

ISTITUTO LOMBARDO ACCADEMIA di SCIENZE e LETTERE

INCONTRO DI STUDIO N. 100

SCIENZA E... NON SOLO
L'ISTITUTO LOMBARDO PER LUCIANO MARTINI

A cura di Marcella Motta^(†) e Adele Robbiati Bianchi

Milano, 19 giugno 2018



Istituto Lombardo di Scienze e Lettere

MILANO
2019

METABOLISMO ENERGETICO E RIPRODUZIONE: DUE FACCE DELLA STESSA MEDAGLIA

PAOLO MAGNI (*)

SUNTO. – Gli organismi viventi posseggono numerose funzioni fisiologiche. Tra queste alcune sono assolutamente comuni a tutte le specie animali e quindi anche a quella umana. Ci riferiamo al controllo della funzione riproduttiva e a quello del metabolismo energetico, che, intuitivamente, sono fenomeni fondamentali per la sopravvivenza dell'individuo e della specie. Ricerche condotte nell'arco di molti anni nel nostro laboratorio, per lungo tempo con la supervisione del professor Luciano Martini, hanno contribuito a collegare queste due funzioni basilari per la vita, esplorandone le comuni basi molecolari. Infatti, si è osservato come numerosi fattori molecolari comuni contribuiscano alla regolazione sia della riproduzione, sia del metabolismo energetico e cioè dell'assunzione di alimenti e della spesa energetica. Una sede anatomica peculiare ove ha luogo questa interazione è certamente l'ipotalamo, una parte del cervello che integra una quantità enorme di impulsi e che, momento dopo momento, regola una svariata serie di funzioni fisiologiche, tra cui anche queste due. A questo livello, tra le molecole di maggior interesse vi è il neuropeptide Y, che non è solo il più potente stimolatore dell'appetito, ma partecipa anche alla regolazione del primo tratto dell'asse riproduttivo: il sistema gonadotropin-releasing hormone-gonadotropine. Un altro importante elemento di questa rete di molecole di regolazione è kisspeptin, che, fra l'altro, è cruciale anche nell'avvio del processo puberale, in rapporto anche con lo stato nutrizionale. Interessante è anche il dialogo tra organi periferici, come il tessuto o meglio l' "organo" adiposo, e strutture centrali. Infatti, l'adiposo produce ormoni detti adipochine, come la leptina, che, raggiungendo l'ipotalamo, promuove il senso di sazietà riducendo il rilascio di neuropeptide Y. La leptina stessa però è anche un fondamentale fattore permissivo per l'attivazione del sistema riproduttivo. In sintesi, funzioni fondamentali come il controllo di metabolismo energetico e riproduzione sono di fatto regolate in parte dalle stesse molecole, ciò che ne suggerisce una profonda relazione reciproca, che può risultare alterata in varie condizioni patologiche.

(*) Università degli Studi di Milano, Italia. E-mail: paolo.magni@unimi.it

ABSTRACT. – Living organisms possess numerous physiological functions. Among these, some are absolutely common to all animal species and therefore also to human species. We refer to the control of the reproductive function and to that of the energetic metabolism, which, intuitively, are fundamental phenomena for the survival of the individual and of the species. Research conducted over many years in our laboratory, for a long time under the supervision of professor Luciano Martini, have helped to link these two basic functions for life, exploring the common molecular bases. In fact, it has been observed that many common molecular factors contribute to the regulation of both reproduction and energy metabolism, ie food intake and energy expenditure. A peculiar anatomical site where this interaction takes place is certainly the hypothalamus, a part of the brain that integrates a huge amount of impulses and that, moment by moment, regulates a variety of physiological functions, including these two. At this level, among the most interesting molecules there is neuropeptide Y, which is not only the most powerful stimulator of appetite, but also participates in the regulation of the first part of the reproductive axis: the gonadotropin-releasing hormone-gonadotropin system. Another important element of this network of regulatory molecules is kisspeptin, which, among others, is also crucial in starting the pubertal process, also in relation to nutritional status. The dialogue between peripheral organs, such as the tissue or rather the adipose “organ”, and central structures is also interesting. In fact, adipose produces hormones called adipokines, such as leptin, which, reaching the hypothalamus, promotes a sense of satiety by reducing the release of neuropeptide Y. Leptin itself, however, is also a fundamental permissive factor for the activation of the reproductive system. In short, fundamental functions such as the control of energy metabolism and reproduction are in fact regulated in part by the same molecules, which suggests a deep reciprocal relationship, which can be altered under various pathological conditions.

1. INTRODUZIONE

La costellazione di segnali che regolano l'assunzione di cibo e il dispendio energetico, così come la complessa rete che regola le funzioni riproduttive nei mammiferi, inclusa la specie umana, possono entrambi richiamare il concetto di un sistema ridondante di segnali [1], [2]. Infatti, molteplici molecole regolatrici, con azioni parzialmente sovrapposte, sono state selezionate durante l'evoluzione al fine di mantenere la vita di ogni singolo organismo e di propagare le varie specie. Inoltre, le due funzioni - assunzione di cibo/dispersione energetica e riproduzione - sono intimamente collegate, come osservato sia in fisiologia che in patologia umana. L'obesità nei modelli animali sperimentali e nell'uomo è ad esempio associata a vari gradi di compromissione della funzionalità riproduttiva [3], [4], [5], [6], [7]; sul lato opposto dello spettro, la diagnosi di anoressia nervosa include nella donna anche la presenza di amenorrea [5]. Ricerche condotte nell'arco di molti anni nel nostro laboratorio, per lungo tempo con la supervisione del professor Luciano

Martini, hanno contribuito a collegare queste due funzioni basilari per la vita, esplorandone le comuni basi molecolari. Da un punto di vista biochimico e molecolare, queste osservazioni si riflettono in uno scenario estremamente complesso, con confini ancora in parte sconosciuti [8]. Negli ultimi anni, sono state individuate numerose sostanze regolatrici che partecipano in varia misura e con ruoli diversi alla regolazione sia del consumo di cibo/metabolismo energetico che della riproduzione. Queste molecole includono le kisspeptins [9], varie molecole orogeniche, come oppioidi endogeni, neuropeptide Y (NPY), galanina, melanin-concentrating hormone (MCH), agouti-related proteins, orexine/ipocretine, ecc., e i segnali anoressigenici, come pro-opiomelanocortina, neurotensina, melanocortina, cocaine-anfetamine-related transcript, ecc. [8]. La maggior parte, se non tutti, di questi neuropeptidi originano e agiscono nel sistema nervoso centrale (SNC), principalmente in specifiche aree ipotalamiche, per modulare l'assunzione di cibo, le preferenze alimentari e il dispendio energetico; in diversi casi controllano anche gli aspetti neuroendocrini dell'asse riproduttivo [9]. La scoperta della leptina [10] ha portato all'identificazione di un segnale che integra tutte queste funzioni, ma che origina dalla periferia (il tessuto adiposo) e porta informazioni principalmente all'ipotalamo.

2. METABOLISMO ENERGETICO E FUNZIONE RIPRODUTTIVA: RUOLO CENTRALE DELLA LEPTINA

L'ipotesi che le riserve di energia rappresentate dal tessuto adiposo possano produrre molecole di segnalazione in grado di modulare sia il dispendio energetico sia l'assunzione di cibo è stata avanzata molti anni fa come base della teoria del lipostato [12]. Negli anni '70, Frisch e colleghi hanno proposto che il menarca e lo scatto di crescita adolescenziale fossero associati a un peso corporeo soglia o al contenuto di grasso corporeo [13]. La presenza di una data quantità di grasso corporeo è stata considerata necessaria per il mantenimento delle normali funzioni riproduttive nelle donne adulte [5], [14]. Pertanto, la disponibilità di depositi a basso consumo energetico è associata a segnali che portano ad un aumento dell'assunzione di cibo e di una riduzione del dispendio energetico, ma anche a una alterazione riproduttiva reversibile. Per oltre 60 anni è stato proposto che potesse esistere un collegamento tra la massa grassa e alcune aree del SNC, coinvolte nel controllo dell'assunzione di cibo, del

dispendio energetico e della fertilità [15]. Queste osservazioni suggeriscono che il tessuto adiposo dovrebbe essere considerato un organo endocrino, in grado non solo di aromatizzare gli androgeni per formare estrogeni [16], ma anche di rilasciare un segnale afferente che modula l'assunzione e la riproduzione del cibo, eventualmente agendo nei siti CNS. La scoperta della leptina potrebbe essere considerata il traguardo di quasi mezzo secolo di osservazioni su ceppi di topi geneticamente obesi, come il topo *ob* e il topo *db* [17]. Questi ceppi di topi presentano un fenotipo simile, con obesità grave e precoce, estrema insulino-resistenza, iperfagia, dispendio energetico ridotto e infertilità in entrambi i sessi [6]. È noto che il substrato genetico di questo fenotipo consiste in una mutazione del gene della leptina nel topo *ob* [10] e del gene del recettore della leptina nel topo *db* [18]. Mutazioni del gene del recettore della leptina sono state successivamente rilevate in altri ceppi di topo e ratto, come il ratto Zucker obeso *fa / fa* [19].

Il topo *ob*, insieme alla sindrome da obesità-iperfagia, mostra una marcata immaturità riproduttiva in entrambi i sessi, con ridotto peso gonadico ed uterino, basso numero di follicoli e bassi livelli di gonadotropina. L'osservazione fisiologica fondamentale che suggerisce che la leptina possa partecipare al controllo della riproduzione, unitamente a quella dell'assunzione di cibo e del dispendio energetico, è stata fornita dalla constatazione che la somministrazione di leptina non ha comportato solo il ripristino del normale peso corporeo e dell'assunzione di cibo, ma anche nel ristabilimento della fertilità nel topo *ob*, in cui manca la leptina circolante, ma non nel topo *db*, il cui difetto del recettore della leptina non può essere corretto aumentando la disponibilità del ligando [20], [21], [22]. Quindi, la leptina agisce come un fattore permissivo per la pubertà, come osservato anche nei topi normali e nei ratti [23].

Queste scoperte suggeriscono chiaramente che la leptina ha un ruolo importante nella modulazione dell'assunzione di cibo e del dispendio energetico, da un lato, e della riproduzione, dall'altro [24].

3. L'IPOTALAMO COME SEDE DI INTEGRAZIONE DI SEGNALI CENTRALI E PERIFERICI CHE REGOLANO SPESA ENERGETICA E FUNZIONE RIPRODUTTIVA

L'ipotalamo è il principale bersaglio dell'azione della leptina (*Fig. 1*), poiché il substrato neuroanatomico delle sue azioni centrali

coincide principalmente con alcuni gruppi di cellule ipotalamiche, che includono almeno quattro nuclei nell'ipotalamo mediale, il paraventricolare (PVN), arcuato (ARC), nuclei ventromediali (VMN) e dorsomediali (DMN) [25]. Recettori della leptina sono stati localizzati in varie popolazioni neuronali in queste aree. In particolare, i neuroni che producono NPY e presenti nell'ARC esprimono i recettori della leptina; inoltre, la somministrazione di leptina determina una riduzione dell'espressione del gene NPY, insieme a una riduzione dell'assunzione di cibo e ad un aumento del dispendio energetico [26]. È noto che l'NPY è anche coinvolto nel controllo della funzione riproduttiva. Pertanto, sembra ragionevole ipotizzare che una parte significativa dell'azione della leptina a livello ipotalamico possa operare attraverso le due principali vie NPY-ergiche, vale a dire la rete riproduttiva che include l'area preottica-eminenza mediana-ARC e l'asse oressigenico di l'ARC-PVN e le aree correlate, per modulare queste due funzioni [8].

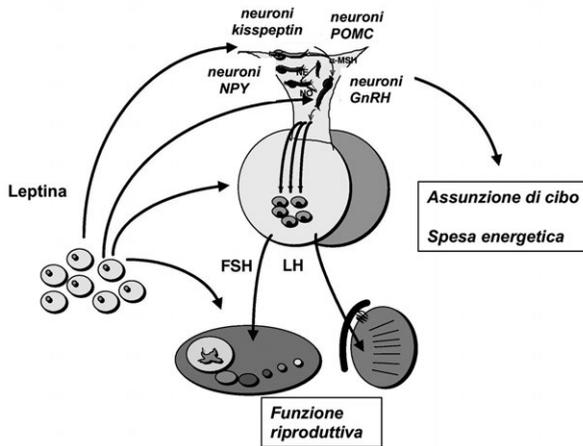


Fig. 1. Azioni centrali (ipotalamo e ipofisi) periferiche (ovaio, testicolo) della leptina nella regolazione del metabolismo energetico e assunzione alimentare e della funzione riproduttiva. (POMC, pro-opiomelanocortin; NPY, neuropeptide Y; GnRH, gonadotropin-releasing hormone; FSH, follicular-stimulating hormone; LH, luteinizing hormone).

L'interazione tra NPY e leptina è anche suggerita dall'osservazione che l'incrocio del topo NPYknock-out con il topo *ob* diminuiva il grado di obesità presente in quest'ultimo [27]. Inoltre, altri gruppi di neuroni ipotalamici sembrano essere coinvolti nella modulazione dell'assunzione di cibo da parte della leptina, così come del sistema

GnRH (gonadotropin-releasing hormone)-gonadotropine. I neuroni che esprimono i geni che codificano per i diversi neuropeptidi indicati sopra sono possibili bersagli dell'azione della leptina e possiedono recettori per leptina [28], [29]. Vari studi suggeriscono la possibilità che la leptina possa influenzare i neuroni del GnRH sia direttamente che indirettamente [30]. Inoltre, i recettori della leptina sono stati localizzati a livello ipofisario e la leptina ha dimostrato di aumentare la secrezione di gonadotropine, sia in vivo che in vitro [37], [39], indipendentemente dall'azione ipotalamica.

4. STUDI NELL'UOMO

Esaminando il significato degli effetti della leptina in patologia umana, si può ricordare che l'obesità umana è spesso associata a disturbi della riproduzione. In questa condizione, la massa grassa eccessiva potrebbe influenzare negativamente l'asse riproduttivo attraverso una secrezione alterata di almeno due prodotti dell'adiposo, la leptina e gli estrogeni. Tuttavia, il quadro osservato nell'obesità umana comune sembra molto più complesso rispetto ai modelli sperimentali di obesità. Nei pazienti obesi, i livelli di leptina plasmatica sono solitamente proporzionali alla massa grassa e quindi elevati. Nonostante ciò, l'eccesso di tessuto adiposo viene mantenuto nell'obesità, portando all'ipotesi di una sorta di resistenza alla leptina, che non può essere superata dagli alti livelli plasmatici di leptina. Questo concetto è corroborato anche dall'osservazione di un ridotto rapporto liquido / plasma cerebrospinale del contenuto di leptina [31], che suggerisce un trasporto difettoso dell'ormone attraverso la barriera emato-encefalica. Un'altra alterazione presente nei pazienti obesi è che il rapporto leptina legata / leptina libera è invertito, rispetto ai soggetti con peso normale. Nei soggetti obesi, la leptina libera rappresenta il 70-80% della leptina plasmatica totale, mentre nei soggetti normopeso la leptina libera è solo circa il 10-15% del totale [32].

L'insorgenza di mutazioni inattivanti nel gene della leptina, che sono osservate nel topo *ob*, è estremamente rara negli esseri umani; tuttavia, i pochi casi riportati confermano che la leptina svolge un ruolo importante collegando adiposità e riproduzione. In particolare, i pazienti adulti e maschi adulti con la sostituzione di Arg105Trp nel gene della leptina sono obesi e caratterizzati da amenorrea primaria e stato prepuberale, rispettivamente [33]. Questa osservazione rafforza anche il concetto

che la leptina non è solo un fattore permissivo per le funzioni riproduttive nell'adulto, ma potrebbe rappresentare una barriera metabolica per l'inizio della pubertà, come suggerito dall'aumento peripuberale dei livelli plasmatici dell'ormone in entrambi i sessi [34]. È interessante notare che le interazioni tra la leptina e il sistema riproduttivo sono bidirezionali, poiché non solo i livelli di leptina plasmatica influiscono sulla fertilità, ma anche la funzione gonadica (ad esempio la produzione gonadica di ormoni sessuali) modula la sintesi e la secrezione della leptina. Questo è alla base del noto dimorfismo sessuale dei livelli di leptina circolante nell'uomo, che inizia subito dopo la pubertà [35].

5. CONCLUSIONI

Fin dalla sua formulazione originale nei primi anni '70 e in assenza di un substrato molecolare specifico, la "ipotesi di massa grassa critica" è stata un argomento controverso. Tuttavia, la leptina sembra corrispondere a diversi requisiti per una molecola che collega la regolazione del bilancio energetico, e in particolare la quantità di energia immagazzinata come massa grassa, e il controllo della riproduzione [15]. In ogni caso, il quadro potrebbe essere più complesso, poiché dati recenti suggeriscono un possibile contributo della leptina prodotta dal cervello al pool dell'ormone presente in circolazione e disponibile nel SNC, indicando quindi che il tessuto adiposo potrebbe non essere l'unica fonte dell'ormone circolante [36]. Gli studi futuri dovrebbero affrontare sia questioni fisiologiche, come lo spettro completo delle azioni pleiotropiche della leptina, sia problemi patologici.

BIBLIOGRAFIA

1. Wade GN, Schneider JE, Metabolic fuels and reproduction in female mammals, *Neurosci, Biobehav Rev*, 1992; 16: 235-272.
2. Woods SC, Seeley RJ, Porte D Jr, Schwartz MW, Signals that regulate food intake and energy homeostasis, *Science*, 1998; 280: 1378-1383.
3. Lane P, Dickie M, Fertile, obese male mice, *J Hered*, 1954; 45: 56-58.
4. Coleman D, Diabetes-obesity syndromes in mice, *Diabetes*, 1982; 31: 1-6.
5. Stewart DE, Reproductive function in eating disorders, *Ann Med*, 1992; 24: 287-291.
6. Mounzih K, Lu R, Chehab FF, Leptin treatment rescues the sterility of genetically obese ob/ob males, *Endocrinology*, 1997; 138: 1190-1193.

7. Norman RJ, Clark AM, Obesity and reproductive disorders: a review, *Reprod Fertil Devel*, 1998; 10: 55-63.
8. Kalra SP, Dube MG, Pu S, Xu B, Horvath TL, Kalra PS, Interacting appetite-regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight, *Endocrine Rev*, 1999; 20: 68-100.
9. Roa J, Barroso A, Ruiz-Pino F, Vázquez MJ, Seoane-Collazo P, Martínez-Sánchez N, et al., Metabolic regulation of female puberty via hypothalamic AMPK-kisspeptin signaling, *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 2018; doi: 10.1073/pnas.1802053115.
10. Kalra SP, Kalra PS, Nutritional infertility: the role of the interconnected hypothalamic neuropeptide Y-galanin-opioid network, *Frontiers Neuroendocrinol*, 1996; 17: 371-401.
11. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Baroni M, Leopold L, Friedman JM, Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue, *Nature*: 1994: 372: 425-432.
12. Kennedy GC, The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat, *Proc R Soc Med*, 1953; 140: 578-592.
13. Frisch RE, McArthur JW, Menstrual cycles: fatness as a determinant of minimum weight or height necessary for maintenance or onset, *Science*, 1974: 185: 949-951.
14. Frisch RE, Pubertal adipose tissue: is it necessary for normal sexual maturation? Evidence from the rat and human female, *Feder. Proc.*, 1980: 39: 2395-2400.
15. Rosenbaum M, Leibel R. A molecule integrating somatic energy stores, energy expenditure and fertility, *Trends Endocrinol. Metab.*, 1998; 9: 117-124.
16. Simpson ER, Mahendroo MS, Means GD, Kilgore MW, Aromatase cytochrome P450, the enzyme responsible for estrogen biosynthesis, *Endocrine Rev*, 1994: 15: 342-355.
17. Caro J, Sinha M, Kolaczynski J, Zhang O, Considine R, Leptin: the tale of an obesity gene, *Diabetes*, 1996: 45: 1455-1462.
18. Tartaglia LA, Damski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, et al, Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R, *Cell*, 1995: 83: 1263-1271.
19. Leibel RL, Chung WK, Chua SC, The molecular genetics of rodent single gene obesities, *J Biol Chem*, 1997: 272: 31937-31940.
20. Barash IA, Cheung CC, Weigle DS, Ren H, Kabigting EB, Kuijper JL, Clifton DK, Steiner RA, Leptin is a metabolic signal to the reproductive system, *Endocrinology*, 1996: 137: 3144-3147.
21. Chehab FF, Lim M, Ronghua L, Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin, *Nature Genetics*, 1996, 12, 318-320.
22. Chehab FF, Mounzih K, Lu R, Lim ME, Early onset of reproductive function in normal female mice treated with leptin, *Science*, 1997: 275: 88-90.
23. Cheung CC, Thornton JE, Kuijper JL, Weigle DS, Clifton DK, Steiner RA, Leptin is a metabolic gate for the onset of puberty in the female rat, *Endocrinology*, 1997: 138: 855-858.

24. Magni P, Motta M, Martini L, Leptin: a possible link between food intake, energy expenditure, and reproductive function, *Regul Pept*, 2000: 92: 51-56.
25. Schwartz MW, Seeley RJ, Campfield LA, Burn P, Baskin DG, Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus, *J Clin Invest*, 1996: 98: 1101-1106.
26. Schwartz MW, Baskin DG, Bukowski TR, Kuijper JL, Foster D, Lasser G, Prunkard DE, Porte DJ, Woods SC, Seeley RJ, Weigle DS, Specificity of leptin action on elevated blood glucose levels and hypothalamic neuropeptide Y gene expression in ob/ob mice, *Diabetes*, 1996: 45: 531-535.
27. Erickson JC, Hollopeter G, Palmiter RD, Attenuation of the obesity syndrome of ob/ob mice by the loss of neuropeptide Y, *Science*, 1996: 274: 1704-1707.
28. Magni P, Maggi R, Pimpinelli F, Motta M, Cholinergic muscarinic mechanisms regulate neuropeptide Y gene expression via protein kinase C in human neuroblastoma cells, *Brain Res.*, 1998: 798: 75-82.
29. Sahu A, Evidence suggesting that galanin (GAL), melanin-concentrating hormone (MCH), neurotensin (NT), proopiomelanocortin (POMC) and neuropeptide Y (NPY) are targets of leptin signaling in the hypothalamus, *Endocrinology*, 1998: 139: 795-798.
30. Magni P, Vettor R, Pagano C, Calcagno A, Beretta E, Messi E, Zanisi M, Martini L, Motta M, Expression of a leptin receptor in immortalized GnRH-secreting neurons, *Endocrinology*, 1999: 140: 1581-1585.
31. Caro JF, Kolaczynski JW, Nyce MR, Ohannesian JP, Opentanova I, Goldman WH, Lynn RB, Zhang PL, Sinha MK, Considine RV, Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio obesity: a possible mechanism for leptin resistance, *Lancet*, 1996: 348: 159-161.
32. Magni P, Liuzzi A, Ruscica M, Dozio E, Ferrario S, Bussi I et al., Free and bound plasma leptin in normal weight and obese men and women: relationship with body composition, resting energy expenditure, insulin-sensitivity, lipid profile and macronutrient preference, *Clinical Endocrinology*, 2005: 62: 189-196.
33. Strobel A, Issad T, Camoin M, Ozata M, Strosberg AD, A leptin mutation associated with hypogonadism and morbid obesity, *Nature Genetics*, 1998: 18: 213-215.
34. Mantzoros C, Flier J, Rogol A, A longitudinal assessment of hormonal and physical alterations during normal puberty in boys. V: Rising leptin levels may signal the onset of puberty, *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 1997: 1982: 1065-1070.
35. Rosenbaum M, Nicolson M, Hirsch J, Heymsfield SB, Gallagher D, Chu F, Leibel RL, Effects of gender, body composition, and menopause on plasma concentrations of leptin, *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 1996: 81: 3424-3427.
36. Wiesner G, Vaz M, Collier G, Seals D, Kaye D, Jennings G, Lambert G, Wilkinson D, Esler M, Leptin is released from the human brain: influence of adiposity and gender, *J Clin. Endocrinol. Metab.*, 1999: 84: 2270-2274.