

Contrôle neuro-humoral de la mobilisation des lipides : intérêt et limites de la physiologie comparée

CNS and hormone control of lipid mobilization: interest and limits of comparative physiology

Par Max LAFONTAN⁽¹⁾
(communication présentée le 7 octobre 2004)

RÉSUMÉ

Le contrôle de la mobilisation des lipides stockés dans le tissu adipeux est un processus étroitement contrôlé par le système neuro-humoral. La lipolyse, processus assurant l'hydrolyse des triglycérides stockés dans la gouttelette lipidique des adipocytes, et la libération du glycérol et des acides gras non estérifiés, est une fonction très spécifique du tissu adipeux. Il n'existe pas d'autre tissu capable de fournir à court et long terme des quantités notables d'acides gras non-estérifiés. Libérés dans le plasma où ils se lient à l'albumine, ils constituent un substrat oxydatif privilégié pour le muscle squelettique, le foie, le rein et le myocarde. Ce mémoire récapitule les mécanismes d'action des divers signaux neuro-humoraux (catécholamines, insuline, peptides natriurétiques, adénosine, neuropeptide Y, peptide YY, prostaglandines) impliqués dans le contrôle de la lipase hormono-sensible et de l'hydrolyse des triglycérides de l'adipocyte de l'homme et de divers petits mammifères utilisés dans les laboratoires. Nous insistons plus particulièrement sur les disparités interspécifiques et leurs conséquences potentielles pour l'extrapolation des données acquises sur les modèles animaux, à l'homme et à la recherche clinique.

Mots-clés : adipocytes, lipolyse, récepteurs bêta-adrénergiques, récepteurs alpha2-adrénergiques, lipase hormono-sensible, peptides natriurétiques.

SUMMARY

The mobilization of lipids stored in adipose tissue is closely controlled by neuro-humoral signals. The process of lipolysis, i.e. the hydrolysis of triglycerides stored in fat cells (or adipocytes) and release of glycerol and non-esterified fatty acids, is highly specific of the adipose tissue. No other tissue is able to provide notable amounts of non-esterified fatty acids, whether on a short-term or long-term basis. Once they reach the plasma where they bind to albumin, these fatty acids are used as preferred oxidative substrate by skeletal muscle, liver, kidney and myocardium. This article summarises the mechanisms of action of various neuro-humoral mediators (catecholamines, insulin, natriuretic peptides, adenosine, neuropeptide Y, peptide YY, prostaglandins) involved in the control of hormone-sensitive lipase activity and hydrolysis of triglycerides in fat cells in man and in various small mammal models used in laboratories. Species-specific differences and their potential consequences on extrapolation from animal models to man and clinical research are highlighted.

Key words: adipocytes, lipolysis, beta-adrenergic receptors, alpha2-adrenergic receptors, hormone-sensitive lipase, natriuretic peptides.

(1) Unité INSERM-UPS 586, Unité de Recherches sur les Obésités, Université Paul Sabatier, IFR31 - Institut Louis Bugnard, Bât L3, Hôpital Rangueil, TSA 50032, 31059 Toulouse CEDEX 9.

• INTRODUCTION

Le développement du tissu adipeux (TA) permet la survie des espèces confrontées à des approvisionnements en nourriture réduits et irréguliers. En contrepartie, en contribuant à l'augmentation de la masse des animaux, un développement excessif de ce tissu, rare chez l'animal sauvage, pourra favoriser la prédation d'un grand nombre d'entre eux. Des mécanismes sophistiqués permettent d'ajuster la taille du TA en fonction des besoins, comme pendant le jeûne (en hiver par exemple), les phases de pré-hibernation chez les mammifères hibernants ou la gestation. L'expansion du TA blanc varie en fonction des saisons chez de nombreuses espèces d'oiseaux et de mammifères. L'évolution des modes de vie (sédentarisation accrue de l'homme et domestication des animaux de rente) vont avoir un impact notable sur le devenir des réserves adipeuses et coïncider avec l'apparition de l'obésité. De nos jours, dans les sociétés nanties, il est bien difficile pour l'homme d'échapper à une prise de poids dans un contexte de sédentarisation massive et de disponibilités alimentaires très envahissantes.

D'un point de vue quantitatif, le tissu adipeux blanc est le plus grand organe de stockage énergétique de l'organisme des mammifères et de l'homme (de 10 à 15 kg chez l'homme adulte sain). Chez l'adulte, on considère que les changements de masse grasse sont essentiellement dus à des modifications de taille des cellules adipeuses, autrement dit, à des modifications de leur contenu en triglycérides (TG). Les processus régissant la prolifération et/ou le recrutement de précurseurs adipocytaires (préadipocytes) qui vont contribuer à une hyperplasie cellulaire dans les dépôts adipeux sont encore peu connus. Chez un individu adulte sain, on considère que 100 à 300 grammes de TG sont hydrolysés ou synthétisés chaque jour au sein du tissu adipeux. Tout déséquilibre dans ce processus de renouvellement permanent des réserves lipidiques est susceptible de conduire à un excès de masse grasse et à l'obésité. Les échanges métaboliques entre le tissu adipeux et le sang circulant concernent essentiellement des molécules hydrophobes, plus spécifiquement les TG et les acides gras non estérifiés (AGNE). Ces substrats ne sont pas solubles dans le plasma et nécessitent des mécanismes de transport pour être mobilisés ou délivrés aux tissus.

Le tissu adipeux stocke l'énergie sous la forme de TG. Même si de petites quantités de TG sont retrouvées dans le muscle squelettique et le foie, la grande majorité (plus de 95 %) des TG est stockée dans le TA blanc. Les lipides et TG issus de l'alimentation ou de la lipogenèse hépatique *de novo* sont véhiculés dans le sang sous forme de lipoprotéines. La principale source des TG de l'adipocyte provient donc des chylomicrons et des lipoprotéines de très basse densité (VLDL) circulants dont les TG sont hydrolysés par la lipoprotéine lipase (LPL), synthétisée par l'adipocyte, ancrée aux cellules endothéliales microvasculaires et localisée dans la lumière des capillaires irriguant le TA. Les AGNE issus de la dégradation de ces TG sont captés par les adipocytes, via un mécanisme actif. Cette étape est suivie d'une activation des acides gras sous forme d'acyl-CoA qui seront estérifiés en TG et intégrés dans la goutte-

lette lipidique de l'adipocyte. Les AGNE circulants sont aussi captés par l'adipocyte et re-estérifiés.

La lipolyse, hydrolyse des TG et libération des AGNE stockés par l'adipocyte, est une fonction très spécifique du tissu adipeux; il n'existe pas d'autre tissu capable de fournir à court et long terme des quantités notables d'AGNE. Les AGNE issus de la lipolyse sont libérés dans le plasma où ils se lient à l'albumine. Ils constituent un substrat oxydatif privilégié pour le muscle squelettique, le foie, le rein et le myocarde (COPPACK, JENSEN et MILES, 1994). Leur utilisation par les tissus permet l'épargne du glucose, et limite la mobilisation excessive des protéines au cours de périodes d'utilisation intense des métabolites énergétiques. Certains acides gras polyinsaturés sont directement précurseurs de dérivés actifs tels que les eicosanoïdes. Les AGNE peuvent s'accumuler temporairement dans le foie sous forme de TG stockés dans les lipoprotéines de très faible densité (VLDL), ou être convertis en corps cétoniques. En dehors de leur contribution essentielle à la participation à l'équilibre énergétique de l'organisme, les AGNE peuvent avoir un rôle métabolique particulièrement délétère lorsqu'ils stagnent durablement et en excès dans le plasma. Leur taux plasmatique à jeun est élevé chez la plupart des sujets obèses. Bien que les mécanismes soient encore mal connus, les AGNE sont fortement pressentis comme jouant un rôle dans l'installation de l'insulino-résistance et l'apparition d'un diabète non insulino-dépendant (dit diabète de type 2), chez des patients obèses présentant des prédispositions génétiques pour cette pathologie (BODEN, 1997 ; MCGARRY, 2002). Enfin, les acides gras peuvent régler l'expression de certains gènes, via leur interaction avec des récepteurs nucléaires hormonaux de type stéroïdien, les récepteurs des activateurs de prolifération des peroxisomes (PPARs) (*peroxisome proliferator-activated receptors*) (GRIMALDI, 2001).

• CONTRÔLE NEURO-HUMORAL DE LA LIPOLYSE ET DE LA MOBILISATION DES LIPIDES. ASPECTS GÉNÉRAUX

La compréhension des mécanismes moléculaires et la définition des enzymes et divers autres partenaires impliqués dans le contrôle neuro-hormonal de lipolyse ont notablement progressé grâce aux études effectuées sur la cellule adipeuse isolée. Les éléments essentiels du contrôle de la voie lipolytique ont été établis à partir des données acquises sur l'adipocyte de rongeur. L'utilisation des adipocytes issus des lignées préadipocytaires murines a permis de parfaire certains points difficiles à explorer sur l'adipocyte isolé. Enfin, l'invalidation de divers gènes et /ou l'expression ciblée de certains d'entre eux a permis de parfaire nos connaissances des dernières années et révéler le rôle de partenaires non identifiés (VALET *et al.*, 2002).

La lipolyse, processus contrôlant l'hydrolyse des TG stockés dans l'adipocyte, est une fonction très spécifique de l'adipocyte (LANGIN, LUCAS et LAFONTAN, 2000 ; KRAEMER et SHEN, 2002 ; YEAMAN, 2004). Pendant la lipolyse, les TG et diglycérides (DG) intracellulaires vont être hydrolysés sous l'action d'une lipase intracellulaire, la

lipase hormono-sensible (LHS). La LHS est un substrat de la protéine kinase A (PKA), enzyme activée par l'AMPc, ainsi que de la protéine kinase G, enzyme activée par le GMPcyclique (GMPc) (Figure 1). En plus de sa régulation par la PKA et la PKG, la LHS est réglée négativement par la kinase activée par le 5'-AMP (AMPK) (HARDIE, 2003; YIN, MU et BIRNBAUM, 2003). Les AGNE formés, sont libérés par l'adipocyte grâce aux protéines de transfert des acides gras (la protéine de liaison des acides gras-ALBP) (FROHNERT et BERNLOHR, 2000), et vont être délivrés par la circulation aux tissus utilisateurs. Par contre, le glycérol produit, originellement supposé diffuser par un processus passif, n'est pas directement réutilisable par l'adipocyte qui possède une activité glycérokinase très réduite. Selon les données les plus récentes, le glycérol franchirait la membrane de l'adipocyte grâce à l'activité d'un canal spécifique du tissu adipeux : l'aquaporine AQPap (*aquaporin adipose*) (KISHIDA *et al.*, 2000). Pendant le jeûne, la phosphoénolpyruvate carboxykinase cytosolique (PEPCK-

C) de l'adipocyte peut participer à la néoglycogénèse qui fournira le glycérol-3-phosphate nécessaire afin que certains AGNE puissent être réutilisés sur place et re-estérifiés en TG (BEALE *et al.*, 2002).

• LA LIPASE HORMONO-SENSIBLE (LHS), ENZYME-CLÉ DU CONTRÔLE DES PROCESSUS LIPOLYTIQUES

La LHS est l'enzyme responsable de l'hydrolyse des TG et de la libération d'AGNE par l'adipocyte. Elle a été décrite depuis de nombreuses années comme étant l'étape limitante de la lipolyse (LANGIN, HOLM et LAFONTAN, 1996 ; HOLM *et al.*, 2000). Elle possède une spécificité étendue vis-à-vis de divers substrats lipidiques allant des TG et DG, aux esters de cholestérol et rétinyl esters. Bien que les activités LHS les plus élevées soient rencontrées dans le TA blanc et brun, l'enzyme est également exprimée dans divers autres tissus incluant, le testicule, les surrénales, les ovaires et à un degré moindre, le muscle squelettique et cardiaque, le pancréas et les macrophages

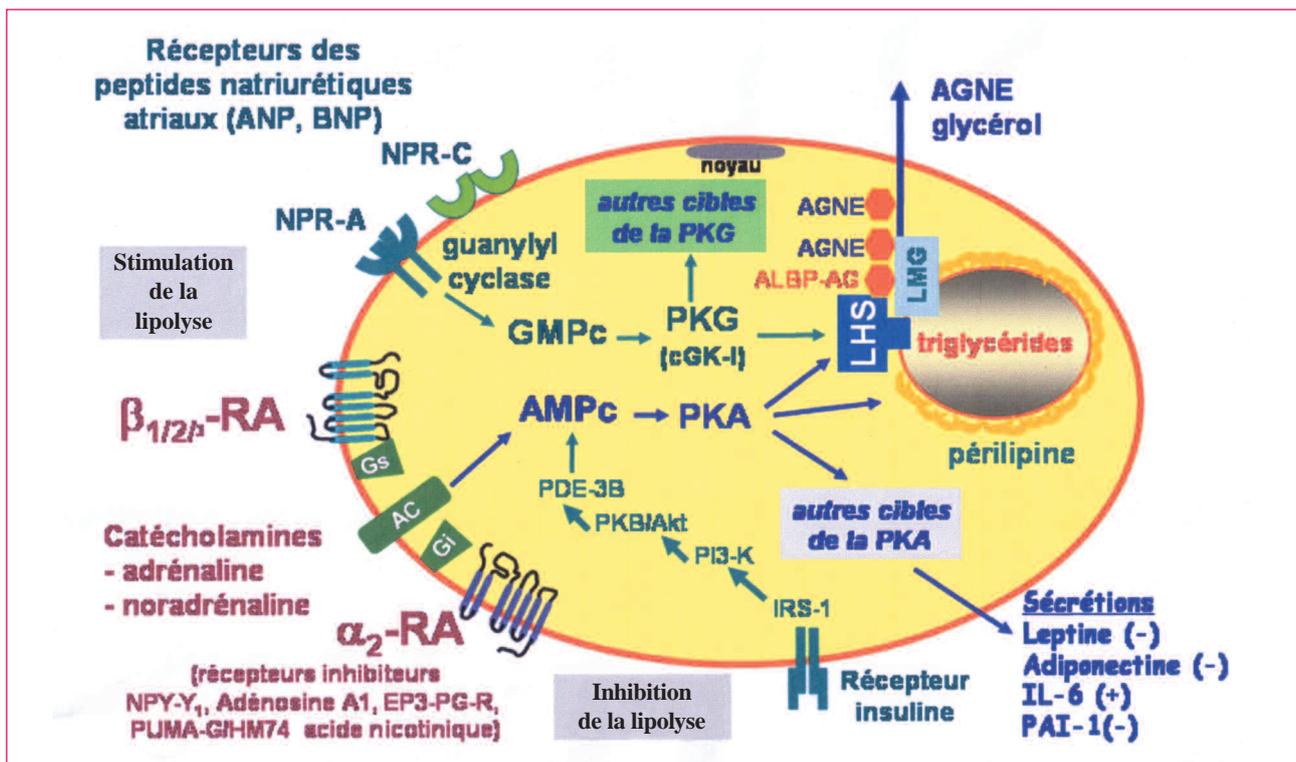


Figure 1 : Contrôle de la lipolyse dans l'adipocyte humain. Les récepteurs β - et α_{2A} -adrénergiques sont couplés positivement ou négativement à l'adénylyl cyclase et à la production d'AMPc par des protéines G hétérotrimériques (Gs et Gi). Ces protéines sont constituées de trois sous-unités fonctionnelles (α et $\beta\gamma$) fixées à la membrane plasmique par des lipides. La stimulation des récepteurs $\beta_{1/2}$ - ou α_{2A} -adrénergiques active les protéines Gs ou Gi respectivement. L'AMPc produit par l'activation de l'adénylyl cyclase active la protéine kinase A (PKA) qui va stimuler la phosphorylation des périlipines et de la lipase hormono-sensible (LHS). La PKA phosphoryle également diverses autres protéines cibles de l'adipocyte (non figurées dans le diagramme). Les éléments impliqués dans la transduction du signal insulinaire (récepteur insuline, IRS-1/2, PI3-kinase et PKB/Akt) et l'activation de la phosphodiesterase de type 3B (PDE-3B), qui hydrolyse l'AMPc, sont également représentés dans le diagramme. Cette voie exerce des effets modulateurs puissants sur la lipolyse adrénérergique. Les peptides natriurétiques stimulent l'activité guanylyl cyclase du récepteur NPR-A des peptides natriurétiques, induisent une augmentation des taux de GMPc, l'activation d'une protéine kinase G (PKG, cGK-I) puis la phosphorylation de la périlipine et de la LHS. La LHS activée par sa phosphorylation hydrolyse les tri- et di-glycérides. Les monoglycérides sont hydrolysés par une lipase des monoglycérides (LMG). L'activité lipolytique de l'adipocyte humain est sous le contrôle permanent des voies pro-lipolytiques (β -adrénergiques, peptides natriurétiques) et antilipolytiques (insuline, α_2 -adrénergiques, adénosine, prostaglandines, neuropeptide-Y et peptide-YY). Le système nerveux sympathique contrôle également (positivement ou négativement) la production de protéines sécrétées par l'adipocyte (telles que la leptine, l'adiponectine/Acrp30, l'interleukine-6 ou l'inhibiteur-1 de l'activateur du plasminogène (plasminogen activator inhibitor-(PAI-1)). ALBP-AG représente la protéine de liaison des acides gras qui va influencer l'exportation des acides gras non-estérifiés (AGNE) vers le compartiment extracellulaire.

(HAEMMERLE, ZIMMERMANN et ZECHNER, 2003 ; YEAMAN, 2004). Jusque très récemment, la LHS était considérée comme étant l'enzyme limitante de la dégradation des TG et des esters de cholestérol dans l'adipocyte. Sa place exacte dans le contrôle de l'activité lipolytique globale a été réévaluée récemment. En effet, bien que l'invalidation du gène codant pour la LHS entraîne, comme escompté, une réduction notable de la réponse lipolytique aux catécholamines, l'activité lipolytique de base est préservée (OSUGA *et al.*, 2000). Bien que les souris obtenues ne soient pas obèses, le métabolisme lipidique est altéré. On constate une accumulation de DG adipocytaires. Une carboxylestérase 3 (EC 3.1.1.1) a été récemment identifiée et purifiée dans l'adipocyte de rat. Cette lipase semble être responsable des activités lipases indépendantes de la LHS. Elle pourrait intervenir dans le contrôle de la lipolyse qui a été constatée chez les souris invalidées pour le gène de la LHS (SONI *et al.*, 2004). Sa contribution physiologique à la gestion des stocks de TG dans l'adipocyte reste encore à préciser chez les rongeurs et chez l'homme.

La LHS interviendrait également dans l'efflux des AGNE; en effet, la partie N-terminale de la LHS s'associe à la protéine de liaison des acides gras (ALBP). Ce processus facilite l'efflux des AGNE (SHEN *et al.*, 1999). L'invalidation du gène codant pour ALBP est associée à une réduction des capacités lipolytiques des adipocytes (COE, SIMPSON et BERNLOHR, 1999 ; SCHEJA *et al.*, 1999). Les périlipines sont des protéines associées à la gouttelette lipidique dans les cellules spécialisées pour le stockage de lipides, telles que l'adipocyte et les cellules stéroïdogéniques (LONDOS *et al.*, 1995). Les périlipines A, B et C sont le résultat de l'épissage alternatif d'un ARNm issu d'un gène unique. Elles représentent de 0,25 à 0,5% des protéines totales de l'adipocyte. La périlipine A, prédominante dans l'adipocyte, bloque de façon stérique l'accès de la LHS à la gouttelette lipidique sans avoir d'effet direct sur l'activité de la LHS (SZTALRYD *et al.*, 2003). La périlipine A, comme la LHS, est un substrat de la protéine kinase A (PKA), enzyme activée par l'AMPC, ainsi que de la protéine kinase G, activée par le GMPc. Seule la forme phosphorylée de la périlipine permet à la LHS d'accéder aux TG de la gouttelette lipidique. L'invalidation du gène codant pour les périlipines chez la souris conduit à une diminution de la masse adipeuse ainsi qu'à une résistance à l'obésité induite par un régime lipidique (MARTINEZ-BOTAS *et al.*, 2000 ; TANSEY *et al.*, 2001). Les souris déficientes en périlipine protègent également de l'obésité massive induite par une déficience du récepteur de la leptine (comme dans les souris db/db génétiquement obèses). Un travail récent a montré que parmi les cavéolines, la cavéoline-1, localisée majoritairement dans la membrane plasmique, joue un rôle dans l'accumulation et l'hydrolyse des TG de la gouttelette lipidique. Elle est nécessaire à la phosphorylation de la périlipine A par la PKA (COHEN *et al.*, 2004). Les souris invalidées pour le gène de la cavéoline-1 sont résistantes à l'obésité. Une perte de la cavéoline-1 conduit à un défaut d'accumulation de lipides et à une atrophie du tissu adipeux blanc (RAZANI *et al.*, 2002). Des approches protéomiques récentes révèlent qu'une grande

diversité de protéines est associée à la gouttelette lipidique. Une stimulation lipolytique va induire de puissants remaniements, encore mal compris, de certaines d'entre elles (BRASAEMLE *et al.*, 2004). On retiendra qu'en dehors de la LHS, plusieurs protéines affectent l'activité lipolytique ; elles constituent autant de cibles potentielles susceptibles de moduler le processus de la lipolyse.

Le schéma général de la cascade lipolytique a été largement élaboré à partir de travaux effectués sur l'adipocyte de rongeur. Le schéma initial s'est essentiellement enrichi par la découverte de disparités interspécifiques notables dans l'action des hormones et une amélioration des données acquises chez l'homme. Le diagramme (figure 1) récapitule les diverses voies impliquées dans le contrôle de la lipolyse dans l'adipocyte humain. En dehors de l'action de l'insuline, la régulation de la lipolyse dépend essentiellement de la balance fonctionnelle entre des récepteurs stimulant ou inhibant l'adénylyl cyclase et la production d'AMPC. La cascade lipolytique peut arbitrairement être divisée en deux parties : les systèmes principalement membranaires contrôlant l'action des hormones et des neuromédiateurs (récepteurs, protéines Gs et Gi, adénylyl cyclase, guanylyl cyclase) et la production des seconds messagers (AMPC et GMPc) et les éléments aboutissant à l'activation de la lipase hormono-sensible (protéine-kinases A et G, périlipine A, protéine de liaison des acides gras et autres protéines aux fonctions encore mal définies), principalement cytosoliques.

• LES MÉCANISMES ACTIVATEURS DE LA LIPOLYSE

La stimulation de nombreux récepteurs à sept domaines transmembranaires par les facteurs neuro-hormonaux ou autacoïdes conduit à une stimulation de l'adénylyl-cyclase via des récepteurs couplés à des protéines G (type Gs) ou à une inhibition de celle-ci via des récepteurs couplés à des protéines Gi. L'augmentation du taux d'AMPC intracellulaire permet l'activation de la PKA, la phosphorylation de la périlipine et de la LHS et l'activation de la lipolyse. Des récepteurs aux peptides natriurétiques (*Atrial Natriuretic Peptide* ou ANP et *Brain Natriuretic Peptide* ou BNP) à activité guanylyl cyclase (dont la stimulation génère du GMPc, active une protéine kinase G, phosphoryle la périlipine et LHS en conduisant à une stimulation de la lipolyse), ont été récemment découverts dans les adipocytes de l'homme et des primates (SENGENES *et al.*, 2000) (figure 1).

Les catécholamines sont impliquées dans le contrôle de la lipolyse adipocytaire de la plupart des espèces animales étudiées couramment en laboratoire (rat, souris, hamsters, lapin, chien, cobaye, primates et homme) (LAFONTAN et BERLAN, 1993). Par contre, une grande disparité interspécifique est constatée quant à l'action lipolytique des peptides (tableau 1). Les adipocytes du poulet et des oiseaux répondent puissamment au glucagon mais ils ne sont pas activables par les catécholamines. Le glucagon et les dérivés issus de la pro-opiomélanocortine [ACTH (hormone corticotrope), α -MSH (hormone mélanostimulante) et β -LPH (lipotropine)] stimulent puissamment la lipolyse *in vitro* d'adipocytes de

lapin, de hamster, de souris et de rats jeunes, alors que leur effet est nul dans l'adipocyte de chien, du primate et d'homme. Les données restent encore trop parcellaires pour savoir s'il existe un gradient phylogénétique des effecteurs neuro-humoraux de la lipolyse; ce gradient s'étendant des espèces où les peptides sont les effecteurs principaux (poulet, lapin) aux espèces chez lesquelles les catécholamines exercent une action prépondérante. Divers autres agents : l'hormone lutéinisante (LH), la thyroestimuline (TSH), la sécrétine, le polypeptide vasoactif intestinal (VIP), la vasopressine, le peptide hypophysaire activant l'adénylyl-cyclase (PACAP), l'hormone parathyroïdienne (PTH), ont été suspectés de stimuler la lipolyse selon une voie dépendant de la production d'AMPC]. En l'absence de données plus sûres, leur efficacité à des concentrations largement extraphysiologiques semble leur ôter un quelconque rôle physiologique en l'état actuel de nos connaissances.

De nouvelles voies de contrôle de la production d'AMPC et de la lipolyse ont été découvertes dans les adipocytes. La stimulation des récepteurs β_3 -adrénergiques provoque une activation simultanée de la PKA et de la voie des MAP-kinases (ERK1/2). Cet effet original, médié par une protéine Gi, est susceptible d'intervenir dans la modulation des effets lipolytiques des β_3 -agonistes (SOEDER *et al.*, 1999). Le facteur de nécrose tumorale (TNF- α), doué de propriétés lipolytiques modestes, stimule également la voie des MAP-kinases (ERK1/2)⁽²⁾ dans les adipocytes de rongeurs et dans des préadipocytes différenciés humains. L'activation des MAP-kinases est associée à une augmentation des taux d'AMPC intracellulaires et à une phosphorylation de la lipase hormono-sensible (Ser⁶⁰⁰) (GREENBERG *et al.*, 2001; ZHANG *et al.*, 2002).

• LES MÉCANISMES INHIBITEURS DE LA LIPOLYSE

L'insuline est l'agent antilipolytique majeur dans la plupart des espèces animales étudiées. Le récepteur à l'insuline est un récepteur à activité tyrosine kinase. Cette activité est portée par les sous-unités β alors que deux sous-unités α , reliées à deux sous-unités β par des ponts disulfures, assurent la liaison de l'hormone. L'activation du récepteur par transphosphorylation (c'est-à-dire la phosphorylation d'une sous-unité β par l'autre sous-unité) entraîne une cascade de signalisation en aval du récepteur qui est maintenant bien établie (CAPEAU, 2003). Elle implique dans l'ordre, les *insulin receptor substrate* (IRS1/2), la phosphatidyl-inositol-3-kinase (PI3-K), la protéine kinase B/Akt (PKB/Akt) et la phosphodiesterase-3B (PDE-3B). Chacun de ces partenaires est activé par phosphorylation. La PDE-3B, enzyme de 135 kDa associée à la membrane plasmique, est la phosphodiesterase majoritaire de l'adipocyte; elle est phosphorylée sur un résidu sérine (Ser-302) et activée par la PKB/Akt en réponse à l'insuline. Notons que ce même résidu sérine est également phosphorylable par la protéine kinase dépendant de l'AMPC (PKA). La PDE-3B possède une bonne

affinité pour l'AMPC (Km faible) et son activité augmente rapidement en réponse à une faible concentration d'insuline ou d'isoprénaline (agoniste β -adrénergique). Cette enzyme rompt la liaison 3'-5' phosphodiester de l'AMPC pour le transformer en un métabolite inactif, le 5'-AMP (DEGERMAN, BELFRAGE et MANGANIELLO, 1997). L'effet antilipolytique de l'insuline est essentiellement dû à la baisse des taux d'AMPC (figure 1). On ne peut exclure totalement la possible activation de sérine-thréonine phosphatases (type PP2A et PP2C) identifiées dans l'adipocyte de rat et susceptibles de déphosphoryler la LHS activée. Cet aspect a été peu étudié jusqu'ici.

Les adipocytes de l'homme et des diverses espèces animales de laboratoire sont équipés de divers types de récepteurs, couplés à des protéines G inhibitrices de type Gi. Leur stimulation provoque une diminution des taux intracellulaires d'AMPC et une inhibition de la lipolyse de base ou de la lipolyse stimulée par des agents lipolytiques provoquant une production d'AMPC. L'activation simultanée de récepteurs stimulants et inhibiteurs de l'adénylyl cyclase a une incidence sur la réponse lipolytique qui dépendra de la concentration locale des ligands et de leur affinité relative pour leurs récepteurs respectifs. De plus, leur densité et l'efficacité du couplage des divers types de récepteurs aux protéines G pourra également affecter la réponse lipolytique. Une inhibition de la lipolyse peut être induite par la stimulation de divers types de récepteurs inhibiteurs à sept domaines transmembranaires couplés à une protéine Gi : récepteur adénosine de type A1 (pour l'adénosine), récepteur de type EP-3 (pour les prostaglandines E-1 et -2), récepteur NPY-Y1 (pour le neuropeptide Y et le peptide YY) et des récepteurs α_2 -adrénergiques (pour l'adrénaline et la noradrénaline) (figure 1). L'acide nicotinique induit de puissants effets antilipolytiques en activant un récepteur récemment identifié comme étant la protéine PUMA-G (*protein upregulated in macrophages by interferon γ*) ou HM74 (protéine ayant une forte affinité pour l'acide nicotinique, orthologue humain de PUMA-G) (TUNARU *et al.*, 2003). Le ligand endogène du récepteur à l'acide nicotinique n'a pas encore été identifié. Les effets antilipolytiques engendrés par la stimulation des récepteurs inhibiteurs sont d'intensité variable selon l'origine anatomique des adipocytes chez l'homme et l'espèce animale considérée (tableau 1). Bien que les études *in vitro* sur l'adipocyte isolé aient clairement révélé l'efficacité de ces divers systèmes inhibiteurs; en dehors du rôle des récepteurs α_2 -adrénergiques qui sera discuté ci-dessous, il existe encore peu de données permettant d'appréhender l'implication des divers facteurs inhibiteurs dans la régulation physiologique de la lipolyse.

• CATÉCHOLAMINES, RÉGULATION DE LA LIPOLYSE ET DE LA MOBILISATION LIPIDIQUE

Les catécholamines sont des modulateurs importants de la lipolyse chez la plupart des mammifères. Le laboratoire s'est consacré à des travaux de physiologie comparée

(2) Les MAP-kinases sont des protéine-kinases qui catalysent la phosphorylation des protéines MAP (mitogen activated proteins). On les désigne aussi par le sigle ERK (extracellular signal regulated kinase).

	homme	rat /souris	chien	hamster	lapin	lérot	boeuf	porc
Stimulation								
bêta-agonistes	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
bêta ₃ -agonistes	0 ou +	+++	++	+++	++	+++	?	0 ou +
glucagon	0 ou +	0 ou +	0	+	+	?	+	?
Dérivés de la POMC	0 (β-LPH)	+++ (ACTH α-MSH)	0	+++	+++ (ACTH α-MSH)	+++	?	?
PTH	+	?	?	?	?	?	?	?
TSH	+ (adulte) ++ (n.n.)	?	?	?	?	?	?	?
histamine	0	0	++	0	0	?	?	?
ANP	+++	0	0	0	0	?	?	?
Inhibition								
adénosine	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
PGE E ₂	+++	+++	+++	+++	+++	?	+++	?
alpha ₂ -agonistes	+++	0 ou +	++	+++	+++	0	++	?
NPY/PYY	++	+	+++	0	0	+++	?	?
acide nicotinique	++	++	++	++	++	?	?	?

Tableau 1 : Comparaison des effets d'agents lipolytiques et antilipolytiques de divers agents sur l'adipocyte de divers mammifères. Seules les voies dépendant de l'AMPc ou du GMPc ont été figurées dans ce tableau.

(+++ : effet important, ++ : effet moyen, + : effet réduit, 0 : absence d'effet, ? : non déterminé)

ACTH : hormone corticotrope (corticotropine) ; ANP : peptide natriurétique atrial ; MSH : hormone mélanostimulante, NPY : neuropeptide Y ; LPH : lipotropine ; PGE : prostaglandine E2 ; POMC : pro-opiomélanocortine, PTH : hormone parathyroïdienne ; PYY : peptide YY ; TSH : thyrotropine ; n.n. nouveau-né.

visant à mieux comprendre la distribution et le rôle des différents récepteurs adrénergiques localisés dans la membrane plasmique de l'adipocyte (LAFONTAN *et al.*, 1997; LAFONTAN 2003).

Régulation adrénergique de la lipolyse et de la mobilisation des lipides chez l'homme

Dans un premier temps, la cellule adipeuse humaine a été un matériel particulièrement adapté pour aborder le mécanisme d'action des catécholamines sur l'adipocyte. En effet, dans l'adipocyte de l'homme, les catécholamines peuvent induire un effet lipolytique via l'activation de récepteurs bêta-adrénergiques (identifiés comme étant des bêta₁- et bêta₂-récepteurs dans l'adipocyte humain), mais également un effet antilipolytique via l'activation de récepteurs alpha_{2A}-adrénergiques. Ces deux familles de récepteurs transmettent des messages opposés par l'intermédiaire d'un même système enzymatique, l'adénylyl cyclase. La lipolyse adrénergique est donc la résultante d'une balance fonctionnelle entre la stimulation des récepteurs bêta_{1/2}-adrénergiques activateurs et alpha_{2A}-adrénergiques inhibiteurs. L'adrénaline (et à un degré moindre la noradrénaline), aux faibles concentrations, plus affine pour les récepteurs alpha_{2A}-adrénergiques, stimule ces récepteurs et engendre une inhibition de la lipolyse alors que la réponse bêta-adrénergique ne devient prédominante que pour les concentrations les plus élevées de catécholamines. La réponse lipolytique *in vitro* dépend du rapport existant entre les deux grandes familles de récepteurs adrénergiques aux effets antagonistes (LAFONTAN et BERLAN, 1995). Les adipocytes hypertrophiés des tissus adipeux sous-cutanés humains contiennent plus de récepteurs alpha_{2A}- que bêta-adrénergiques. Ce sont les cellules qui présentent la réponse lipolytique la plus faible. Inversement, les

adipocytes de l'omentum, de plus petite taille, expriment moins de récepteurs alpha_{2A}- et ont une réponse lipolytique plus importante. Des différences inter-individuelles notables ont été mentionnées dans la lipolyse induite par les catécholamines ; elles sont importantes dans le déterminisme du niveau de perte de poids lors d'un régime hypocalorique. Des variations concomitantes de la sensibilité des réponses bêta₂- et alpha_{2A}-adrénergiques des adipocytes peuvent être prédictives de la perte de poids induite par une diète hypocalorique (HELLSTRÖM *et al.*, 1997 ; STICH *et al.*, 2002). Contrairement aux bêta-récepteurs, le récepteur alpha_{2A}-de l'adipocyte est insensible à la désensibilisation induite habituellement par des traitements chroniques avec des agonistes ou à l'hypersensibilisation provoquée par un déficit de neuromédiateur.

Le rôle physiologique potentiel des récepteurs alpha_{2A}-adrénergiques a été étudié par notre équipe. Les investigations ont été basées sur l'utilisation de la microdialyse *in situ* pour étudier les variations des concentrations du glycérol extracellulaire provoquées par l'activité physique en l'absence ou en présence d'un antagoniste alpha_{2A}-adrénergique administré directement dans la sonde de microdialyse (et en mesurant les variations des taux de catécholamines circulantes). Selon la nature et l'intensité de l'activité physique pratiquée, l'adrénaline, en plus de la noradrénaline, peut être impliquée dans le contrôle de la mobilisation lipidique au cours de l'exercice physique. La stimulation physiologique des récepteurs alpha_{2A}-adrénergiques des adipocytes du tissu adipeux sous-cutané de sujets obèses empêche la lipolyse et la mobilisation lipidique dans ces dépôts ; cet effet inhibiteur est totalement supprimé par l'administration locale d'un alpha₂-antagoniste (STICH *et al.*, 2000).

L'intensité des altérations de la mobilisation dépend aussi du sexe et de l'état nutritionnel des sujets. Un régime hypocalorique entraîne une amélioration des capacités lipolytiques des adipocytes et de la mobilisation lipidique induite par un exercice. Les réponses $\beta_{1/2}$ -adrénergiques sont augmentées alors que les réponses α_{2A} -adrénergiques sont diminuées (STICH *et al.*, 1999 ; STICH *et al.*, 2002). En conclusion, les récepteurs α_{2A} -adrénergiques, largement exprimés dans les adipocytes hypertrophiques des dépôts adipeux sous-cutanés de l'homme et de la femme, sont vraisemblablement responsables d'une partie des altérations de la mobilisation lipidique décrites dans ce type de dépôt adipeux lors d'un exercice. Leur efficacité sera d'autant plus importante que les réponses β -adrénergiques auront été simultanément diminuées (altérations structurales des β -récepteurs liées à des polymorphismes géniques ou désensibilisation des effets β -adrénergiques).

Les différences interspécifiques dans la régulation adrénergique de la lipolyse

Les possibilités d'investigation des mécanismes impliqués dans la régulation de l'expression des récepteurs β -et α_2 -adrénergiques étant limitées sur l'homme, nous avons recherché un modèle animal susceptible de nous aider à étendre nos travaux.

Pendant de nombreuses années, l'étude des réponses lipolytiques a été surtout réalisée sur le tissu adipeux du rat. L'équipement en récepteurs adrénergiques de l'adipocyte de rat est très différent de l'humain ; ceci est également vrai pour l'adipocyte de la souris. Les adipocytes du rat et de la souris manifestent une puissante réponse lipolytique aux catécholamines. Un engouement certain pour l'étude des récepteurs β -adrénergiques de l'adipocyte et l'utilisation des agonistes β -adrénergiques pour des thérapies « anti-obésité » a débuté en 1984. En effet, des auteurs ont montré que des agonistes β -adrénergiques originaux, agissant vraisemblablement par l'intermédiaire de récepteurs β -adrénergiques « atypiques », distincts des sous types β_1 - et β_2 -connus, étaient doués de puissantes propriétés lipolytiques et thermogéniques et provoquaient une réduction notable de la masse grasse suivie d'une amélioration des paramètres métaboliques chez des rats obèses et diabétiques (ARCH *et al.*, 1984). Cette réponse s'explique essentiellement par la présence d'un β -récepteur « atypique » (ZAAGSMA et NAHORSKI, 1990), identifié ultérieurement comme étant le récepteur β_3 -adrénergique. Ce récepteur est présent dans l'adipocyte blanc mais également dans l'adipocyte du tissu adipeux brun dans lequel il jouera un puissant rôle thermogénique en étant impliqué dans la stimulation de la lipolyse et l'induction de l'expression de la protéine découplante

UCP1 (pour Uncoupling Protein1)⁽¹⁾ (CANNON et NEDERGAARD, 2004). Le gène a été cloné chez l'homme (EMORINE *et al.*, 1989), le rat et la souris. L'accession à des ligands plus ou moins sélectifs du β_3 -récepteur (agonistes et antagonistes) nous a permis de révéler la présence de ce récepteur dans l'adipocyte de diverses autres espèces (lérot, cobaye, hamster, lapin, chien, marmouset, macaque) et de parfaire la caractérisation des propriétés pharmacologiques du β_3 -récepteur par rapport aux $\beta_{1/2}$ -récepteurs (figure 2 ; tableau 1).

Les β_3 -agonistes de référence sont essentiellement représentés par le CL 316243 et le BRL 37344 alors que le CGP12177 est un β_3 -agoniste partiel possédant des propriétés $\beta_{1/2}$ antagonistes (figure 2). Le bupranolol et le propranolol, quoique non sélectifs, sont des bloquants les plus puissants des récepteurs β_3 -adrénergiques. Les β_3 -récepteurs possèdent une moins bonne affinité pour les catécholamines que les sous-types β_1 - et β_2 - (GALITZKY *et al.*, 1993). De nombreux β -antagonistes à activité sympathomimétique intrinsèque (ASI) sont capables de stimuler les β_3 -récepteurs du tissu adipeux de divers rongeurs. L'ASI peut donc correspondre à un β_3 -agonisme partiel. La réponse β_3 -adrénergique lipolytique résiste à la désensibilisation dans des conditions où il y a effondrement des réponses β_1 - et β_2 -. *In vivo*, la présence de β_3 -récepteurs dans l'adipocyte assure la préservation des capacités de réponse lipolytique, même après un traitement prolongé des animaux par les catécholamines (CARPÉNÉ *et al.*, 1992). Ces propriétés, confirmées *in vitro*, s'expliquent par la structure du β_3 -récepteur qui possède bien moins de sites de phosphorylation par la PKA et la kinase des β -récepteurs que les récepteurs β_1 - et β_2 - (NANTEL *et al.*, 1994). De façon générale, l'obésité génétique ou nutritionnelle est associée à une profonde involution des réponses β_3 -adrénergiques dans les adipocytes de la plupart des espèces étudiées (COLLINS, DANIEL et ROHLFS., 1999). L'étude systématique de la contribution relative des récepteurs β_1 -, β_2 - et β_3 -adrénergiques à la lipolyse a permis de montrer que la stimulation adrénergique de la lipolyse est essentiellement un effet β_3 -adrénergique chez certains petits mammifères (rat, souris, hamster, lérot) (figure 2). Chez le lapin et le chien, la lipolyse induite par les catécholamines est la résultante de l'activation des récepteurs β_1 -, β_2 - et β_3 -adrénergiques. Enfin chez le cobaye, comme chez les primates et chez l'homme, la stimulation β -adrénergique de la lipolyse implique majoritairement les β_1 - et β_2 - récepteurs adrénergiques alors que la contribution des récepteurs β_3 -adrénergiques est très faible ou absente (selon que l'on étudie des dépôts adipeux omentaux ou sous-cutanés) (figure 2).

(1) Au lieu d'être couplée à la phosphorylation oxydative, l'énergie libérée par l'oxydation mitochondriale des acides gras a la capacité de se convertir en chaleur. La protéine mitochondriale responsable de ce découplage est la thermogénine ou UCP1.

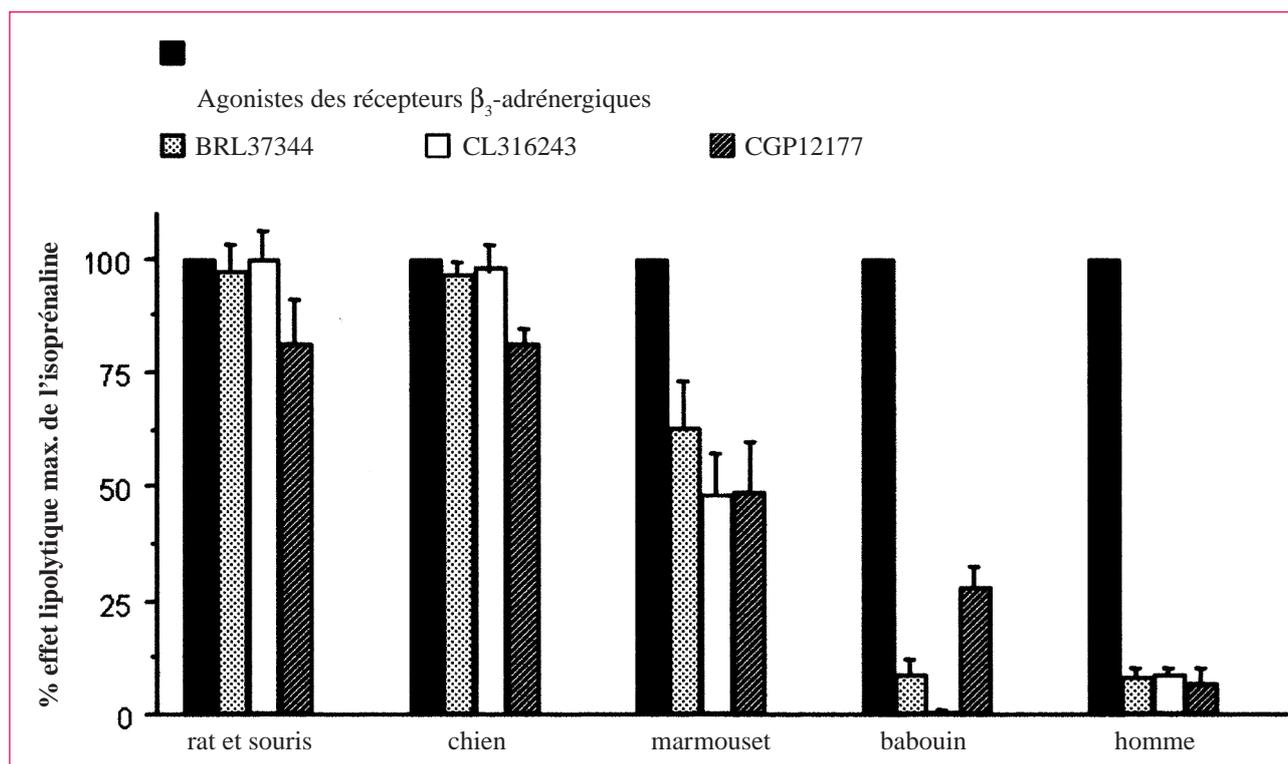


Figure 2 : Étude comparée des effets lipolytiques de l'isoprénaline (agoniste non-sélectif des récepteurs bêta-adrénergiques) et de divers agonistes des récepteurs bêta₃-adrénergiques sur l'adipocyte de l'homme et de divers mammifères.

L'exploration pharmacologique de la réponse lipolytique engendrée par les catécholamines (noradrénaline et adrénaline) dans l'adipocyte humain ne révèle aucune composante bêta₃-adrénergique. Les bas niveaux d'expression des ARNm ont confirmé les études fonctionnelles.

Parallèlement aux disparités affectant l'expression des récepteurs bêta₁- et bêta₂- et bêta₃-adrénergiques, nous avons également constaté de fortes disparités dans la distribution et l'activité des récepteurs alpha₂-adrénergiques. Nous avons montré qu'il existe de nettes différences interspécifiques dans le niveau d'expression et la fonctionnalité des récepteurs alpha₂-adrénergiques dans l'adipocyte. Ils sont aisément identifiables dans l'adipocyte du hamster doré, du chien et du lapin et très faiblement exprimés ou indétectables dans l'adipocyte du rat et de la souris (LAFONTAN et BERLAN, 1995). Le déterminisme de ces différences interspécifiques est inconnu. Bien que les agonistes alpha₂-adrénergiques exercent des effets antilipolytiques notoires dans l'adipocyte de ces animaux, ce récepteur a un rôle mineur dans le contrôle normal de la lipolyse engendrée par l'adrénaline ou la noradrénaline ; cette particularité encore mal comprise n'a pas fait l'objet d'études détaillées. Par contre, quelle que soit l'espèce considérée, comme chez l'homme, le niveau d'expression des alpha₂-récepteurs s'accroît avec l'hypertrophie adipocytaire. L'antilipolyse alpha₂-adrénergique est absente dans les phases précoces de la différenciation adipocytaire et apparaît dans les phases plus tardives (CARPÉNÉ, BERLAN et LAFONTAN, 1983 ; LAFONTAN et BERLAN, 1995). Nous avons aussi démontré qu'il existe une régulation de l'expression des récepteurs alpha₂-adrénergiques par les

stéroïdes sexuels. Toute perturbation physiologique (modifications spontanées de la photopériode) ou provoquée des taux plasmatiques de testostérone est associée à de nettes variations de l'expression du récepteur alpha₂-adrénergique adipocytaire (SAULNIER-BLACHE *et al.*, 1990). Seule l'administration de testostérone et de son métabolite, la dihydrotestostérone, est capable d'induire l'augmentation du nombre d'alpha₂-récepteurs dans l'adipocyte. Cette régulation est indépendante de l'état d'engraissement des animaux. On ignore si ce type de régulation existe *in vivo* chez l'homme. L'expression du récepteur alpha₂-adipocytaire est contrôlée au niveau transcriptionnel, par la testostérone *in vitro*. L'action de la testostérone a pu être mise en évidence sur des cultures primaires d'adipocytes issues de précurseurs adipocytaires de rat (BOULOUMIÉ *et al.*, 1994). Par contre, elle n'a pas été retrouvée sur des adipocytes humains (DICKER *et al.*, 2004). D'après une étude récente, ce sont les oestrogènes qui semblent jouer un tel rôle dans le tissu adipeux de la femme (PEDERSEN *et al.*, 2004). Ce domaine est resté encore peu exploré.

Afin de pallier les différences d'équipement en récepteurs adrénériques du tissu adipeux des modèles animaux disponibles, nous avons élaboré des souris transgéniques possédant un équipement en récepteurs adrénériques adipocytaires mimant celui de l'adipocyte humain. Par transgénèse, le récepteur alpha_{2A}-humain a été exprimé dans le tissu adipeux de souris invalidées pour le gène du récepteur bêta₃- (souris bêta₃^{-/-} ; alpha_{2A}⁺). Les adipocytes de ces souris expriment des récepteurs alpha_{2A}-humains fonctionnels et ont des réponses lipolytiques à l'adrénaline et à la

noradrénaline qui sont très similaires à celles de l'adipocyte humain. Ces souris se sont avérées présenter une sensibilité particulière au régime gras par rapport aux souris homozygotes $\beta_{2A}^{-/-}$. Un régime gras induit une obésité hyperplasique chez ces souris. Ces études ont permis de montrer que deux gènes (codant pour les récepteurs α_{2A} - et β_{2A} -) et un régime peuvent interagir pour influencer le développement de la masse grasse (VALET *et al.*, 2000 ; BOUCHER *et al.*, 2002). Il reste à définir les mécanismes conduisant à l'hyperplasie des dépôts adipeux et à parfaire la définition du phénotype métabolique et endocrinien de ces souris. On doit s'interroger sur l'utilité d'un tel modèle et sur sa pertinence pour de futurs travaux sur les déterminismes de la régulation de la masse grasse chez l'homme.

Une nouvelle voie de contrôle de la lipolyse et la mobilisation des lipides : Peptides natriurétiques et voies dépendant du GMPc

Ces dernières années, nous avons découvert que les peptides natriurétiques sont doués de propriétés lipolytiques. Nous avons précisé leur mécanisme d'action et révélé le rôle essentiel qu'ils sont susceptibles de jouer dans des conditions physiologiques ou pathologiques chez l'homme et les primates (SENGENES *et al.*, 2000 ; GALITZKY *et al.*, 2001 ; MORO *et al.*, 2004). Par contre, différence interspécifique notoire, ces peptides n'ont aucun effet lipolytique sur les adipocytes des animaux de laboratoire usuels (rat, souris, lapin, chien) (figure 3 ; tableau 1).

Les peptides natriurétiques [ANP (*Atrial Natriuretic Peptide*), BNP (*Brain Natriuretic Peptide*) et CNP (*C-type Natriuretic Peptide*)] représentent une famille d'hormones polypeptidiques connues pour régler la pression artérielle et le volume sanguin en exerçant des effets directs sur le rein et le système vasculaire. Leurs effets sont relayés par des récepteurs (de la membrane plasmique des cellules-cibles) qui possèdent une activité guanylyl cyclase (LEVIN, GARDNER et SAMSON, 1998 ; KUHN, 2003).

Les peptides natriurétiques stimulent puissamment la lipolyse dans l'adipocyte humain *in vitro* ; l'effet est équivalent à celui d'un agoniste bêta-adrénergique. L'ANP, le BNP et le CNP stimulent la lipolyse selon l'ordre de potentialité suivant : ANP>BNP>CNP qui suggère la présence d'un récepteur de type NPR-A dans l'adipocyte humain. Les études de liaison sur des membranes d'adipocytes effectuées avec de l'ANP marqué (125 I-ANP) ont confirmé la présence de récepteurs NPR-A et NPR-C (figure 4A).

L'effet lipolytique est indépendant de variations des taux d'AMPc intracellulaire (SENGENES *et al.*, 2000). L'activation du récepteur NPR-A, doté d'une activité guanylyl cyclase, est associée à une augmentation importante et soutenue des taux intracellulaires de GMPc (figure 4C). Cette production de GMPc est suivie d'une activation d'une protéine kinase dépendant du GMPc (encore appelée PKG) de type cGK-I que nous avons identifiée dans l'adipocyte humain. Cette activation est suivie d'une phosphorylation de la périlipine et de la LHS et d'une stimulation de la lipolyse (SENGENES *et al.*, 2003) (figure 4D). Contrairement aux récepteurs NPR-A, les récepteurs NPR-C sont dépourvus

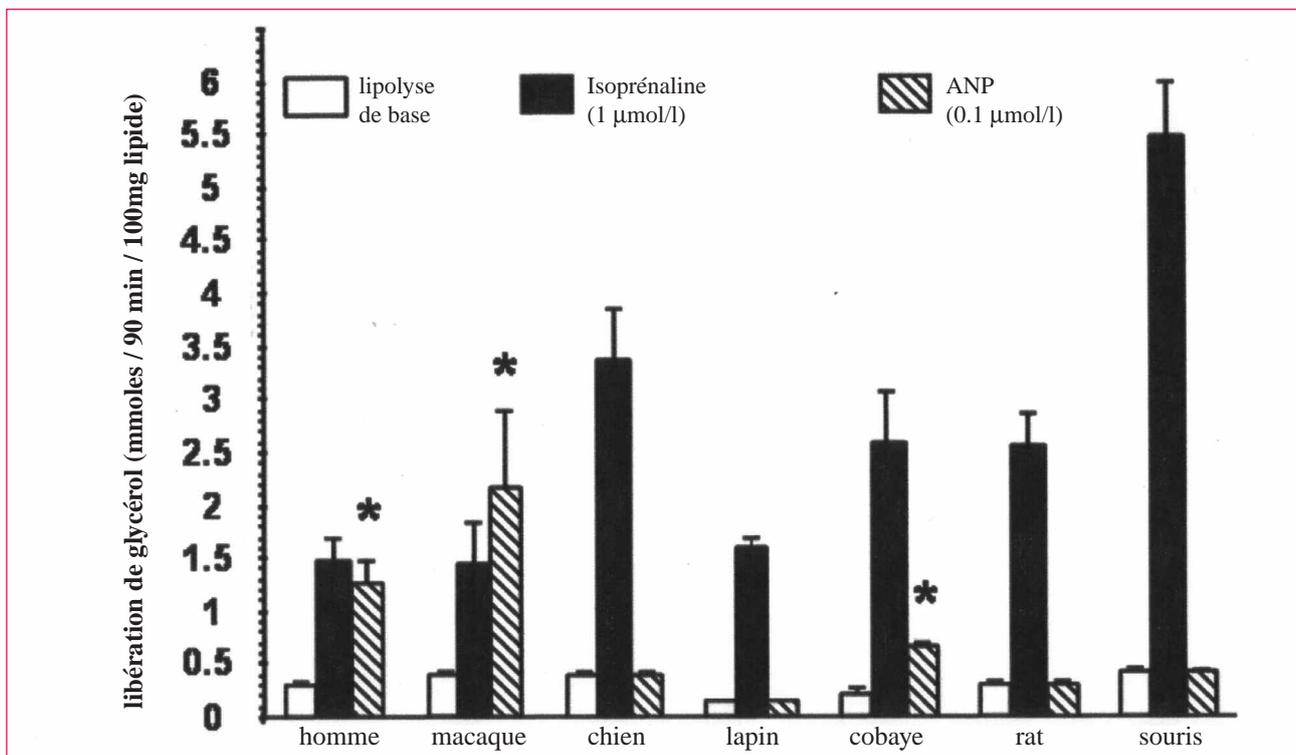


Figure 3 : Étude comparée des effets lipolytiques de l'isoprénaline et de l'ANP sur l'adipocyte de diverses espèces de mammifères. Seuls les adipocytes de l'homme et du macaque présentent une puissante réponse lipolytique à l'ANP. La réponse induite sur l'adipocyte de cobaye est très discrète.

d'activité guanylyl cyclase et connus pour contribuer à la séquestration/dégradation de l'ANP. L'insuline (connue pour agir sur les taux d'AMPC en activant la PDE-3B adipocytaire) n'a aucune incidence sur les effets lipolytiques engendrés par l'ANP. Cette observation est importante car elle souligne que les effets lipolytiques des peptides natriurétiques ne sont pas modulables par la seule hormone douée de propriétés antilipolytiques. Toute dysfonction dans les mécanismes de production des peptides natriurétiques sera susceptible de promouvoir une mobilisation des lipides intense et non-réglable par un des mécanismes régulateurs essentiel.

Cette nouvelle voie lipolytique n'est fonctionnelle que dans l'adipocyte de l'homme et des primates ; les adipocytes des rongeurs, du chien ou du lapin ne répondent pas aux peptides natriurétiques (figure 3). Une faible densité de récepteurs NPR-A a été identifiée dans l'adipocyte du rat. L'activation de ces récepteurs stimule très faiblement la production de GMPc, qui n'atteint pas le seuil d'activation

de la lipase et de la lipolyse. De plus, les adipocytes de rat possèdent une population importante de récepteurs NPR-C susceptibles de séquestrer les agonistes peptidiques.

Les études *in vivo* ont confirmé les résultats obtenus *in vitro*. La perfusion d'ANP dans une sonde de microdialyse, implantée dans le tissu adipeux sous-cutané abdominal de sujets sains, provoque une nette stimulation de la lipolyse mesurable par l'accroissement de la concentration de glycérol dans le liquide interstitiel (figure 4B). De plus, l'administration intra-veineuse d'une dose pharmacologique d'ANP humain provoque une augmentation spectaculaire des taux de glycérol et d'AGNE plasmatiques (figure 5A). Cet effet sur la mobilisation lipidique est indépendant d'une activation du système nerveux sympathique (GALITZKY *et al.*, 2001).

Nous avons pu démontrer l'implication physiologique de cette voie en étudiant la régulation de la mobilisation des lipides induite par l'exercice physique dans le tissu sous-cutané humain (à l'aide de la technique de microdialyse *in*

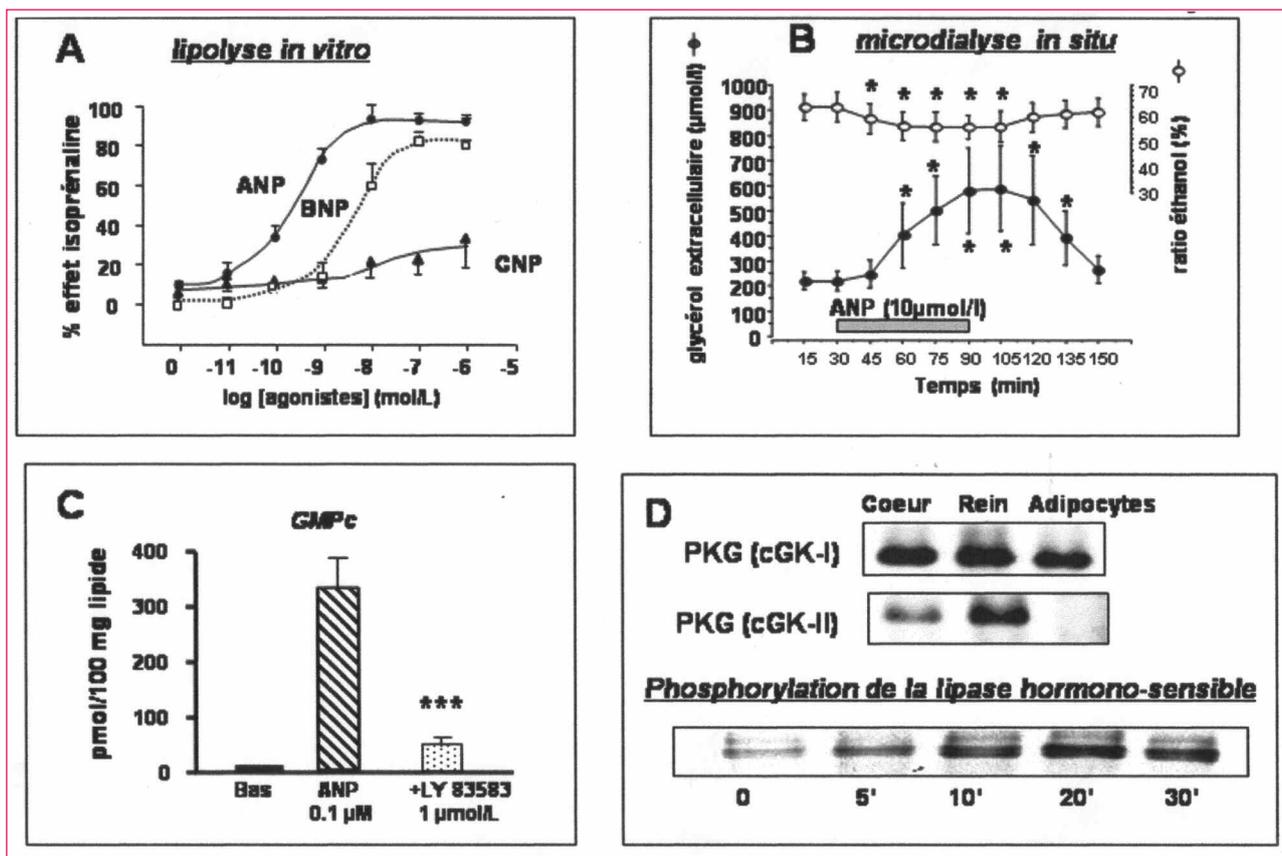


Figure 4 : Effets des peptides natriurétiques sur la lipolyse *in vitro* et la régulation de la mobilisation des lipides *in situ* (par microdialyse).
 A) Comparaison des effets lipolytiques des peptides natriurétiques (ANP, BNP et CNP) sur des adipocytes isolés humains. La lipolyse est exprimée en pour cent de l'effet maximal de l'isoprénaline. Les peptides natriurétiques exercent un puissant effet lipolytique, leur effet maximal est similaire à celui de l'isoprénaline. L'ordre relatif de potentialité lipolytique est le suivant : ANP>BNP>>CNP (SENGENES *et al.*, 2000).
 B) Effet d'une administration d'ANP (10 µmol/l) dans une sonde de microdialyse *in situ* implantée dans le tissu adipeux sous-cutané abdominal humain. Variations des concentrations de glycérol extracellulaire et du flux sanguin local (évalué par l'évolution de la valeur du rapport des concentrations d'éthanol dans le dialysat et le perfusat de la sonde de microdialyse). L'administration d'ANP provoque une augmentation de la concentration de glycérol extracellulaire et une vasodilatation (SENGENES *et al.*, 2000).
 C) Stimulation de la production de GMPcyclique (GMPc) par l'ANP dans l'adipocyte humain. Suppression de l'effet par un inhibiteur spécifique de l'activité guanylyl cyclase (LY 83583) (SENGENES *et al.*, 2003).
 D) Identification de la protéine kinase G (PKG-cGK-I) présente dans l'adipocyte humain (comparaison avec les PKG du cœur et du rein) et phosphorylation de la lipase hormono-sensible consécutive à une stimulation de l'adipocyte humain par l'ANP (SENGENES *et al.*, 2003).

situ). L'exercice, comme attendu, provoque une mobilisation des lipides. Par contre, un bêta-bloquant, administré localement dans une sonde de microdialyse, ne supprime par totalement la mobilisation induite par l'exercice physique. Le même type d'effet est observé lorsque le sujet reçoit un prétraitement oral avec un bêta-bloquant. Dans ce cas, paradoxalement, on obtient même une amélioration de la mobilisation des lipides pendant l'exercice. L'analyse détaillée des variations concomitantes des taux d'ANP plasmatique, du glycérol et du GMPc interstitiels, dans les diverses conditions expérimentales, nous permet d'affirmer que la mobilisation lipidique induite par l'exercice et résistante à un traitement local ou oral avec un bêta-bloquant, est à mettre sur le compte des peptides natriurétiques libérés par le cœur (figure 5B). En conclusion, durant la pratique d'un exercice physique d'endurance, parallèlement aux catécholamines, les peptides natriurétiques, jouent un rôle notable dans le contrôle de la mobilisation des lipides chez l'homme (MORO *et al.*, 2004). Cette voie revêt une importance particulière chez le sujet sous traitement bêta-bloquant qui a des taux de peptides natriurétiques (BNP et ANP) plasmatiques élevés. Il sera particulièrement important d'approfondir les effets métaboliques éventuels des ces peptides, dans divers états pathologiques connus pour être associés à des taux plasmatiques élevés d'ANP et de BNP (insuffisance cardiaque, syndromes obstructifs pulmonaires, certains types de cancers...). Il sera également nécessaire de rechercher une implication éventuelle de cette nouvelle voie de mobilisation des lipides dans la genèse d'états cachectiques rencontrés chez certains patients porteurs de ces pathologies. Il faudra également envisager si des dérégulations de cette nouvelle voie métabolique sont susceptibles d'intervenir dans la physiopathologie du syn-

drome métabolique (syndrome X) de l'obèse et des désordres cardiovasculaires qui lui sont associés.

• CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

L'approche physiologique comparée appliquée aux mécanismes de régulation de la lipolyse et de la mobilisation des lipides a permis de tirer quelques enseignements pratiques importants. Tout d'abord, on retiendra que les mécanismes d'activation de la lipase et de la lipolyse (par la PKA ou la PKG) semblent être très préservés au sein des adipocytes des diverses espèces étudiées. Par contre, ces études ont révélé toute la complexité des processus de régulation neuro-humorale des adipocytes au niveau des sites récepteurs de la membrane plasmique. Ces structures réceptrices sont des cibles potentielles pour de futurs agents thérapeutiques ; les approches pharmacologiques doivent être abordées avec prudence. Pour leur facilité d'utilisation et d'hébergement et la diversité des phénotypes obtenus par les techniques de transgénèse chez la souris, les rongeurs ont été et sont encore très utilisés pour l'exploration des diverses pathologies métaboliques et endocriniennes (obésité, diabète, athérosclérose, etc.). Face aux notables disparités interspécifiques dans l'équipement des adipocytes blancs en récepteurs adrénergiques et récepteurs des peptides natriurétiques, on doit souligner qu'il n'existe pas d'adipocyte de modèle animal idéal, susceptible de mimer l'état fonctionnel d'un adipocyte humain. Tout résultat spectaculaire obtenu sur le modèle rongeur doit inciter à la circonspection avant de s'engager dans des spéculations abusives. Un des beaux exemples de telles dérives est illustré par l'extrapolation prématurée à l'homme des résultats « anti-obésité » prometteurs obtenus sur les animaux de laboratoire à la suite de la découverte des effets spectaculaires d'agonistes spécifiques du bêta₃-

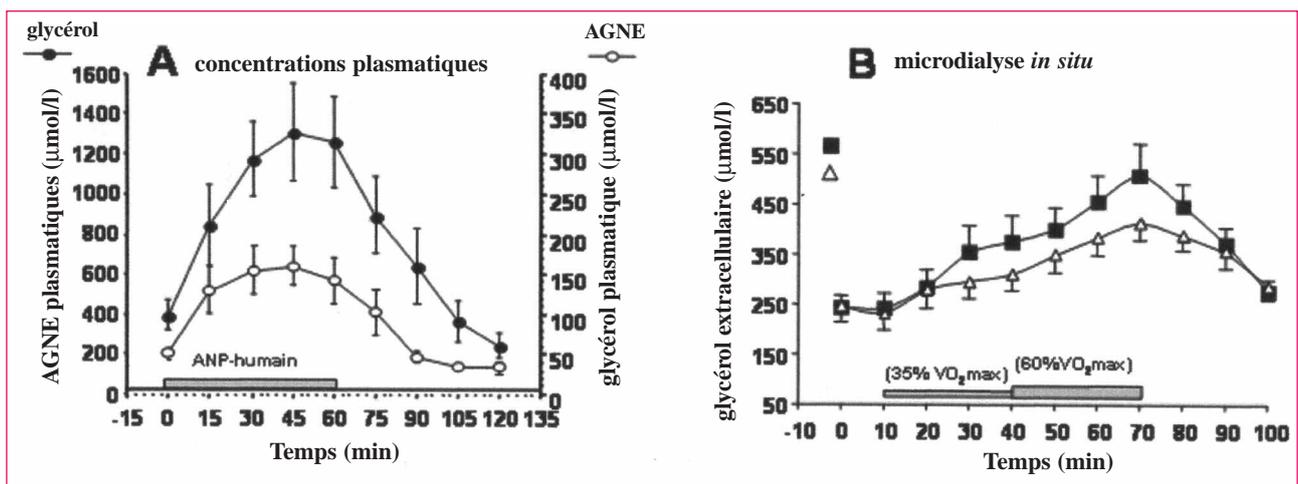


Figure 5 : Mobilisation lipidique induite par une administration intraveineuse d'ANP ou par l'exercice physique.
 A) Effet d'une administration intraveineuse d'ANP humain (hANP à 50ng/min/kg) sur les concentrations plasmatiques de glycérol et d'acides gras non-estérifiés (AGNE). On notera que l'administration i.v. d'hANP provoque une puissante mobilisation des lipides (GALITZKY *et al.*, 2001).
 B) Étude de la mobilisation des lipides (augmentation de la concentration de glycérol extracellulaire) dans le tissu adipeux sous-cutané abdominal humain à l'aide de la microdialyse in situ pendant deux séquences d'exercice effectuées à 35% ou 60% de la puissance maximale aérobie (VO₂max) (sonde contrôle) chez des sujets sains non-obèses. L'administration d'un β-bloquant (perfusion (2,5µl/min) d'une solution de propranolol à 100µmol/l) dans la sonde de microdialyse ne supprime que très partiellement la mobilisation lipidique induite par l'exercice physique alors qu'elle supprime totalement les effets d'un agoniste β-adrénergique. La mobilisation lipidique résistante au β-bloquant est due aux peptides natriurétiques (MORO *et al.*, 2004).

récepteur. Très rapidement, dès le clonage du gène codant pour le bêta₃-récepteur humain, et face à l'omnipotence de discours physiologiques réducteurs assis sur des cellules transfectées par le gène de ce bêta₃-récepteur, de nombreux industriels se sont engagés dans la recherche de la « pilule magique », en oubliant très largement de se référer à l'adipocyte humain. Le bilan de l'aventure est coûteux et très négatif. Une approche thérapeutique de l'obésité humaine visant à stimuler sélectivement le récepteur bêta₃-adrénergique ne semble pas être applicable. De plus, comme chaque fois que l'on travaille sur des rongeurs au tissu adipeux brun très développé, il est très vraisemblable qu'une partie des effets « anti-obésité » des agonistes bêta₃-adrénergiques rapportés chez le rat, est à mettre sur le compte d'une puissante stimulation du tissu adipeux brun, tissu absent ou fortement involué chez l'homme.

De nombreuses études conduites chez divers modèles animaux ont révélé des altérations des systèmes lipolytiques chez l'animal obèse (LAFONTAN et BERLAN, 1993). Les résultats ont été beaucoup plus discutés chez l'homme et on a longtemps pensé qu'il n'existait pas de défaut lipolytique majeur pouvant expliquer certaines obésités. A partir de la simple étude *in vitro* des adipocytes de patients obèses et de tests de mobilisation des lipides *in vivo*, il est difficile d'affirmer que les défauts du système lipolytique précèdent ou sont des altérations secondaires à l'installation de l'état d'obésité. L'apparition de méthodes

plus performantes de mesure de la lipolyse *in vitro* et *in vivo* ont conduit à une reconsidération du problème. En fait, les résultats obtenus chez l'homme ont montré que les altérations du système lipolytique peuvent affecter : i) la lipolyse de base, ii) les effecteurs lipolytiques et iii) les mécanismes antilipolytiques (LAFONTAN, 2003).

Pour conclure, les divers aspects du contrôle de la lipolyse et de la mobilisation des lipides, évoqués dans cette revue, vont certainement progresser tant par le développement des approches géniques et génétiques que par une meilleure possibilité d'exploration des aspects physiologiques et physiopathologiques chez l'homme. L'étude de l'expression des gènes codant pour les enzymes et les protéines impliquées dans la transduction des signaux hormonaux, va permettre d'approfondir notre connaissance de ces processus. La création de modèles physiologiques nouveaux (souris invalidées pour certains gènes adipocytaires, souris transgéniques surexprimant des gènes d'intérêt...) va offrir des possibilités nouvelles et très diversifiées, justifiant amplement un renouveau d'intérêt pour les approches physiologiques (VALET *et al.*, 2002). L'amélioration des méthodes exploratoires chez l'homme (optimisation des mesures isotopiques, tomographie d'émission de positrons (PET), optimisation de la mesure des différences artérioveineuses au sein des dépôts adipeux, microdialyse *in situ* du tissu...) doit aussi améliorer la portée des résultats fournis par les études cliniques.

BIBLIOGRAPHIE

- ARCH JRS, AINSWORTH AT, CAWTHORNE MA, PIERCY V, SENNITT MV, THODY VE, WILSON C, WILSON S (1984) Atypical beta-adrenoceptor on brown adipocytes as target for anti-obesity drugs. *Nature*, **309**, 163 - 165.
- BEALE EG, HAMMER RE, ANTOINE B, FOREST C (2002) Glyceroneogenesis comes of age. *FASEB J.*, **16**, 1695-1696.
- BODEN G (1997) Role of fatty acids in the pathogenesis of insulin resistance and NIDDM. *Diabetes*, **46**, 3-10.
- BOUCHER J, CASTAN-LAURELL I, LAY S L, GRUJIC D, SIBRAC D, KRIEF S, LAFONTAN M, LOWELL BB, DUGAIL I, SAULNIER-BLACHE J-S, VALET P (2002) Human α_2 -adrenergic receptor gene expressed in transgenic mouse adipose tissue under the control of its regulatory elements. *J. Mol. Endocrinol.*, **29**, 251-264.
- BOULOUMIÉ A, VALET P, DAVIAUD D, PRATS H, LAFONTAN M, SAULNIER-BLACHE J-S (1994) Adipocyte α_{2A} -adrenoceptor is the only α_2 -adrenoceptor regulated by testosterone. *Eur. J. Pharmacol. Mol. Pharmacol. Sect.*, **269**, 95-103.
- BRASAEMLE DL, DOLIOS G, SHAPIRO L, WANG R (2004) Proteomic analysis of proteins associated with lipid droplets of basal and lipolytically-stimulated 3T3-L1 adipocytes. *J. Biol. Chem.*, **279**, 46835-46832. (August 27, Ms M409340200).
- CANNON B, NEDERGAARD J (2004) Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol. Rev.*, **84**, 277-359.
- CAPEAU J (2003) Voies de signalisation de l'insuline: mécanismes affectés dans l'insulino-résistance. *M/S Médecine/sciences*, **19**, 834-839.
- CARPÉNÉ C, BERLAN M, LAFONTAN M (1983) Influence of development and reduction of fat stores on the antilipolytic α_2 -adrenoceptor in hamster adipocytes: comparison with adenosine and beta-adrenergic lipolytic responses. *J. Lipid Res.*, **24**, 766-774.
- CARPÉNÉ C, GALITZKY J, COLON P, ESCLAPEZ F, DAUZATS M, LAFONTAN M (1992) Desensitization of beta₁- and beta₂- but not beta₃-adrenoceptor-mediated lipolytic responses of adipocytes after long-term norepinephrine infusion. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **265**, 237-247.
- COE NR, SIMPSON MA, BERNLOHR DA (1999) Targeted disruption of the adipocyte lipid-binding protein (aP2 protein) gene impairs fat cell lipolysis and increases cellular free fatty acid levels. *J. Lipid Res.*, **40**, 967-972.
- COHEN A W, RAZANI B, SCHUBERT W, WILLIAMS TM, WANG XB, IYENGAR P, BRASAEMLE DL, SCHERRER P E, LISANTI MP (2004) Role of caveolin-1 in the modulation of lipolysis and lipid droplet formation. *Diabetes*, **53**, 1261-1270.
- COLLINS S, DANIEL KW, ROHLFS EM (1999) Depressed expression of adipocyte β -adrenergic receptors is a common feature of congenital and diet-induced obesity. *Int. J. Obesity*, **23**, 669-677.
- COPPACK SW, JENSEN MD, MILES JM (1994) *In vivo* regulation of lipolysis in humans. *J. Lipid Res.*, **35**, 177-193.
- DEGERMAN E, BELFRAGE P, MANGANIELLO VC (1997) Structure, localization, and regulation of cGMP-inhibited phosphodiesterase (PDE-3). *J. Biol. Chem.*, **272**, 6823-6826.

- DICKER A, RYDEN M, NÄSLUND E, MUEHLEN IE, WIRÉN M, LAFONTAN M, ARNER P (2004) Effect of testosterone on lipolysis in human pre-adipocytes from different fat depots. *Diabetologia*, **47**, 420-428.
- EMORINE LJ, MARULLO S, BRIEND-SUTREN MM, PATEY G, TATE K, DELAVIER-KLUTCHKO C, STROSBERG A D (1989) Molecular characterization of the human beta₃-adrenergic receptor. *Science*, **245**, 1118 - 1121.
- FROHNERT B I, BERNLOHR D A (2000) Regulation of fatty acid transporters in mammalian cells. *Prog. Lipid Res.*, **39**, 83-107.
- GALITZKY J, REVERTE M, PORTILLO M, CARPÉNÉ C, LAFONTAN M, BERLAN M (1993) Coexistence of functional beta₁-, beta₂- and beta₃-adrenoceptors in dog fat cells and their differential activation by catecholamines. *Am. J. Physiol.*, **264**, E403-E412.
- GALITZKY J, SENGENES C, THALAMAS C, MARQUES M-A, SENARD J-M, LAFONTAN M, BERLAN M (2001) The lipid mobilizing effect of atrial natriuretic peptides is unrelated to sympathetic nervous system activation or obesity in young men. *J. Lipid Res.*, **42**, 536-544.
- GREENBERG AS, SHEN W-J, MULIRO K, SOUZA SC, ROTH RA, KRAEMER FB (2001) Stimulation of lipolysis and hormone-sensitive lipase via the extracellular signal-regulated kinase pathway. *J. Biol. Chem.*, **276**, 45456-45461.
- GRIMALDI PA (2001) Fatty acid regulation of gene expression. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, **4**, 407-410.
- HAEMMERLE G, ZIMMERMANN R, ZECHNER R (2003) Letting lipids go: hormone-sensitive lipase. *Curr. Opin. Lipidol.*, **14**, 289-297.
- HARDIE DG (2003) Minireview : The AMP-activated protein kinase cascade : the key sensor of cellular energy status. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **144**, 5179-5183.
- HELLSTRÖM L, RÖSSNER S, HAGSTRÖM-TOFT E, REYNISDOTTIR S (1997) Lipolytic catecholamine resistance linked to α₂-adrenoceptor sensitivity - a metabolic predictor of weight loss in obese subjects. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, **21**, 314-320.
- HOLM C, OSTERLUND T, LAURELL H, CONTRERAS JA (2000) Molecular mechanisms regulating hormone-sensitive lipase and lipolysis. *Annu. Rev. Nut.*, **20**, 365-393.
- KISHIDA K, KURIYAMA H, FUNAHASHI T, SHIMOMURA I, KIHARA S, OUCHI N, NISHIDA M, NISHIZAWA H, MATSUDA M, TAKAHASHI M, HOTTA K, NAKAMURA T, YAMASHITA S, TOCHINO Y, MATSUZAWA Y (2000) Aquaporin adipose, a putative glycerol channel in adipocytes. *J. Biol. Chem.*, **275**, 20896-20902.
- KRAEMER FB, SHEN W-J (2002) Hormone-sensitive lipase: control of intracellular tri-(di)-acylglycerol and cholesteryl ester hydrolysis. *J. Lipid Res.*, **43**, 1585-1594.
- KUHN M (2003) Structure, Regulation, and function of mammalian membrane guanylyl cyclase receptors, with a focus on guanylyl cyclase-A. *Circ. Res.*, **93**, 700-709
- LAFONTAN M (2003) Lipogenèse et lipolyse. In: BASDEVANT A, RICHQUIER D, éditeurs. Pour une approche scientifique de l'obésité. *Annales de l'Institut Pasteur/actualités*. Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS, Paris, 125-146.
- LAFONTAN M, BARBE P, GALITZKY J, TAVERNIER G, LANGIN D, CARPÉNÉ C, BOUSQUET-MELOU A, BERLAN M (1997) Adrenergic regulation of adipocyte metabolism. *Human Reprod.*, **12** (1), 6-20.
- LAFONTAN M, BERLAN M (1993) Fat cell adrenergic receptors and the control of white and brown fat cell function. *J. Lipid Res.*, **34**, 1057-1091.
- LAFONTAN M, BERLAN M (1995) Fat cell α₂-adrenoceptors : the regulation of fat cell function and lipolysis. *Endocrine Rev.*, **16**, 716-738.
- LANGIN D, HOLM C, LAFONTAN M (1996) Adipocyte hormone-sensitive lipase: a major regulator of lipid metabolism. *Proc. Nutr. Soc.*, **55**, 93-109.
- LANGIN D, LUCAS S, LAFONTAN M (2000) Millennium fat-cell lipolysis reveals unsuspected novel tracks. *Horm. Metab. Res.*, **32**, 443-452.
- LEVIN ER, GARDNER DG, SAMSON WK (1998) Natriuretic peptides. *N. Engl. J. Med.*, **339**, 321-328.
- LONDOS C, BRASAEMLE DL, GRUIA-GRAY J, SERVETNICK DA, SCHULTZ CJ, LEVIN DM, KIMMEL A R (1995) Perilipin: unique proteins associated with intracellular neutral lipid droplets in adipocytes and steroidogenic cells. *Biochem. Soc. Trans.*, **23**, 612-615.
- MARTINEZ-BOTAS J, ANDERSON JB, TESSIER D, LAPILLONNE A, CHANG BH-J, QUAST MJ, GORENSTEIN D, CHEN K-H, CHAN L (2000) Absence of perilipin results in leanness and reverses obesity in leptin^{db/db} mice. *Nature Genet.*, **26**, 474-479.
- MC GARRY JD (2002) Dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. *Diabetes*, **51**, 7-18.
- MORO C, CRAMPES F, SENGENES C, DE GLISEZINSKI I, GALITZKY J, THALAMAS C, LAFONTAN M, BERLAN M. (2004) Atrial natriuretic peptide contributes to physiological control of lipid mobilization in humans. *FASEB J.*, **18**, 908-910.
- NANTEL F, MARULLO S, KRIEF S, STROSBERG A D, BOUVIER M (1994) Cell-specific down-regulation of the β₃-adrenergic receptor. *J. Biol. Chem.*, **269**, 13148-13155.
- OSUGA J-I, ISHIBASHI S, OKA T, YAGYU H, TOZAWA R, FUJIMOTO A, SHIONOIRI F, YAHAGI N, KRAEMER FB, TSUTSUMI O, YAMADA N (2000) Targeted disruption of hormone-sensitive lipase results in male sterility and adipocyte hypertrophy, but not in obesity. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA.*, **97**, 787-792.
- PEDERSEN SB, KRISTENSEN K, HERMANN PA, KATZENELLENBOGEN JA, RICHELSEN B (2004) Estrogen controls lipolysis by up-regulating α_{2A}-adrenergic receptors directly in human adipose tissue through the estrogen receptor α. Implications for the female fat distribution. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **89**, 1869-1878.
- RAZANI B, COMBS TP, WANG X B, FRANCK PG, PARK DS, RUSSELL RG, LI M, TANG B, JELICKS LA, SCHERRER PE, LISANTI MP (2002) Caveolin-1 deficient mice are lean, resistant to diet-induced obesity, and show hypertriglyceridemia with adipocyte abnormalities. *J. Biol. Chem.*, **277**, 8635-8647.
- SAULNIER-BLACHE J-S, LARROUY D, CARPÉNÉ C, QUIDEAU N, DAUZATS M, LAFONTAN M (1990) Photoperiodic control of adipocyte α₂-adrenoceptors in Syrian hamsters: Role of testosterone. *Endocrinology*, **127**, 1245-1253.

- SCHEJA L, MAKOWSKI L, UYSAL KT, WEISBROCK SM, SHIM-SHEK DR, MEYERS DS, MORGAN M, PARKER RA, HOTASMILIGIL GS (1999) Altered insulin secretion with reduced lipolytic efficiency in $\alpha 2^{-/-}$ mice. *Diabetes*, **48**, 1987-1994.
- SENGENES C, BERLAN M, DE GLISEZINSKI I, LAFONTAN M, GALITZKY J (2000) Natriuretic peptides: a new lipolytic pathway in human adipocytes. *FASEB J.*, **14**, 1345-1351.
- SENGENES C, BOULOUMIÉ A, HAUNER H, BERLAN M, BUSSE R, LAFONTAN M (2003) Involvement of a cGMP-dependent pathway in natriuretic peptide-mediated hormone-sensitive lipase phosphorylation in human adipocytes. *J. Biol. Chem.*, **278**, 48617-48626.
- SHEN W-J, SRIDHAR K, BERNLOHR DA, KRAEMER FB (1999) Interaction of rat hormone-sensitive lipase with adipocyte lipid-binding protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **96**, 5528-5532.
- SOEDER KJ, SNEDDEN SK, CAO W, ROCCA GJD, DANIEL KW, LUTTRELL LM, COLLINS S (1999) The $\beta 3$ -adrenergic receptor activates mitogen activated protein kinase in adipocytes through a Gi-dependent mechanism. *J. Biol. Chem.*, **274**, 12017-12022.
- SONI KG, LEHNER R, METALNIKOV P, O'DONNELL P, SEMACHE M, GAO W, ASHMAN K, PSHEZHETSKY AV, MITCHELL GA (2004) Carboxylesterase 3 (EC 3.1.1.1.) is a major adipocyte lipase. *J. Biol. Chem.*, **279**, 40683-40689.
- STICH V, DE GLISEZINSKI I, CRAMPES F, HEJNOVA J, COTTET-EMARD J-M, GALITZKY J, LAFONTAN M, RIVIÈRE D, BERLAN M (2000) Activation of $\alpha 2$ -adrenergic receptors impairs exercise-induced lipolysis in SCAT of obese subjects. *Am. J. Physiol.*, **279**, R499-R504.
- STICH V, DE GLISEZINSKI I, GALITZKY J, HEJNOVA J, CRAMPES F, RIVIÈRE D, BERLAN M (1999) Endurance training increases the β -adrenergic lipolytic response in subcutaneous adipose tissue in obese subjects. *Int. J. Obes.*, **23**, 374-381.
- STICH V, MARION-LATARD F, HEJNOVA J, VIGUERIE N, LEFORT C, SULJKOVICOVA H, LANGIN D, LAFONTAN M, BERLAN M (2002) Hypocaloric diet reduces exercise-induced $\alpha 2$ -adrenergic antilipolytic effect and $\alpha 2$ -adrenergic receptor mRNA levels in adipose tissue of obese women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **87**, 1274-1281.
- SZTALRYD C, XU G, DORWARD H, TANSEY JT, CONTRERAS JA, KIMMEL A R, LONDOS C (2003) Perilipin is essential for the translocation of hormone-sensitive lipase during lipolytic action. *J. Cell. Biol.*, **161**, 1093-1103.
- TANSEY JT, SZTALRYD C, GRUIA-GRAY J, ROUSH DL, ZEE J V, GAVRILOVA O, REITMAN ML, DENG C X, LI C, KIMMEL AR, LONDOS C (2001) Perilipin ablation results in a lean mouse with aberrant adipocyte lipolysis, enhanced leptin production and resistance to diet-induced obesity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **98**, 6494-6499.
- TUNARU S, KERO J, SCHAUB A, WUFKA C, BLAUKAT A, PFEFFER K, OFFERMANN S (2003) PUMA-G and HM74 are receptors for nicotinic acid and mediate its anti-lipolytic effect. *Nature Med.*, **9**, 352-355.
- VALET P, GRUJIC D, WADE J, ITO M, ZINGARETTI M C, SOLOVEVA V, ROSS SR, GRAVES RA, CINTI S, LAFONTAN M, LOWELL BB (2000) Expression of human $\alpha 2$ -adrenergic receptors in adipose tissue of $\beta 3$ -adrenergic receptor-deficient mice promotes diet-induced obesity. *J. Biol. Chem.*, **275**, 34797-34802.
- VALET P, TAVERNIER G, CASTAN-LAURELL I, SAULNIER-BLACHE J-S, LANGIN D (2002) Understanding adipose tissue development from transgenic animal models. *J. Lipid Res.*, **43**, 835-860.
- YEAMAN SJ (2004) Hormone-sensitive lipase - new roles for an old enzyme. *Biochem. J.*, **379**, 11-22.
- YIN W, MU J, BIRNBAUM M J (2003) Role of AMP-activated protein kinase in cyclic AMP-dependent lipolysis in 3T3-L1 adipocytes. *J. Biol. Chem.*, **278**, 43074-43080.
- ZAAGSMA J, NAHORSKI S R (1990) Is the adipocyte β -adrenoceptor a prototype for the recently cloned atypical " $\beta 3$ -adrenoceptor"? *Trends Pharmacol. Sci.*, **11**, 3 - 7.
- ZHANG HH, HALBLEIB M, AHMAD F, MANGANIELLO VC, GREENBERG AS (2002) Tumor necrosis factor- α stimulates lipolysis in differentiated human adipocytes through activation of extracellular signal-related kinase and elevation of intracellular cAMP. *Diabetes*, **51**, 2929-2935.