CLARKE IJ., PEREIRA A., SMITH JT., KHAN S-H., et al.** (2013) Kiss1 and Kiss1 receptor expression in the rhesus monkey testis: a possible local regulator of testicular function. *Cent. Eur. J. Biol.*.8:968-974.
127. **TERAO Y., KUMANO S., TAKATSU Y., HATTORI M., NISHIMURA A., OHTAKI T., et al.** (2004) Expression of KiSS-1, a metastasis suppressor gene, in trophoblast giant cells of the rat placenta. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gene Struct. Expr.*.1678:102-110.
128. **THOMPSON EL., PATTERSON M., MURPHY KG., SMITH KL., DHILLO WS., TODD JF., et al.** (2004) Central and Peripheral Administration of Kisspeptin-10 Stimulates the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis. *J. Neuroendocrinol.*. 16:850-858.
129. **TOMIKAWA J., UENOYAMA Y., OZAWA M., FUKANUMA T., TAKASE K., GOTO T., et al.** (2012) Epigenetic regulation of Kiss1 gene expression mediating estrogen-positive feedback action in the mouse brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*. 109:E1294-E1301.
130. **TOMITA K., OISHI S., OHNO H., PEIPER SC., FUJII N.** (2008) Development of Novel G-Protein-Coupled Receptor 54 Agonists with Resistance to Degradation by Matrix Metalloproteinase. *J. Med. Chem.*. 51:7645-7649.
131. **TOPALOGLU AK., KOTAN LD.** (2016) Genetics of Hypogonadotropic Hypogonadism. 29:36-49.
132. **UENOYAMA Y., INOUE N., PHENG V., HOMMA T., TAKASE K., YAMADA S., et al.** (2011) Ultrastructural Evidence of Kisspeptin-Gonadotrophin-Releasing Hormone (GnRH) Interaction in the Median Eminence of Female Rats: Implication of Axo-Axonal Regulation of GnRH Release. *J. Neuroendocrinol.*.23:863-870.
133. **UENOYAMA Y., PHENG V., TSUKAMURA H., MAEDA K.** (2016) The roles of kisspeptin revisited: inside and outside the hypothalamus. *J. Reprod. Dev.*.62:537-545.
134. **WAKABAYASHI Y., NAKADA T., MURATA K., OHKURA S., MOGI K., NAVARRO VM., et al.** (2010) Neurokinin B and Dynorphin A in Kisspeptin Neurons of the Arcuate Nucleus Participate in Generation of Periodic Oscillation of Neural Activity Driving Pulsatile Gonadotropin-Releasing Hormone Secretion in the Goat. *J. Neurosci.*.30:3124-3132.

- 135. WEEMS PW., WITTY CF., AMSTALDEN M., COOLEN LM., GOODMAN RL., LEHMAN MN. (2016)** κ -Opioid Receptor Is Colocalized in GnRH and KNDy Cells in the Female Ovine and Rat Brain. *Endocrinology*. 157:2367-2379.
- 136. YAMADA S., UENOYAMA Y., KINOSHITA M., IWATA K., TAKASE K., MATSUI H., et al. (2007)** Inhibition of Metastin (Kisspeptin-54)-GPR54 Signaling in the Arcuate NucleusMedian Eminence Region during Lactation in Rats. *Endocrinology*.148:2226-2232.
- 137. YANG R., WANG Y-M., ZHANG L., ZHAO Z-M., ZHAO J., PENG S-Q. (2016)** Prepubertal exposure to an oestrogenic mycotoxin zearalenone induces central precocious puberty in immature female rats through the mechanism of premature activation of hypothalamic kisspeptin-GPR54 signaling. *Mol. Cell. Endocrinol.* 437:62-74.
- 138. YAP CC., MARK PJ., WADDELL BJ., SMITH JT. (2016)** Ontogeny of clock and KiSS-1 metastasis-suppressor (Kiss1) gene expression in the prepubertal mouse hypothalamus. *Reprod. Fertil. Dev.* 10 : 1971-1981.
- 139. YEO S - H., KYLE V., MORRIS PG., JACKMAN S., SINNETT- SMITH LC., SCHACKER M., et al. (2016)** Visualisation of Kiss1 Neurone Distribution Using a Kiss1- CRE Transgenic Mouse. *J. Neuroendocrinol.*28.
- 140. YIP SH., BOEHM U., HERBISON AE., CAMPBELL RE. (2015)** Conditional Viral Tract Tracing Delineates the Projections of the Distinct Kisspeptin Neuron Populations to GonadotropinReleasing Hormone (GnRH) Neurons in the Mouse. *Endocrinology*. 156:2582-2594.
- 141. ZHANG P., TANG M., ZHONG T., LIN Y., ZONG T., ZHONG C., et al. (2014)** Expression and Function of Kisspeptin during Mouse Decidualization. *PLOS ONE*.9 :e97647.
- 142. ZIYARAA M.A., HAMDAN F.B. et MOUSA L.R. (2016)** Correlation of kisspeptin-10 level and fetal well-being in preeclamptic patients. *Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology*. 55 : 840-846.

Résumé :

Le système des kisspeptines constitue un réseau kisspeptinergique au niveau central et périphérique. Son activité est régulée par de nombreux facteurs, les principaux sont les stéroïdes sexuels, mais également la photopériode via la mélatonine

La kisspeptine est un neuropeptide dont le rôle majeur est de contrôler la sécrétion de la GnRH et via ces derniers des gonadotrophines, FSH et LH, et donc l'activité endogène et exogène des gonades. En outre, cette molécule est impliquée dans le déclenchement de la puberté, la gestation et la lactation.

Vu le rôle important du système des kisspeptines dans la reproduction, la dérégulation au niveau de ce système provoque des troubles de cette fonction, se manifestant par plusieurs maladies, comme la puberté précoce centrale et l'hypogonadisme hypophysaire.

Pour le traitement des pathologies liées au système des kisspeptines, certains analogues de la kisspeptine, tels que le MVT-602 et le peptide 271, ont un potentiel thérapeutique en agissant comme modulateurs pharmacologique de ce système chez l'animal et l'humain.

Mot-clés: kisspeptine, GnRH, LH, FSH, reproduction, ovulation.

Abstract:

The kisspeptin system constitutes a kisspeptinergic network at the central and peripheral level. Its activity is regulated by many factors, the main ones are sex steroids, but also the photoperiod via melatonin.

Kisspeptin is a neuropeptide whose major role is to control the secretion of GnRH and via the latter of gonadotropins, FSH and LH, and therefore the endogenous and exogenous activity of the gonads. In addition, this molecule is involved in the onset of puberty, gestation and lactation.

Considering the important role of the kisspeptin system in reproduction, deregulation in this system causes disturbances in this function, manifested in several diseases, such as central precocious puberty and pituitary hypogonadism.

For the treatment of pathologies linked to the kisspeptin system, certain analogues of kisspeptin, such as MVT-602 and peptide 271, have therapeutic potential by acting as pharmacological modulators of this system in animals and humans.

Keywords: kisspeptin, GnRH, LH, FSH, reproduction, ovulation.