

THESE

présentée

devant l'Université Paul Sabatier de Toulouse (Sciences)

en vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITE PAUL SABATIER

Spécialité : Pharmacologie Moléculaire

par

Dominique LANGIN



SITE "IMIDAZOLINE" ET RECEPTEUR BETA3-ADRENERGIQUE DU TISSU ADIPEUX :

**Caractérisation et discrimination par rapport aux récepteurs
alpha2 et bêta-adrénergiques**



Soutenue le 26 Mars 1990 devant la commission d'examen :

PRESIDENT: M. Jean CROS, Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

MEMBRES: M. Jacques HANOUNE, Directeur de recherche INSERM, INSERM U99, Créteil

M. Georges VAUQUELIN, Professeur à l'Université Libre de Bruxelles

M. Pascal BOUSQUET, Professeur à l'Université Louis Pasteur de Strasbourg

M. Jean-Claude MEUNIER, Directeur de recherche CNRS, LPTF, Toulouse

M. Yves CHILLIARD, Directeur de recherche INRA, INRA-CRZV, Theix

M. Max LAFONTAN, Directeur de recherche INSERM, INSERM U317, Toulouse

Recherches effectuées à l'unité 317 de l'INSERM, Institut de Physiologie, Université Paul Sabatier, Toulouse

SOMMAIRE

Avant-propos (*Page 1*)

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE (*Page 3*)

1. Les principales étapes de la cascade lipolytique
2. Classification des récepteurs adrénergiques
3. Hétérogénéité de la réponse lipolytique aux catécholamines et nombre de récepteurs α_2 et β -adrénergiques

RESULTATS (*Page 50*)

1. Démarche expérimentale
2. Liste des publications

DISCUSSION (*Page 55*)

1. Caractérisation du site "imidazoline" et du récepteur α_2 -adrénergique dans le tissu adipeux
2. Existence d'un troisième récepteur β -adrénergique dans le tissu adipeux des mammifères : conséquences fonctionnelles

CONCLUSION ET PERSPECTIVES (*Page 97*)

BIBLIOGRAPHIE (*Page 101*)

RESUME

La cellule adipeuse constitue un modèle privilégié pour l'étude des mécanismes d'action des catécholamines. Les études antérieures ont montré que les catécholamines peuvent exercer un effet lipolytique via les récepteurs bêta-adrénergiques et un effet antilipolytique via les récepteurs alpha2-adrénergiques. Les récepteurs alpha2 et bêta-adrénergiques ont été bien caractérisés dans l'adipocyte humain. Cependant, la recherche de modèles expérimentaux a laissé entrevoir de nombreuses disparités fonctionnelles, souvent incomprises. Notre recherche a eu pour objectif d'essayer de comprendre certaines de ces disparités et d'apporter des solutions expérimentales nouvelles. Au cours de ce travail, nous avons décrit l'existence de sites "imidazoline" dans l'adipocyte, contribué à la découverte d'un nouveau radioligand alpha2-adrénergique de grand intérêt et démontré la coexistence de trois récepteurs bêta-adrénergiques dans l'adipocyte blanc de la plupart des espèces animales.

1. La première partie des travaux a été réalisée principalement chez le lapin, puis étendue au tissu adipeux humain. Le récepteur alpha2-adrénergique du tissu adipeux de lapin n'avait jamais pu être caractérisé et quantifié avec les radioligands utilisés chez l'homme alors que ce modèle se rapproche le plus de l'homme en ce qui concerne les caractéristiques lipolytiques de l'adrénaline. Notre étude a porté sur l'utilisation de deux nouveaux radioligands tritiés de la famille des imidazolines, l' $[^3\text{H}]$ idazoxan et son dérivé 2-méthoxy, le $[^3\text{H}]$ RX821002. Ce dernier, utilisé pour la première fois, a tout d'abord été caractérisé sur un modèle cellulaire possédant un récepteur alpha2-adrénergique parfaitement identifié, la lignée cellulaire d'adénocarcinome colique humain HT29. Le $[^3\text{H}]$ RX821002 s'avère être un meilleur outil que la $[^3\text{H}]$ yohimbine utilisée par la plupart des expérimentateurs. De plus, ce radioligand nous a permis de réaliser une parfaite identification des récepteurs alpha2-adrénergiques du tissu adipeux et du colon de lapin, deux tissus où l'implication fonctionnelle de ces récepteurs semble évidente alors que les radioligands classiques, la $[^3\text{H}]$ yohimbine et la $[^3\text{H}]$ rauwolscine, ne sont pas utilisables. Cet agent constitue donc un ligand alpha2-antagoniste d'un grand intérêt.

L' $[^3\text{H}]$ idazoxan, un antagoniste alpha2-adrénergique, se fixe dans ces deux tissus sur des récepteurs alpha2-adrénergiques mais également avec une haute affinité sur des sites non-adrénergiques. Une étude pharmacologique détaillée de ces sites non-alpha2-adrénergiques a été entreprise dans le tissu adipeux de lapin. Une relation structure-affinité des molécules imidazoliques a pu être dégagée. En particulier, le RX821002 ne se fixe pas sur ces sites. Ces sites se caractérisent par une bonne affinité pour certains imidazolines, guanidines et guanidiniums. Afin de tester l'hypothèse d'une relation éventuelle entre les récepteurs alpha2-adrénergiques et les sites non-adrénergiques, l'étude a été étendue au tissu adipeux humain. Ce tissu contient également un nombre important de sites non-adrénergiques. L'observation

des variations des deux types de récepteurs en fonction du dépôt de tissu adipeux n'a pas permis de dégager de corrélation entre ces deux familles de sites qui semblent constituer des entités distinctes. Le masquage sélectif à l'aide d'antagonistes irréversibles des seuls récepteurs alpha2-adrénergiques semble indiquer que les deux sites sont indépendants; la régulation des liaisons de l' $[^3\text{H}]$ idazoxan et du $[^3\text{H}]$ RX821002 par les ions sont également différentes.

2. La deuxième partie du travail contient une redéfinition de la réceptivité bêta-adrénergique du tissu adipeux. Pendant de nombreuses années, les études sur l'adipocyte de rat indiquaient une réponse bêta-adrénergique lipolytique "atypique" alors que les études des récepteurs à l'aide de radioligands révélaient l'existence de récepteurs bêta1-adrénergiques classiques. Au contraire, effets biologiques et études de liaison ne présentaient pas ce type de disparités dans le tissu adipeux humain: les récepteurs impliqués dans la lipolyse étant de types bêta1 et bêta2. En utilisant des molécules hautement sélectives (BRL37344, CGP12177, cyanopindolol), nous avons pu montrer qu'il existait en fait trois types de récepteurs bêta-adrénergiques (bêta1, bêta2 et bêta3) dans les tissus adipeux de rat, de hamster, de chien et de lapin. Le récepteur bêta3-adrénergique semble important dans la genèse de l'effet lipolytique des catécholamines dans ces différentes espèces. Par contre, le tissu adipeux sous-cutané humain semble dépourvu de récepteurs bêta3-adrénergiques. Chez le lapin, la réponse bêta3-adrénergique varie selon le dépôt de tissu adipeux étudié et l'âge de l'animal. Au cours du développement du tissu adipeux périrénal, la réponse alpha2-adrénergique antilipolytique augmente alors que la réponse bêta3-adrénergique lipolytique diminue.

MOTS-CLES

Site "imidazoline"

Récepteur alpha2-adrénergique

Idazoxan tritié

RX821002 tritié

Récepteur bêta3-adrénergique

Adipocyte

Lipolyse

Récepteurs bêta-adrénergiques