

# THESE

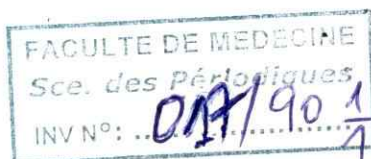
présentée devant  
L'UNIVERSITE PAUL SABATIER DE TOULOUSE (SCIENCES)

En vue de l'obtention du

## DOCTORAT DE L'UNIVERSITE PAUL SABATIER

Spécialité : PHARMACOLOGIE MOLECULAIRE

par Alain BOUSQUET-MELOU



### CONTROLE ADRENERGIQUE DE LA LIPOLYSE DANS LE TISSU ADIPEUX : DESENSIBILISATION A COURT-TERME DES VOIES $\beta$ -ADRENERGIQUES, RECEPTIVITE $\alpha$ 2- ET $\beta$ -ADRENERGIQUES CHEZ LES PRIMATES

soutenue le 10 juillet 1995 devant le jury :

**M. J. CROS**  
Professeur à l'Université Paul Sabatier

**M. S. MARULLO**  
Directeur de Recherche à l'INSERM

**M. J. PAIRAULT**  
Directeur de Recherche au CNRS

**M. P.L. TOUTAIN**  
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

**M. L. CASTEILLA**  
Professeur à l'Université Paul Sabatier

**M. M. LAFONTAN**  
Directeur de Recherche à l'INSERM



Président

Rapporteur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Directeur de thèse

# TABLE DES MATIERES

OBJECTIFS DE LA THESE.....	1.
INTRODUCTION GENERALE.....	4
<b>PREMIERE PARTIE:</b>	
<b>REGULATION A COURT-TERME DE LA RECEPTIVITE <math>\beta</math>-ADRENERGIQUE DES ADIPOCYTES.....</b>	<b>15</b>
<b>A. INTRODUCTION.....</b>	<b>16</b>
<b>I. DEFINITION.....</b>	<b>16</b>
<b>II. ELEMENTS DE CLASSIFICATION.....</b>	<b>17</b>
1) Désensibilisations homologue et hétérologue.....	17
2) Désensibilisations à court-terme et long-terme.....	18
<b>B. DESENSIBILISATION A COURT-TERME DU SYSTEME RECEPTEUR <math>\beta</math>-ADRENERGIQUE / ADENYLYL CYCLASE.....</b>	<b>19.</b>
<b>I. INTRODUCTION.....</b>	<b>19</b>
<b>II. DECOUPLAGE FONCTIONNEL: PHOSPHORYLATION DES RECEPTEURS.....</b>	<b>21</b>
1) Mise en évidence.....	21
2) Données moléculaires.....	23
3) Les conditions d'activation des protéines kinases.....	26
4) Preuves de l'action de la $\beta$ -ARK dans la désensibilisation.....	29
<b>III. LA KINASE SPECIFIQUE DES RECEPTEURS <math>\beta</math>-ADRÉNERGIQUES .....</b>	<b>32</b>
1) Les données structurales.....	32
2) Mécanisme d'action.....	34
<b>IV. LA SEQUESTRATION DES RECEPTEURS.....</b>	<b>43</b>
1) Mise en évidence.....	43
2) Caractéristiques fonctionnelles.....	44
3) Mécanisme moléculaire.....	45
4) Rôle de l'internalisation.....	47
<b>V. REGULATION DIFFÉRENTIELLE DES RECEPTEURS <math>\beta</math>1-, <math>\beta</math>2- et <math>\beta</math>3-ADRENERGIQUES.....</b>	<b>51</b>
1) Le récepteur $\beta$ 1-adrénergique.....	51
2) Le récepteur $\beta$ 3-adrénergique.....	52
3) Conclusion.....	56
<b>C. LE CONTROLE DE LA DEGRADATION DE L'AMPc: LES PHOSPHODIESTÉRASES.....</b>	<b>57</b>
<b>I. CLASSIFICATION DES PHOSPHODIESTÉRASES.....</b>	<b>57</b>
<b>II. REGULATION PAR LES CATECHOLAMINES.....</b>	<b>63</b>
1) Mise en évidence.....	63

2) Rôle de la PKA.....	63
<b>III. REGULATION PAR L'INSULINE.....</b>	<b>65</b>
1) Mise en évidence.....	65
2) Mécanismes moléculaires.....	66
3) Activation de la PI 3-kinase par l'insuline.....	68
<b>D. DESENSIBILISATION A COURT-TERME DE LA RECEPTIVITE B-ADRENERGIQUE DE L'ADIPOCYTE.....</b>	<b>73</b>
<b>I. PUBLICATION N° 1.....</b>	<b>73</b>
<b>II. RESULTATS COMPLEMENTAIRES.....</b>	<b>74</b>
1) Caractérisation des récepteurs $\beta$ -adrénergiques: utilisation de la concanavaline A.....	74
2) Mesure du couplage des récepteurs $\beta$ 1- et $\beta$ 2-adrénergiques.....	78
3) Mesure de l'activité lipolytique: validation de l'OPC 3911.....	81
<b>III. DISCUSSION.....</b>	<b>84</b>

## DEUXIEME PARTIE:

### CONTROLE ADRENERGIQUE DE LA LIPOLYSE DANS LES ADIPOCYTES HUMAINS: RECHERCHE D'UN MODELE ANIMAL

<b>A. LE CONTROLE ADRENERGIQUE DE LA LIPOLYSE: VARIATIONS INTERSPECIFIQUES.....</b>	<b>87</b>
<b>I. LA RECEPTIVITE B3-ADRENERGIQUE.....</b>	<b>87</b>
1) Historique.....	87
2) Le récepteur $\beta$ 3-adrénergique.....	91
3) Variations interspécifiques de la réceptivité $\beta$ 3- adrénergique.....	94
<b>II. LES RECEPTEURS <math>\alpha</math>2 ET LA BALANCE <math>\alpha</math>2-<math>\beta</math> DU TISSU ADIPEUX.....</b>	<b>98</b>
1) Les récepteurs $\alpha$ 2-adrénergiques du tissu adipeux blanc.....	98
2) La balance fonctionnelle $\alpha$ 2- $\beta$ .....	99
<b>III. CONCLUSIONS.....</b>	<b>104</b>
<b>B. CONTROLE DE LA LIPOLYSE CHEZ LES PRIMATES.....</b>	<b>105</b>
<b>I. AVANT-PROPOS.....</b>	<b>105</b>
<b>II. CONTROLE B-ADRENERGIQUE DE LA LIPOLYSE.....</b>	<b>108</b>
1) Publication n°2.....	108
2) Discussion: variations de la réceptivité $\beta$ 3-adrénergique.....	109
<b>III. BALANCE FONCTIONNELLE <math>\alpha</math>2-<math>\beta</math> ET CONTROLES NON- ADRENERGIQUES DE LA LIPOLYSE.....</b>	<b>115</b>
1) Publication n°3.....	115
2) Discussion.....	116
<b>IV. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>119</b>

Titre de la Thèse :

**CONTROLE ADRENERGIQUE DE LA LIPOLYSE  
DANS LE TISSU ADIPEUX :  
DESENSIBILISATION A COURT-TERME  
DES VOIES  $\beta$ -ADRENERGIQUES, RECEPTIVITE  $\alpha$ 2-  
ET  $\beta$ -ADRENERGIQUES CHEZ LES PRIMATES**

Toulouse, 1995

**RESUME :**

L'activation du système nerveux sympathique constitue le principal facteur de mobilisation des lipides stockés dans le tissu adipeux. Les catécholamines stimulent des récepteurs adipocytaires  $\beta$ -adrénergiques ( $\beta$ -AD) -  $\beta$ 1,  $\beta$ 2,  $\beta$ 3 - lipolytiques et  $\alpha$ 2-AD anti-lipolytiques. La coexistence de trois sous-types de récepteur  $\beta$ -AD couplés au même effet biologique (la lipolyse) peut apparaître redondante. Une explication à la présence de ces trois sous-types peut être envisagée dans l'existence de régulations différentes de ces récepteurs.

Dans ce contexte, nous avons étudié les mécanismes de désensibilisation à court-terme des voies  $\beta$ -AD d'adipocytes de rat incubés pendant 1 heure en présence de 10  $\mu$ M d'isoprénaline ( $\beta$ -agoniste non sélectif). L'isoprénaline induit une désensibilisation des réponses lipolytiques  $\beta$ -AD (noradrénaline,  $\beta$ 1-,  $\beta$ 2- et  $\beta$ 3-agonistes) et non  $\beta$ -AD (ACTH). Nous avons localisé plusieurs processus de désensibilisation, en amont et en aval de la production d'AMPc. En amont se situent les processus classiques ciblés sur les récepteurs (découplage et internalisation), qui inhibent la voie de production du second messager. La voie  $\beta$ 2-AD est plus sensible à ces mécanismes que les voies  $\beta$ 1 et  $\beta$ 3. En aval, grâce à l'utilisation d'un inhibiteur sélectif de la phosphodiesterase adipocytaire (l'OPC 3911) nous avons identifié une voie de régulation originale : la stimulation de la dégradation de l'AMPc par l'activation de la phosphodiesterase. Ce phénomène rend compte à lui seul de la désensibilisation de la réponse lipolytique à la noradrénaline. L'activation de la phosphodiesterase étant un mécanisme AMPc-dépendant, notre observation ajoute une boucle supplémentaire d'autorégulation des taux d'AMPc aux processus de désensibilisation à court-terme du système récepteurs  $\beta$ -AD/adénylyl cyclase.

Parmi les quatre types de récepteurs adrénérgiques impliqués dans le contrôle de la lipolyse adipocytaire, les sous-types  $\alpha$ 2- et  $\beta$ 3-AD sont des cibles potentielles de traitements pharmacologiques de l'obésité et sont exprimés de façon variable selon les espèces. Les études comparées montrent qu'aucun modèle animal ne possède un tissu adipeux dont les deux composantes  $\alpha$ 2- et  $\beta$ 3-AD soient similaires à celles du tissu adipeux humain.

Nous avons étudié le contrôle adrénérgique de la lipolyse adipocytaire chez trois espèces de singes : le marmouset, le macaque et le babouin. L'étude de la réceptivité  $\beta$ -AD nous a permis de montrer la présence de récepteurs  $\beta$ 1- et  $\beta$ 2-AD, et des variations dans l'expression de la voie  $\beta$ 3-AD. Les agonistes  $\beta$ 3-AD sont lipolytiques au niveau des adipocytes de marmouset, alors que chez le babouin et le macaque, tout comme chez l'homme, la voie  $\beta$ 3-AD semble peu (ou pas) fonctionnelle. Les adipocytes des trois espèces présentent une voie  $\alpha$ 2-AD anti-lipolytique puissante, fortement impliquée dans le contrôle de la lipolyse par l'adrénaline et la noradrénaline. Les profils de réponse à d'autres systèmes lipolytiques (adrénocorticotropine, hormone parathyroïdienne, histamine) ou anti-lipolytiques (adénosine, peptide YY) sont similaires chez le babouin, le macaque et l'homme. Le babouin et le macaque sont les seules espèces de laboratoire connues dont les cellules adipeuses présentent à la fois une voie  $\beta$ 3-AD peu ou pas fonctionnelle et une voie  $\alpha$ 2-AD puissante. De ce point de vue, ils constituent actuellement les seuls modèles animaux comparables à l'homme.