

La mobilisation des acides gras et leur utilisation dans le tissu adipeux : une nouvelle donne

par Anne Mazzucotelli & Dominique Langin

*INSERM U586, Unité de recherche sur les obésités, Toulouse, F-31432 France; Université Paul Sabatier, Institut Louis Bugnard IFR31, Toulouse, F-31432 France; CHU de Toulouse, Toulouse, F-31059 France.
E-mail : langin@toulouse.inserm.fr*

Reçu le 23 novembre 2005

RÉSUMÉ

L'excès de masse grasse a de multiples conséquences néfastes pour la santé et est à l'origine de complications métaboliques comme le diabète de type 2, des problèmes cardiovasculaires et certains cancers. Une dérégulation du métabolisme des lipides est depuis longtemps reconnue comme un facteur favorisant l'apparition d'une obésité et du syndrome métabolique. Les travaux réalisés ces dernières années ont permis de mettre en évidence un système de mobilisation des lipides beaucoup plus complexe que celui imaginé jusqu'à présent, avec l'implication des pep-

tides natriurétiques dans le contrôle hormonal et la découverte d'une nouvelle lipase des triglycérides, l'ATGL (*adipose triglyceride lipase*). Parallèlement les mécanismes de la ré-estérification et de l'oxydation des acides gras pourraient être activés afin de favoriser l'utilisation locale des acides gras. Le ciblage des différentes étapes clés de ce métabolisme (lipolyse adipo-cytaire, utilisation des acides gras) constitue une stratégie potentielle de lutte contre l'obésité et le syndrome métabolique.

SUMMARY Fatty acid mobilization and their use in adipose tissue

An excess of fat mass excess predisposes to multiple complications such as type 2 diabetes, cardiovascular diseases or cancer. A dysregulation of lipid metabolism contributes to the development of obesity and the metabolic syndrome. Recent data on lipid mobilization in adipose tissue have revealed a complex pathway involving a human specific hormonal control

of lipolysis *via* the natriuretic peptides and a new triglyceride lipase, ATGL. Activation of fatty acid re-esterification and oxidation can lead to an increase in fatty acid utilization. Targeting these key steps of lipid metabolism (adipose tissue lipolysis and fatty acid oxidation) constitutes a potential strategy for the treatment of obesity and associated metabolic disorders.

Depuis 1998, l'obésité figure parmi les préoccupations prioritaires de l'Organisation Mondiale de la Santé. L'excès de masse grasse a de multiples conséquences néfastes pour la santé et est à l'origine de complications métaboliques comme le diabète de type 2, des problèmes cardiovasculaires et certains cancers. L'obésité s'installe lors d'un déséquilibre de la balance énergétique lorsque les apports caloriques sont supérieurs aux dépenses. L'excédent d'énergie est alors stocké sous forme de triglycérides au niveau du tissu adipeux blanc et reste à la disposition de l'organisme. La lipolyse est un phénomène physiologique qui se déclenche lors d'une déficience d'apport en substrat ou lors d'une augmentation de la demande énergétique (exercice physique, par exemple). L'hydrolyse des triglycérides aboutit à la formation de trois acides gras libres et d'une molécule de glycérol. Les acides gras libérés et le glycérol rejoignent

alors la circulation sanguine et sont transportés vers d'autres tissus où ils pourront être utilisés. Les travaux de ces trente dernières années ont établi le rôle essentiel joué par la voie de l'AMP cyclique (AMPC) et la lipase hormonosensible (LHS) dans le contrôle de la lipolyse. Actuellement, le traitement de choix dans la lutte contre l'obésité reste la restriction calorique dont le but est d'induire l'hydrolyse des triglycérides stockés dans le tissu adipeux pour permettre l'utilisation des acides gras libérés par l'organisme lors d'un exercice physique d'intensité adaptée. Ainsi, une stratégie thérapeutique envisagée pour un programme de lutte contre l'obésité vise les enzymes impliquées dans l'hydrolyse des triglycérides. Cependant, il a été montré que les acides gras libres provenant de la lipolyse s'ils ne sont pas utilisés peuvent se déposer dans d'autres organes et entraîner une lipotoxicité et le développement d'une

insulinorésistance. Dans le cadre du syndrome métabolique, une inhibition de la lipolyse est donc favorable. C'est la base du mécanisme hypolipémiant de l'acide nicotinique (niacine). Une autre stratégie attractive serait de favoriser une composante de la dépense énergétique (composante adaptative) pour à la fois modifier le bilan énergétique et favoriser l'utilisation des acides gras. Au niveau du tissu adipeux brun, les acides gras *via* la β -oxydation et le cycle de Krebs dans la mitochondrie permettent la production d'énergie sous forme d'ATP mais également de chaleur par le découplage de la chaîne respiratoire. L'induction d'un tel processus au niveau des adipocytes blancs permettrait d'éviter les effets secondaires négatifs induits par un niveau d'acides gras libres circulants trop important.

Dans cette revue sont décrits les principaux mécanismes de contrôle de la lipolyse dans les adipocytes blancs humains. En effet, l'intérêt croissant pour la compréhension des mécanismes régulant la lipolyse ces dernières années a permis de mettre en évidence un système beaucoup plus complexe que celui imaginé jusqu'à présent. L'implication des peptides natriurétiques (Sengenès *et al.*, 2000) dans le contrôle hormonal de la lipolyse chez l'Homme, mais également tout récemment l'identification d'une nouvelle lipase des triglycérides, l'ATGL (*adipose triglyceride lipase*) (Jenkins *et al.*, 2004; Villena *et al.*, 2004; Zimmermann *et al.*, 2004) avaient été ignorées jusqu'à présent. Dans une deuxième partie, nous nous intéresserons au devenir intracellulaire des produits de la lipolyse et plus particulièrement au phénomène de ré-estérification des acides gras. Nous porterons notre attention sur une enzyme : la glycérol kinase (Guan *et al.*, 2002; Tan *et al.*, 2003), enzyme impliquée dans la ré-estérification des acides gras au niveau du tissu adipeux brun et très peu exprimée dans le tissu adipeux blanc. Puis nous aborderons l'oxydation des acides gras qui se produit au niveau du tissu adipeux brun mais qui semble, sous certaines conditions, pouvoir être inducible dans le tissu adipeux blanc (Tiraby *et al.*, 2003; Bogacka *et al.*, 2005).

1 - CONTRÔLE HORMONAL ET ENZYMES DE LA LIPOLYSE : LES ANCIENS ET LES NOUVEAUX ACTEURS

1.1 - Les voies classiques de la régulation de la lipolyse

1.1.1 - Les catécholamines

Les catécholamines sont des régulateurs importants de la lipolyse au niveau du tissu adipeux blanc. La figure 1 résume les principales voies de régulation de la lipolyse de l'adipocyte blanc humain. Le neurotransmetteur, la noradrénaline, et l'hormone, l'adrénaline, régulent la lipolyse *via* les récepteurs lipolytiques β 1 et 2-adrénergiques et le récepteur antilipolytique α 2-adrénergique. Ces deux récepteurs sont couplés respectivement à des protéines G de type Gs ou Gi et contrôlent ainsi les taux

intracellulaires d'AMPc *via* l'adénylyl cyclase. Ces variations d'AMPc régulent l'activité de la LHS *via* la protéine kinase A. Dans les cellules adipeuses humaines, les récepteurs β 1 et 2-adrénergiques ont été montrés comme stimulant la lipolyse *in vitro* (Mauriège *et al.*, 1988) et *in vivo* (Barbe *et al.*, 1996). Un troisième sous-type de récepteur β -adrénergique, le récepteur β 3-adrénergique, est lipolytique et très abondant dans l'adipocyte de rongeurs mais faiblement exprimé dans l'adipocyte humain. Le traitement de rongeurs par un agoniste sélectif des récepteurs β 3-adrénergiques induit une réponse lipolytique importante et exerce un effet anti-obésité et anti-diabétique (Arch & Wilson, 1996). A l'inverse, chez l'Homme, l'agoniste β 3-adrénergique a montré peu d'effet (Weyer *et al.*, 1998). Une étude récente chez des souris déficientes pour les trois récepteurs β -adrénergiques met en évidence une réponse lipolytique résiduelle aux catécholamines démontrant la présence d'un autre récepteur couplé aux protéines Gs présentant une faible affinité pour la noradrénaline (Tavernier *et al.*, 2005). La nature et le rôle physiologique de ce nouveau récepteur restent à être déterminés. Les catécholamines peuvent également exercer un effet antilipolytique *via* les récepteurs α 2-adrénergiques. Ces récepteurs sont prédominants par rapport aux récepteurs β -adrénergiques dans le tissu adipeux sous-cutané humain. L'adrénaline et la noradrénaline présentent une affinité plus forte pour le récepteur α 2-adrénergique que pour le récepteur β -adrénergique suggérant le rôle du récepteur α 2-adrénergique dans le contrôle de la lipolyse chez l'Homme (Lafontan & Berlan, 1995). Une étude chez des sujets non obèses confirme que l'adrénaline contrôle la lipolyse dans le tissu adipeux blanc humain sous-cutané *via* l'activation de récepteurs α 2-adrénergiques (Stich *et al.*, 1999). Des travaux complémentaires réalisés chez des sujets minces et obèses montrent que, lors d'un exercice, le traitement par un antagoniste des récepteurs α 2-adrénergiques chez les obèses permet d'obtenir une concentration extracellulaire identique à celle observée chez les sujets minces (Stich *et al.*, 2000). L'importance physiologique de ce récepteur varie en fonction de la quantité de dépôts adipeux mais également de l'âge et du sexe.

1.1.2 - L'insuline

La principale hormone à effet antilipolytique est l'insuline. Elle intervient dans la régulation des taux intracellulaires d'AMPc *via* la phosphodiesterase de type 3B (PDE-3B). Les événements responsables de l'effet antilipolytique de l'insuline sont clairement identifiés (Capeau, 2003). Ils impliquent des récepteurs à activité tyrosine kinase et leurs protéines associées IRS-1 et IRS-2 (*insulin receptor substrates 1 et 2*), qui, une fois stimulés, activent la phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K), la protéine kinase B/Akt et la PDE-3B qui assure la dégradation de l'AMPc (Fig. 1). Cette diminution du niveau d'AMPc entraîne une inactivation de la PKA et par conséquent une diminution de la phosphorylation de la LHS. Cette voie exerce des effets inhibiteurs puissants sur la lipolyse adrénergique.

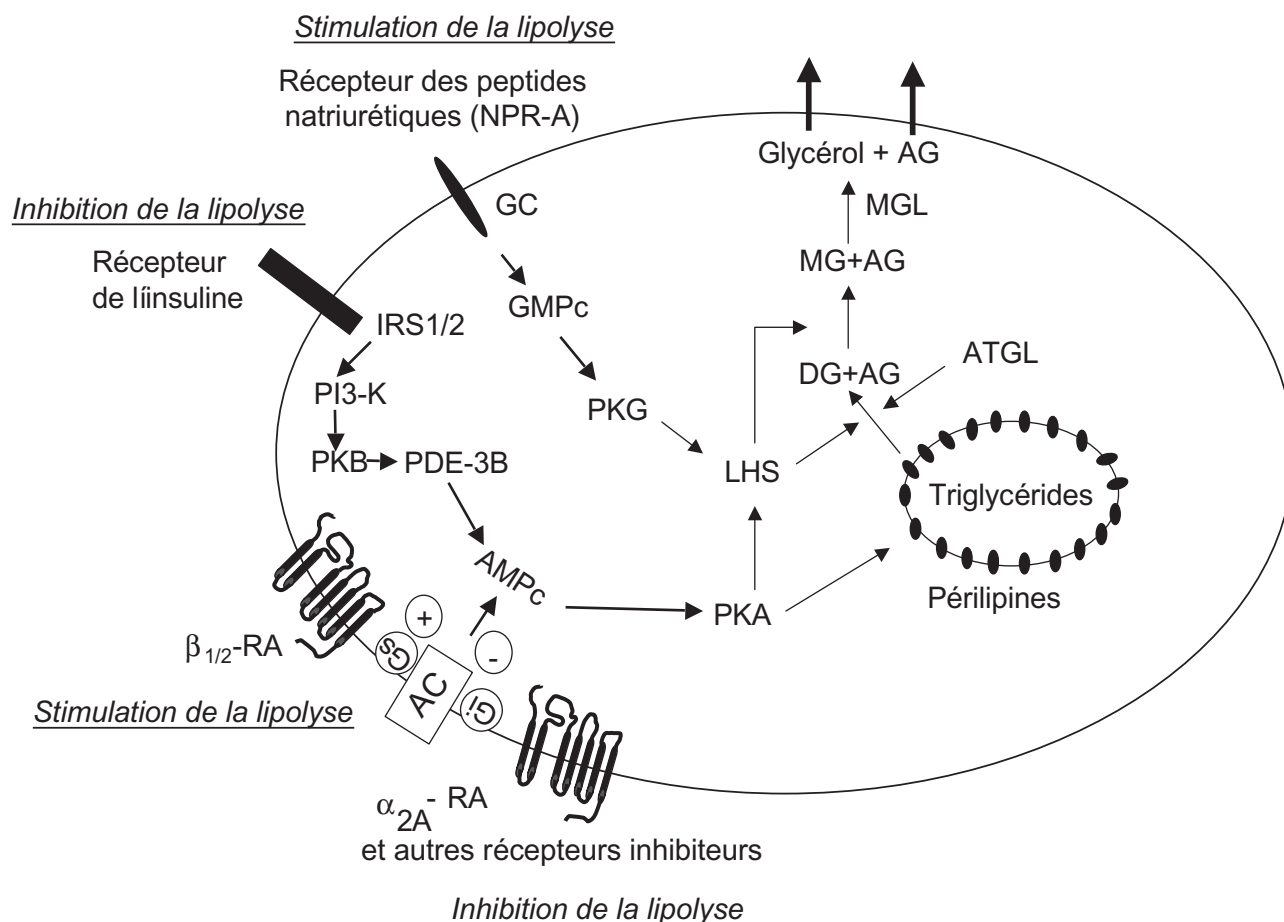


FIG. 1. – Voies de régulation de la lipolyse dans l'adipocyte blanc humain.

α_{2A}-RA : récepteur antilipolytique α₂-adrénergique; AC : adénylyl cyclase; AG : acide gras; AMPc : adénosine monophosphate cyclique; ANP (*atrial natriuretic peptide*) : peptide natriurétique atrial; ATGL (*adipose triglyceride lipase*) : lipase adipocytaire des triglycérides; β_{1/2}-RA : récepteurs lipolytiques β₁ et 2 adrénergiques; BNP (*brain natriuretic peptide*) : peptide natriurétique du cerveau; DG : diglycéride; GC : guanylyl cyclase; GMPc : guanosyl monophosphate cyclique; Gs ou Gi : protéines G de type Gs ou Gi; IRS-1 et IRS-2 (*insulin receptor substrate 1 et 2*) : substrats du récepteur à l'insuline de type 1 et 2; LHS : lipase hormono-sensible; MG : monoglycéride; MGL : lipase de monoglycéride; NPR-A : récepteurs membranaires des peptides natriurétiques de type A; PDE-3B : phosphodiesterase de type 3B; PI3-K : phosphatidylinositol-3 kinase; PKA : protéine kinase A; PKB : protéine kinase B/Akt; PKG protéine kinase G.

1.2 - Une nouvelle voie de la régulation de la lipolyse : la voie des peptides natriurétiques

Depuis 2000, une nouvelle voie de régulation de la lipolyse a été mise en évidence au niveau du tissu adipeux humain. Notre laboratoire s'est orienté vers la recherche de nouvelles voies de régulation de la mobilisation des lipides. Nos recherches se sont portées sur des conditions physiologiques qui induisent la lipolyse. L'activité physique représente la situation physiologique idéale. Durant un exercice, on observe une libération de noradrénaline et d'adrénaline par le système nerveux orthosympathique et la médullosurrénale respectivement. La sécrétion d'insuline quant à elle est inhibée. Selon la durée et l'intensité de l'exercice, le cœur peut libérer des peptides natriurétiques ANP (*atrial natriuretic peptide*) et BNP (*brain natriuretic peptide*). Ces peptides sont

connus pour leurs effets sur les systèmes cardiovasculaire et rénal. Des études *in vitro* et *in vivo* ont montré qu'ils étaient doués de propriétés lipolytiques sur l'adipocyte blanc humain (Sengenès *et al.*, 2000). Cette nouvelle voie n'est fonctionnelle que dans les adipocytes de l'Homme et des Primates (Sengenès *et al.*, 2002). Les peptides natriurétiques agissent *via* les récepteurs membranaires NPR-A qui, après liaison avec leur ligand, induisent une augmentation intracellulaire de GMP cyclique (GMPc). Il s'ensuit une activation de la protéine kinase G (PKG) responsable de la phosphorylation et de l'activation de la LHS (Lafontan *et al.*, 2005).

Afin de tester l'implication des peptides natriurétiques dans le contrôle physiologique de la mobilisation des lipides au cours de l'exercice, des études de microdialyse au niveau du tissu adipeux sous cutané ont été réalisées chez des sujets soumis à l'exercice. Comme attendu,

l'exercice entraîne une augmentation de la libération de glycérol extracellulaire reflétant une forte mobilisation des lipides. Cette libération de glycérol extracellulaire est seulement partiellement supprimée par une administration locale d'antagoniste des récepteurs β -adrénergiques. De plus, il existe une corrélation positive entre les taux de glycérol extracellulaire et les taux circulants de peptides natriurétiques (Moro *et al.*, 2004). Les peptides natriurétiques contribuent donc à un contrôle physiologique de la mobilisation des lipides au cours de l'exercice. Cette lipolyse induite par les peptides natriurétiques est indépendante des voies adrénergiques et de l'insuline (Galitzky *et al.*, 2001). De ce fait, les effets lipolytiques des peptides natriurétiques ne sont pas modulables par l'hormone responsable de l'inhibition de la lipolyse lors des repas.

1.3 - Les voies de l'hydrolyse des triglycérides : des nouveaux joueurs dans l'équipe

1.3.1 - Les lipases

La LHS est une enzyme capable d'hydrolyser les triglycérides, les diglycérides ainsi que le cholestérol (Langin *et al.*, 2000). Cependant, dans l'adipocyte blanc, elle a essentiellement une activité d'hydrolase des triglycérides et diglycérides. La régulation de son activité se fait par des phosphorylations sur des résidus sérines *via* la PKA et la PKG. La LHS en condition basale (pas de stimulation lipolytique) est distribuée dans l'ensemble du cytoplasme. Lorsqu'elle est sous forme active phosphorylée, elle migre du cytosol vers la surface des gouttelettes lipidiques (Egan *et al.*, 1992). A ce niveau, d'autres protéines entrent en jeu pour la réguler (voir 1.3.2). Jusqu'à très récemment, la LHS était considérée comme l'enzyme-clé et limitante de l'induction de la lipolyse. L'obtention de souris déficientes pour cette enzyme a remis en cause ce dogme et mis en évidence un système plus complexe que celui imaginé jusqu'alors. Ces souris présentent un poids normal et, bien que la lipolyse induite par les catécholamines soit abolie, une activité lipolytique basale persiste (Osuga *et al.*, 2000). De plus, une accumulation de diglycérides est observée dans le tissu adipeux de souris déficientes en LHS (Haemmerle *et al.*, 2002). Ces résultats suggèrent alors la présence d'une autre lipase dans l'adipocyte capable d'hydrolyser la première fonction ester de la molécule de triglycéride. Il s'agit de l'ATGL (Zimmermann *et al.*, 2004), desnutrin (Villena *et al.*, 2004) ou iPLA2 ζ (Jenkins *et al.*, 2004). Il se pose alors la question de l'importance relative de ces deux enzymes au cours de la lipolyse. Notre équipe a étudié récemment la contribution de chacune des enzymes au niveau des cellules adipeuses humaines (Langin *et al.*, 2005). L'utilisation d'un inhibiteur sélectif de la LHS révèle que la lipolyse stimulée par les catécholamines et les peptides natriurétiques est due à une activation de la LHS. Dans ces conditions, l'enzyme hydrolyse les triglycérides et les diglycérides. Seule la première étape est limitante, la capacité d'hydrolyse des diglycérides qui est indépendante de l'état de phosphorylation de la LHS étant dix fois plus élevée que celle

d'hydrolyse des triglycérides. L'ATGL est dépourvue d'activité d'hydrolyse des diglycérides. Elle intervient, par contre, en situation basale dans l'hydrolyse des triglycérides. L'ATGL semble jouer un rôle prédominant dans la lipolyse de base. Il n'est cependant pas exclu que d'autres lipases puissent intervenir dans l'hydrolyse des triglycérides. L'étape finale, l'hydrolyse des monoglycérides, est assurée *in vivo* par une lipase des monoglycérides indépendante de stimulation hormonale (Fredrikson *et al.*, 1986).

Une résistance à l'action lipolytique des catécholamines a été montrée *in vivo* chez des enfants et des adultes obèses (Jensen *et al.*, 1989; Bougneres *et al.*, 1997). Ce défaut est retrouvé *in vitro* dans des adipocytes isolés de sujets obèses et est associé à une moindre expression de la LHS (Large *et al.*, 1999). De plus, la relation entre baisse de la capacité lipolytique stimulée et baisse de l'expression de la LHS est observée chez des parents non obèses de sujets obèses et dans des adipocytes de sujets obèses différenciés en culture primaire (Hellström *et al.*, 1996; Langin *et al.*, 2005). Comme, par ailleurs, il existe une forte corrélation entre capacité lipolytique et niveau d'expression de la LHS (Large *et al.*, 1998), un défaut d'expression de la LHS pourrait constituer un événement précoce dans le développement de l'obésité qui viserait à protéger l'organisme contre une libération trop importante d'acides gras.

1.3.2 - Les protéines de liaison aux lipides

La protéine de transport des acides gras ALBP (*adipocyte lipid binding protein*) ou aP2 interagit avec la LHS. La liaison de l'ALBP à la partie N-terminale de la LHS permet d'éviter une accumulation locale d'acides gras issus de la lipolyse et de favoriser leur exportation vers l'extérieur de la cellule. Ceci est confirmé par l'observation d'une diminution de la lipolyse chez les souris déficientes en ALBP (Baar *et al.*, 2005).

La modification des gouttelettes lipidiques est un autre mécanisme de contrôle de la lipolyse. Les périlipines sont des protéines très abondantes dans l'adipocyte mature. Elles entourent les grosses gouttelettes lipidiques et empêchent ainsi l'hydrolyse des lipides en bloquant l'accès des lipases à leurs substrats. Durant la lipolyse, la phosphorylation des périlipines entraînerait un remodelage de la surface de la gouttelette qui permettrait l'accès de la LHS. Les souris déficientes en périlipines présentent une lipolyse de base élevée et un phénotype maigre ce qui souligne l'effet protecteur de ces protéines (Martinez-Botas *et al.*, 2000; Tansey *et al.*, 2001).

2 - DEVENIR ET UTILISATION DES PRODUITS DE LA LIPOLYSE

La lipolyse est une voie activée lors d'une demande de l'organisme en énergie (jeûne, exercice). L'étape finale de la lipolyse est la libération de glycérol et d'acides gras. Une partie de cet efflux pourrait s'effectuer par un transport passif mais plusieurs transporteurs d'acides gras comme FAT/CD36 semblent également être impliqués.

Les acides gras produits et libérés par les adipocytes dans la circulation se lient à l'albumine et sont distribués à des organes tels que le foie, le cœur ou les muscles squelettiques. Au niveau de ces organes se produit une oxydation des lipides permettant la synthèse d'ATP. Cependant, une partie des acides gras sera de nouveau stockée dans l'adipocyte ou dans certaines situations, oxydée sur place.

2.1 - Le ré-estérification des acides gras

La ré-esterification des acides gras en triglycérides est un phénomène observé dans les adipocytes bruns et blancs. Il a été montré qu'une part importante des acides gras produits par la lipolyse (30-70 %) est ré-estérifiée au sein de l'adipocyte. De ce fait, les acides gras libérés par l'adipocyte au cours de la lipolyse ne reflètent pas la véritable quantité produite (Reshef *et al.*, 2003). La quantité d'acides gras relargués résulte d'un équilibre entre deux voies opposées : la lipolyse et la ré-estérification (Fig. 2).

L'acétylation du glycérol-3-phosphate (G-3P, voir 2.2) aboutit à la formation d'acide lysophosphatidique (LPA) et constitue une étape importante dans la ré-estérification des acides gras. La réaction est catalysée par la glycérol-3-phosphate acyltransférase (GPAT). La GPAT possède la plus faible activité spécifique de toutes les enzymes impliquées dans la voie de ré-estérification des acides gras à partir de G-3P; de ce fait, elle constitue l'étape limitante de cette voie. Cette enzyme est localisée dans les microsomes et les mitochondries. Cependant, il semble que ce soit la GPAT microsomiale qui soit responsable majoritairement de l'activité GPAT (Coleman & Lee, 2004). L'acide lysophosphatidique formé est acétylé de nouveau par l'acylglycérol-3-phosphate acyltransférase (AGPAT), également appelé lysophosphatidique acyltransférase (LPAAT) pour donner l'acide phosphatidique (PA). Son activité est ici encore localisée au niveau des microsomes et des mitochondries mais également au niveau de la membrane plasmique (Bursten *et al.*, 1991). Une sur-expression de AGPAT dans les adipocytes 3T3-L1 supprime la libération d'acides gras en condition

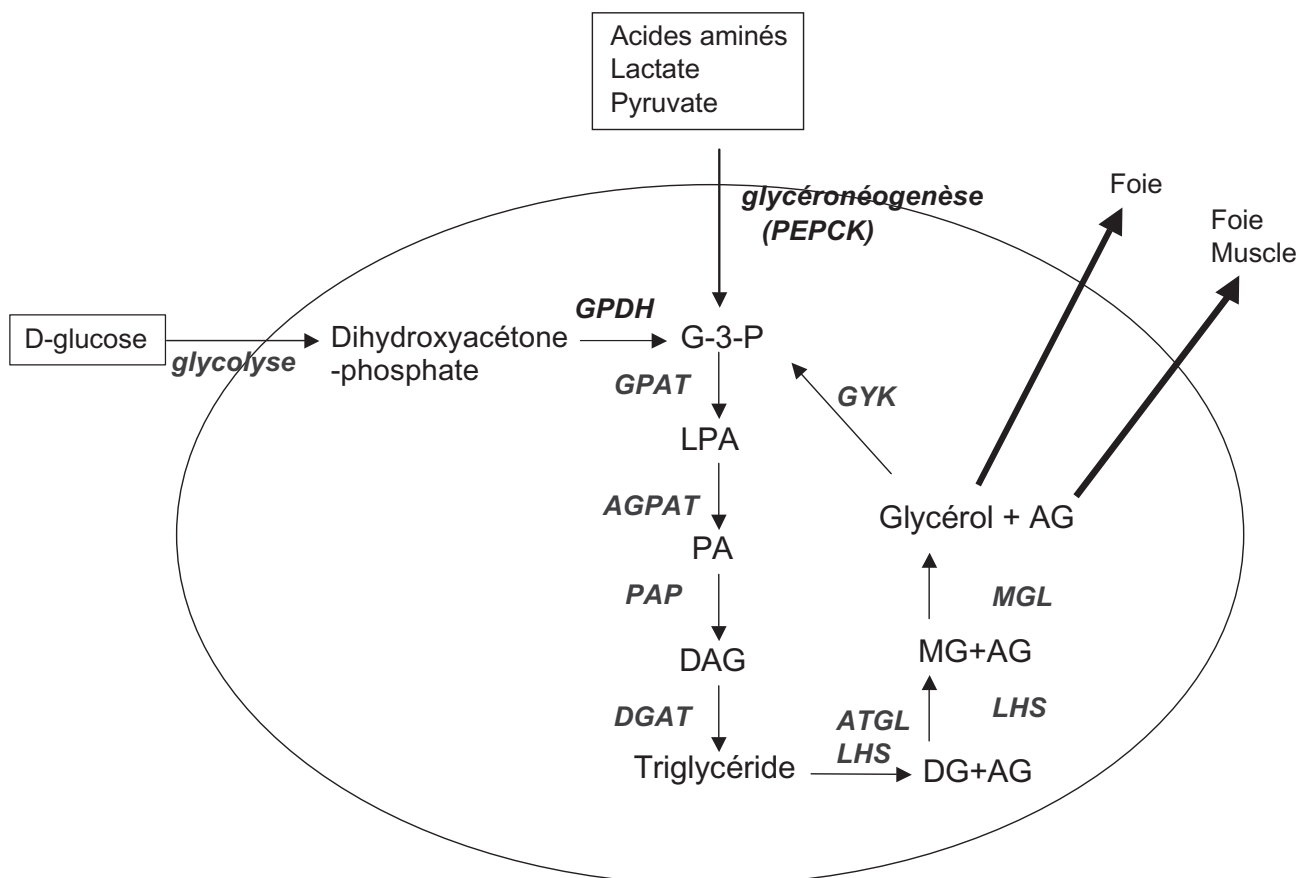


FIG. 2. – Représentation schématique de la ré-estérification des acides gras et glycérol en triglycérides.

AG : acide gras ; AGPAT : acylglycérol-3-phosphate acyltransférase ; ATGL (*adipose triglyceride lipase*) : lipase adipocytaire des triglycérides ; DAG : diacylglycérol ; DG : diacylglycérol ; DGAT : diacylglycérol transférase ; G-3-P : glycérol-3-phosphate ; GPAT : glycérol-3-phosphate acyltransférase ; GYK : glycérol kinase ; LHS : lipase hormono-sensible ; LPA : acide lysophosphatidique ; MG : monoglycérides ; MGL : lipase de monoglycérides ; PA : acide phosphatidique ; PAP : acide phosphatidique phosphatase ; PEPCK : phosphoenopyruvate carboxykinase cytosolique.

basale et stimulée par l'isoprotérénol (Ruan & Pownall, 2001). L'acide phosphatidique formé par l'AGPT peut alors avoir deux devenir. Il peut être converti en CDP-diacylglycérol qui servira de point de départ à la synthèse de phosphatidylinositol, de phosphatidylglycérol ou de cardiolipine, mais également, par déphosphorylation, il sert de précurseur à la synthèse de diacylglycérol (DAG) par l'acide phosphatidique phosphatase (PAP). Le DAG sert de substrat à la diacylglycérol transférase (DGAT) autre enzyme clé de cette voie permettant la formation des tryglycérides. C'est également grâce à ce précurseur que pourront être formés les phospholipides : phosphatidylsérine, phosphatidylcholine et phosphatidyléthanolamine.

La quantité d'acides gras relargués résulte donc de l'équilibre entre les voies de la lipolyse et de la ré-estérification. Des travaux récents (Zimmermann *et al.*, 2003) ont montré que ces deux voies sont étroitement liées dans leur régulation. En effet, les souris déficientes en LHS présentent un phénotype surprenant puisqu'elles sont minces et ne présentent pas de diminution du taux d'acides gras libres circulants. Les auteurs se sont alors intéressés aux enzymes impliquées dans la formation de triglycérides, et ont observé une diminution de l'activité de la GPAT, AGPT et DGAT. Il apparaît donc que la diminution de la (ré)-esterification des acides gras contre-carre la perte de l'activité de la LHS empêchant un stockage excessif d'acides gras au sein du tissu adipeux.

2.2 - Le glycérol-3 phosphate à l'origine de la ré-estérification des acides gras

Le point de départ de la ré-estérification est le glycérol-3-phosphate (G-3P) (Fig. 2). Il peut s'obtenir à partir du glycérol *via* une phosphorylation par la glycérol kinase, mais cette enzyme est très faiblement exprimée dans l'adipocyte blanc. Il peut également être produit par la glycolyse à partir de glucose mais cette voie est fortement réduite lorsque la lipolyse est active. En effet, pour entrer dans la cellule, le glucose a besoin des transporteurs de glucose ; or l'insuline est capable d'induire la translocation de Glut 4 du pool intracellulaire vers la membrane. Il y a 35 ans, Hanson, Reshelf et leurs collaborateurs démontrent une synthèse *de novo* de G-3P à partir de pyruvate, lactate et acides aminés : la glycéronéogenèse. Cette voie est sous la dépendance d'une enzyme la PEPCKc (phosphoenopyruvate carboxykinase cytosolique). Les travaux initiaux à l'origine de cette découverte ont démontré que l'addition de pyruvate sur des tissus adipeux de rat incubé *in vitro* entraîne une diminution de la libération d'acides gras d'environ 65 % sans que la lipolyse soit affectée pour autant puisque le taux de glycérol ne variait pas. Ces résultats suggèrent donc la présence d'une voie capable de ré-estérifier les acides gras libérés par la lipolyse. Pourtant l'existence d'une telle voie au sein du tissu adipeux blanc a longtemps été contestée. Comme pour la découverte de l'ATGL, c'est l'apparition de souris déficientes ou surexprimant la PEPCKc qui a permis la reconnaissance de cette nouvelle voie (Franckhauser *et al.*, 2002 ; Olswang *et al.*, 2002).

Au niveau du tissu adipeux brun chez les rongeurs et autres mammifères, on retrouve une forte activité de la PEPCKc (Hahn & Novak, 1975) mais la fonction physiologique de cette enzyme dans ce tissu n'a pas été encore clairement établie. A l'inverse du tissu adipeux blanc, le tissu adipeux brun possède une importante activité glycérol kinase capable de phosphoryler le glycérol en G-3P. Cependant, une part importante du G-3P formé est issue de la glycéronéogenèse. Ainsi, au niveau du tissu adipeux brun, la production de G-3P est régulée par deux enzymes clés. Au travers des divers travaux ces dernières années, il apparaît clairement que l'activité de la glycérol kinase au niveau du tissu adipeux blanc est insuffisante pour expliquer le taux de ré-estérification des acides gras. Récemment Guan et ses collaborateurs (Guan *et al.*, 2002) montrent, sur des adipocytes de rongeurs traités aux thiazolidinediones, une induction de l'expression et de l'activité de cette enzyme. Cependant, d'autres travaux auxquels nous avons participé ne mettent pas en évidence une induction de l'expression de la glycérol kinase après un traitement aux thiazolidinediones sur des adipocytes blancs humains en culture et chez des patients diabétiques de type 2. Les auteurs n'ont pas observé non plus une diminution du taux de glycérol relargué chez des patients diabétiques de type 2 traités aux thiazolidinediones (Tan *et al.*, 2003). Guan *et al.* expliquent ces différences d'induction de la glycérol kinase après un traitement aux thiazolidinediones par des différences expérimentales. En effet, les modèles utilisés par Guan *et al.* présentent une diminution des taux d'acides gras libres circulants après traitement alors que, chez les patients diabétiques traités utilisés dans notre étude, aucune diminution des taux d'acides gras libres circulants n'a été observée. La diminution du niveau d'acides gras libres circulants en réponse à un traitement aux thiazolidinediones reste un point très discuté car, même si on la retrouve systématiquement chez les rongeurs, chez l'Homme cette diminution est beaucoup moins systématique. Les thiazolidinediones sont les ligands de PPAR γ (peroxisome proliferative activated receptor γ). PPAR γ a été montré comme possédant un site de fixation spécifique dans le promoteur de la PEPCK-C permettant ainsi son expression dans le tissu adipeux blanc riche en récepteurs nucléaires PPAR γ (Eubank *et al.*, 2001). Ainsi, l'administration de thiazolidinediones pourrait stimuler la transcription de ce gène et expliquer la forte production de G-3P non pas par la voie de la glycérol kinase mais par la glycéronéogenèse. Des travaux réalisés chez les rongeurs ont permis de mettre en évidence que les agonistes PPAR γ induisent bien une expression de la PEPCK-C responsable d'une augmentation de la ré-estérification des acides gras et que ce phénomène est largement majoritaire comparé à la faible induction de l'activité de la glycérol kinase (Tordjman *et al.*, 2003).

2.3 - L'oxydation des acides gras

Au niveau du tissu adipeux brun, les acides gras produits par la lipolyse trouvent une utilisation intracellu-

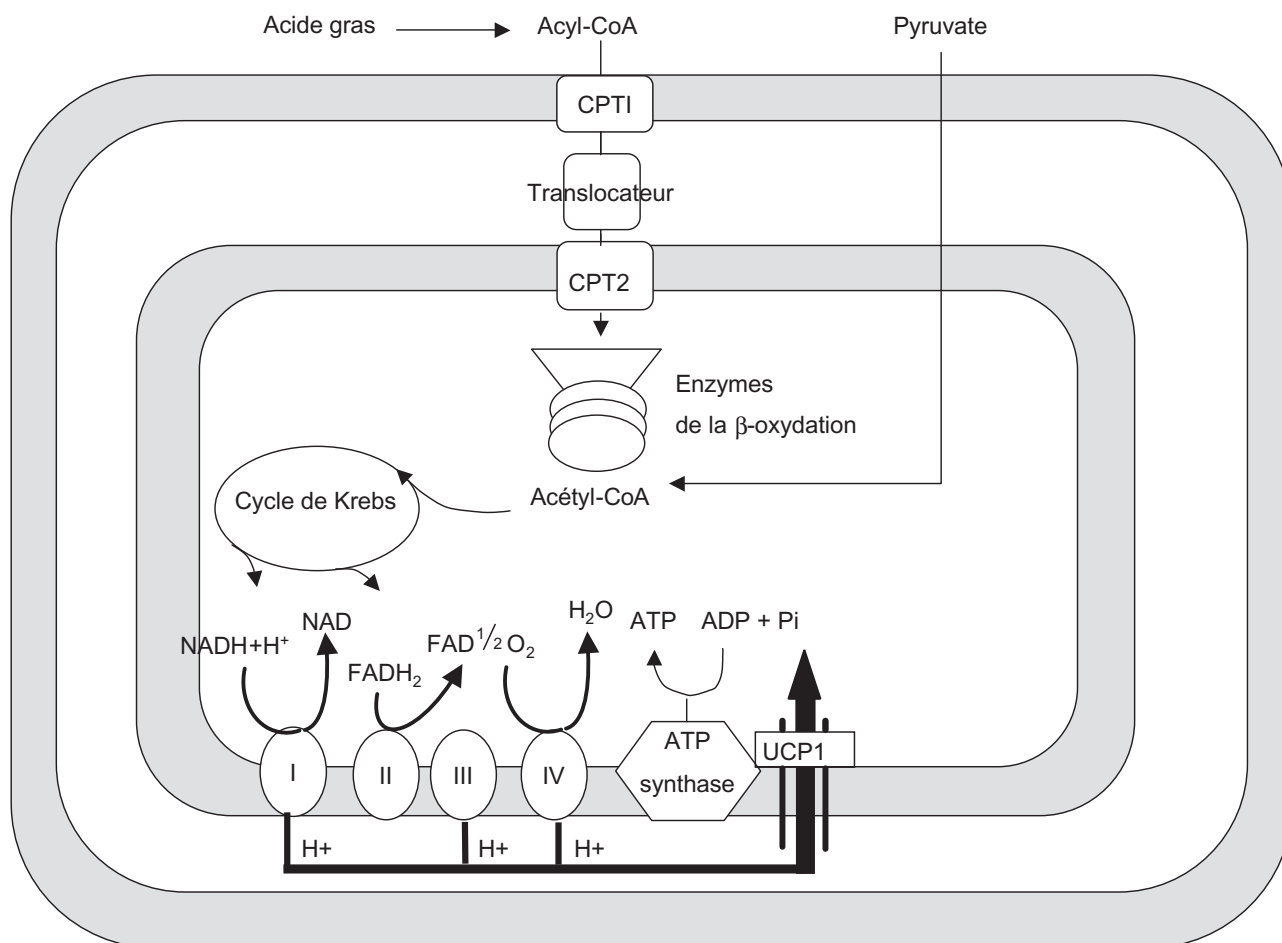


FIG. 3. – Voies de l'oxydation des acides gras au niveau de la mitochondrie.

Acétyl-CoA : Acétyl-coenzyme A ; Acyl-CoA : Acyl-coenzyme A ; ADP : Adénosine diphosphate ; ATP : Adénosine triphosphate ; CACT (*carnitine acylcarnitine translocase*) : translocase de la carnitine/acylcarnitine ; CPT1 : carnitine palmitoyl-transférase 1 ; CPT2 : carnitine palmitoyl-transférase 2 ; FAD : Flavine adénine dinucléotide ; H : proton ; NAD : nicotinamide-adénine-dinucléotide ; O₂ : oxygène ; Pi : phosphate ; UCP1 (*uncoupling protein 1*) : protéine découplante de type 1 ; I : NADH-CoQ oxydoréductase ; II : succinate déshydrogénase-CoQ réductase ; III : cytochrome c réductase ; IV : cytochrome c oxydase.

laire. En effet, *via* la β-oxydation et le cycle de Krebs dans la mitochondrie, ils permettent la production d'énergie sous forme d'ATP ou de chaleur par le découplage de la chaîne respiratoire (Fig. 3). Les enzymes de l'oxydation des lipides et les composants de la chaîne respiratoire sont fortement exprimés dans le tissu adipeux brun permettant une capacité oxydative élevée. La protéine jouant un rôle primordial dans ce processus est la protéine découplante 1 (UCP1) (Ricquier & Bouillaud, 2000). UCP1 est une protéine de 32 kDa exprimée au niveau de la membrane interne de la mitochondrie. Elle permet la dissipation d'un gradient électrochimique de protons généré par la chaîne respiratoire. Le découplage entre la synthèse d'ATP et la consommation d'oxygène génère une dissipation d'énergie sous forme de chaleur. L'expression d'UCP1 est induite en réponse au froid *via* une activation du système nerveux sympathique. L'acide rétinoïque, les thiazolidinediones et les hormones thy-

roïdiennes sont d'autres régulateurs de cette induction. En réponse au froid ou par un stimulus β-adrénergique, au niveau du tissu adipeux brun, on observe également l'induction de PGC1α (peroxisome proliferator activator receptor γ coactivator-1α). Ce coactivateur transcriptionnel est alors capable d'augmenter l'expression de gènes de la chaîne respiratoire et d'induire une mitochondriogenèse. En coopération avec le récepteur nucléaire PPARγ, PGC1α a été montré comme responsable de l'induction d'UCP1 (Puigserver *et al.*, 1998 ; Tiraby & Langin, 2005). L'ensemble de ces mécanismes mis en place au niveau du tissu adipeux brun lors d'une exposition au froid permet une utilisation intracellulaire des lipides.

L'apparition d'un mécanisme similaire au niveau du tissu adipeux blanc serait une stratégie attractive dans la lutte contre l'obésité. En effet, une libération d'acides gras au niveau de la circulation sanguine sans utilisation par les muscles squelettiques peut entraîner une lipo-

toxicité et une insulino-résistance. C'est dans cette optique que notre laboratoire a testé les effets d'une surexpression de PGC1 α sur des cultures primaires d'adipocytes blancs. L'expression de PGC1 α *via* des adénovirus induit une expression d'UCP1, une augmentation des protéines de la chaîne respiratoire et de l'oxydation des lipides ainsi que l'apparition d'autres marqueurs des adipocytes bruns (Tiraby *et al.*, 2003). Des travaux récents réalisés par l'équipe de Bogacka (Bogacka *et al.*, 2005) démontrent qu'un traitement conduisant à une élévation des taux d'AMPc intracellulaire des adipocytes blancs humains induit une augmentation de l'expression de PGC1 α ainsi que de nombreux gènes mitochondriaux. Ils observent également une augmentation du nombre de mitochondries et une augmentation de l'oxydation des lipides. Par ailleurs, une restriction calorique de dix semaines chez l'Homme entraîne une induction de l'expression de PGC1 α dans le tissu adipeux (Viguerie *et al.*, 2005). Ainsi, une conversion des adipocytes blancs en adipocytes bruns pourrait représenter une stratégie de contrôle de la masse grasse (Tiraby & Langin, 2003).

3 - CONCLUSION

Le contrôle de la lipolyse dans le tissu adipeux humain ne relevait jusqu'à présent que de l'activation des récepteurs β -adrénergiques par les catécholamines, la formation d'AMP cyclique, la phosphorylation d'une protéine kinase et l'activation finale de la lipase hormono-sensible. La découverte récente de nouvelles voies de régulation telles que la voie des peptides natriurétiques (Sengenès *et al.*, 2000) ou l'implication de nouvelles lipases telle que l'ATGL (Zimmermann *et al.*, 2004; Langin *et al.*, 2005) démontrent un système beaucoup plus complexe que celui imaginé jusqu'à présent.

Une dérégulation du métabolisme des lipides est depuis longtemps reconnu comme un facteur favorisant l'apparition d'une obésité et du syndrome métabolique. Une stratégie attractive serait d'amener le phénotype d'adipocyte blanc vers un phénotype proche des adipocytes bruns (Tiraby & Langin, 2003). En effet, le tissu adipeux brun permet une dissipation d'énergie sous forme de chaleur évitant ainsi un surplus de stockage ou un taux d'acides gras libres circulants trop élevés. L'induction de l'expression de PGC1 α dans des adipocytes blancs semble suffire à orienter ces adipocytes vers un phénotype oxydatif proche des adipocytes bruns. Cette stratégie pourrait être utilisée en complément d'une approche pharmacologique stimulant la lipolyse afin d'induire une oxydation des acides gras libérés et d'éviter une lipotoxicité périphérique.

BIBLIOGRAPHIE

- Arch J. R. S. & Wilson S., Prospects for β 3-adrenoceptor agonists in the treatment of obesity and diabetes. *Int. J. Obesity*, 1996, 20, 191-199.
- Baar R. A. *et al.*, Investigation of *in vivo* fatty acid metabolism in AFABP/aP2(-/-) mice. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2005, 1, E187-E193.
- Barbe P. *et al.*, *In situ* assessment of the role of the β 1-, β 2- and β 3-adrenoceptors in the control of lipolysis and nutritive blood flow in human subcutaneous adipose tissue. *Br. J. Pharmacol.*, 1996, 117, 907-913.
- Bogacka I. *et al.*, Structural and functional consequences of mitochondrial biogenesis in human adipocytes *in vitro*. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2005, 90, 6650-6656.
- Bougnères P. *et al.*, *In vivo* resistance of lipolysis to epinephrine. A new feature of childhood onset obesity. *J. Clin. Invest.*, 1997, 11, 2568-2573.
- Bursten S. L. *et al.*, Interleukin-1 rapidly stimulates lysophosphatidate acyltransferase and phosphatidate phosphohydrolase activities in human mesangial cells. *J. Biol. Chem.*, 1991, 31, 20732-20743.
- Capeau J., Insulin signaling: mechanisms altered in insulin resistance. *Med. Sci. (Paris)*, 2003, 8-9, 834-839.
- Coleman R. A. & Lee D. P., Enzymes of triacylglycerol synthesis and their regulation. *Prog. Lipid. Res.*, 2004, 2, 134-176.
- Egan J. J. *et al.*, Mechanism of hormone-stimulated lipolysis in adipocytes: translocation of hormone-sensitive lipase to the lipid storage droplet. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, 18, 8537-8541.
- Eubank D. W. *et al.*, Peroxisome proliferator-activated receptor γ and chicken ovalbumin upstream promoter transcription factor II negatively regulate the phosphoenolpyruvate carboxykinase promoter *via* a common element. *J. Biol. Chem.*, 2001, 32, 30561-30569.
- Franckhauser S. *et al.*, Increased fatty acid re-esterification by PEPCK overexpression in adipose tissue leads to obesity without insulin resistance. *Diabetes*, 2002, 3, 624-630.
- Fredrikson G. *et al.*, Hormone-sensitive lipase and monoacylglycerol lipase are both required for complete degradation of adipocyte triacylglycerol. *Biochim. Biophys. Acta*, 1986, 288-293.
- Galitzky J. *et al.*, The lipid-mobilizing effect of atrial natriuretic peptide is unrelated to sympathetic nervous system activation or obesity in young men. *J. Lipid. Res.*, 2001, 28, 536-544.
- Guan H. P. *et al.*, A futile metabolic cycle activated in adipocytes by antidiabetic agents. *Nat. Med.*, 2002, 10, 1122-1128.
- Haemmerle G. *et al.*, Hormone-sensitive lipase deficiency in mice causes diglyceride accumulation in adipose tissue, muscle, and testis. *J. Biol. Chem.*, 2002, 277, 4806-4815.
- Hahn P. & Novak M., Development of brown and white adipose tissue. *J. Lipid. Res.*, 1975, 2, 79-91.
- Hellström L. *et al.*, Adipocyte lipolysis in normal weight subjects with obesity among first-degree relatives. *Diabetologia*, 1996, 39, 921-928.
- Jenkins C. M. *et al.*, Identification, cloning, expression, and purification of three novel human calcium-independent phospholipase A2 family members possessing triacylglycerol lipase and acylglycerol transacylase activities. *J. Biol. Chem.*, 2004, 47, 48968-48975.
- Jensen M. D. *et al.*, Influence of body fat distribution on free fatty acid metabolism in obesity. *J. Clin. Invest.*, 1989, 4, 1168-1173.
- Lafontan M. & Berlan M., Fat cell α 2-adrenoceptors: the regulation of fat cell function and lipolysis. *Endocrine Rev.*, 1995, 16, 716-738.
- Lafontan M. *et al.*, An unsuspected metabolic role for atrial natriuretic peptides. The control of lipolysis, lipid mobilization, and systemic nonesterified fatty acids levels in Humans. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2005, 25, 2032-2042.
- Langin D. *et al.*, Adipocyte lipases and defect of lipolysis in human obesity. *Diabetes*, 2005, 11, 3190-3197.
- Langin D. *et al.*, Millennium fat-cell lipolysis reveals unsuspected novel tracks. *Horm. Metab. Res.*, 2000, 11-12, 443-452.

- Large V. *et al.*, Hormone-sensitive lipase expression and activity in relation to lipolysis in human fat cells. *J. Lipid. Res.*, 1998, 25, 1688-1695.
- Large V. *et al.*, Decreased expression and function of adipocyte hormone-sensitive lipase in subcutaneous fat cells of obese subjects. *J. Lipid. Res.*, 1999, 26, 2059-2066.
- Martinez-Botas J. *et al.*, Absence of perilipin results in leanness and reverses obesity in *Lepr(db/db)* mice. *Nat. Genet.*, 2000, 4, 474-479.
- Mauriège P. *et al.*, Human fat cell β -adrenergic receptors: β agonist-dependent lipolytic responses and characterization of β -adrenergic binding sites on human fat cell membranes with highly selective β_1 -antagonists. *J. Lipid. Res.*, 1988, 15, 587-601.
- Moro C. *et al.*, Atrial natriuretic peptide contributes to physiological control of lipid mobilization in humans. *Faseb J.*, 2004, 7, 908-910.
- Olswang Y. *et al.*, A mutation in the peroxisome proliferator-activated receptor γ -binding site in the gene for the cytosolic form of phosphoenolpyruvate carboxykinase reduces adipose tissue size and fat content in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, 2, 625-630.
- Osuga J. *et al.*, Targeted disruption of hormone-sensitive lipase results in male sterility and adipocyte hypertrophy, but not in obesity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, 97, 787-792.
- Puigserver P. *et al.*, A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell*, 1998, 6, 829-839.
- Reshef L. *et al.*, Glyceroneogenesis and the Triglyceride/Fatty Acid Cycle. *J. Biol. Chem.*, 2003, 278, 30413-30416.
- Ricquier D. & Bouillaud F., Mitochondrial uncoupling proteins: from mitochondria to the regulation of energy balance. *J. Physiol.*, 2000, 529, 3-10.
- Ruan H. & Pownall H. J., Overexpression of 1-acyl-glycerol-3-phosphate acyltransferase- α enhances lipid storage in cellular models of adipose tissue and skeletal muscle. *Diabetes*, 2001, 2, 233-240.
- Sengenès C. *et al.*, Natriuretic peptides: a new lipolytic pathway in human adipocytes. *FASEB J.*, 2000, 14, 1345-1351.
- Sengenès C. *et al.*, Natriuretic peptide-dependent lipolysis in fat cells is a primate specificity. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2002, 1, R257-R265.
- Stich V. *et al.*, Activation of α_2 -adrenergic receptors impairs exercise-induced lipolysis in SCAT of obese subjects. *Am. J. Physiol.*, 2000, 279, 499-504.
- Stich V. *et al.*, Activation of antilipolytic α_2 -adrenergic receptors by epinephrine during exercise in human adipose tissue. *Am. J. Physiol.*, 1999, 277, R1076-R1083.
- Tan G. D. *et al.*, A "futile cycle" induced by thiazolidinediones in human adipose tissue? *Nat Med*, 2003, 7, 811-812; author reply 812.
- Tansey J. T. *et al.*, Perilipin ablation results in a lean mouse with aberrant adipocyte lipolysis, enhanced leptin production, and resistance to diet-induced obesity. *PNAS*, 2001, 98, 6494-6499.
- Tavernier G. *et al.*, Norepinephrine induces lipolysis in $\beta_1/\beta_2/\beta_3$ -adrenoceptor knockout mice. *Mol. Pharmacol.*, 2005, 68, 793-799.
- Tiraby C. & Langin D., Conversion from white to brown adipocytes: a strategy for the control of fat mass? *Trends Endocrinol. Metab.*, 2003, 10, 439-441.
- Tiraby C. & Langin D., PGC-1 α , a transcriptional coactivator involved in metabolism. *Med. Sci. (Paris)*, 2005, 1, 49-54.
- Tiraby C. *et al.*, Acquisition of brown fat cell features by human white adipocytes. *J. Biol. Chem.*, 2003, 278, 33370-33376.
- Tordjman J. *et al.*, Thiazolidinediones block fatty acid release by inducing glyceroneogenesis in fat cells. *J. Biol. Chem.*, 2003, 278, 18785-18790.
- Viguerie N. *et al.*, Adipose tissue gene expression in obese subjects during low-fat and high-fat hypocaloric diets. *Diabetologia*, 2005, 1, 123-131.
- Villena J. A. *et al.*, Desnutrin, an adipocyte gene encoding a novel patatin domain-containing protein, is induced by fasting and glucocorticoids: ectopic expression of desnutrin increases triglyceride hydrolysis. *J. Biol. Chem.*, 2004, 279, 47066-47075.
- Weyer C. *et al.*, Increase in insulin action and fat oxidation after treatment with CL 316,243, a highly selective β_3 -adrenoceptor agonist in humans. *Diabetes*, 1998, 47, 1555-1561.
- Zimmermann R. *et al.*, Decreased fatty acid esterification compensates for the reduced lipolytic activity in hormone-sensitive lipase-deficient white adipose tissue. *J. Lipid. Res.*, 2003, 11, 2089-2099.
- Zimmermann R. *et al.*, Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase. *Science*, 2004, 304, 1383-1386.