

## COURRIER



## Le poids des faits : réponse

La lettre de France Piétri-Rouxel et A. Donny Strosberg mentionne que des erreurs se seraient glissées dans notre article [1]. Nous remercions les auteurs de l'intérêt qu'ils portent à ce travail. Cependant, aucun des points soulevés ne nous semble remettre en cause les conclusions présentées. Nos réponses sont les suivantes.

1. Le premier point concerne le CL316243, un agoniste  $\beta_3$ -adrénergique qui présente une très bonne affinité pour le récepteur des rongeurs. Ce composé, selon les auteurs et contrairement à ce que nous indiquons, ne perdrait pas sa spécificité à fortes concentrations et n'agirait jamais en activant les récepteurs  $\beta_1$ - et  $\beta_2$ -adrénergiques. Dans les adipocytes humains, nous avons montré que le CL316243 n'est lipolytique qu'à fortes concentrations ( $\geq 10^{-5}$  M) [2], résultat qui a été confirmé récemment par un autre groupe [3]. Le faible effet lipolytique du CL316343 est bloqué par des antagonistes  $\beta_1$ - et  $\beta_2$ -adrénergiques tels que le nadolol et le propranolol [2, 3] avec une valeur de  $pA_2$  (un index du pouvoir bloquant) pour le propranolol en accord avec un blocage des sous-types  $\beta_1$ - et  $\beta_2$ -adrénergiques [3].

2. La deuxième remarque porte sur la comparaison des profils de réponses pharmacologiques dans différents tissus. Cette approche, qui a certes ses limites, est à la base de la plupart des études pharmacologiques

conduites depuis le début du siècle. Le profil de réponse aux agonistes  $\beta_3$ -adrénergiques est très comparable pour l'activité adénylyl cyclase dans des cellules CHO exprimant le récepteur  $\beta_3$ -adrénergique recombinant de rat et pour la réponse lipolytique des adipocytes de rat. Il n'en est pas de même pour le récepteur  $\beta_3$ -adrénergique humain dont le profil pharmacologique diverge entre la protéine recombinante et le récepteur endogène des adipocytes. Cette différence, entre autres arguments, nous a conduit à nous interroger sur l'importance et la nature d'une réponse de type  $\beta_3$ -adrénergique dans l'adipocyte humain [1].

3. Le troisième point concerne le couplage du récepteur  $\beta_3$ -adrénergique aux protéines G. Dans le ventricule humain, nous avons suggéré que les récepteurs  $\beta_3$ -adrénergiques étaient couplés à des protéines Gi/o [4]. Ce couplage ne semble pas exceptionnel pour ces récepteurs car, comme le souligne Piétri-Rouxel et Strosberg, un tel couplage a déjà été décrit dans les adipocytes de rat [5] mais également dans des préparations membranaires d'adipocytes de souris normales et obèses [6]. Ces études montrent un couplage du récepteur à la fois à Gs et Gi. Dans le tissu cardiaque, un couplage à Gs et Gi a été décrit pour le récepteur  $\beta_2$ -adrénergique du ventricule de rat, l'effet de la stimulation de Gi n'étant démasqué qu'après stimulation préa-

lable de l'adénylyl cyclase [7]. La réduction de la force contractile liée à la stimulation des récepteurs  $\beta_2$ -adrénergiques couplés à Gi ne s'accompagne pas d'une modification du taux intracellulaire d'AMP cyclique [8]. Le récepteur  $\beta_3$ -adrénergique cardiaque de l'homme est couplé à Gi comme en atteste l'abolition de l'effet inotrope négatif par la toxine pertussique [4]. De plus, les agonistes  $\beta_3$ -adrénergiques ne modifient pas la concentration d'AMP cyclique intracellulaire tandis que l'isoprénaline l'augmente significativement (résultats non publiés). Par ailleurs, Piétri-Rouxel et Strosberg écrivent que les effets des agonistes  $\beta_3$ -adrénergiques que nous avons observés dans le ventricule humain iraient à l'encontre de très nombreuses études. La plupart des travaux publiés concernent les récepteurs  $\beta_1$ - et  $\beta_2$ -adrénergiques. Nous ne contestons pas les résultats importants acquis en ce domaine. A l'inverse, les études réalisées sur le récepteur  $\beta_3$ -adrénergique cardiaque sont, jusqu'à présent, peu nombreuses. Le premier article de Kaumann [9] cité par les auteurs porte sur les effets du CGP12177, un agoniste partiel des récepteurs  $\beta_3$ -adrénergiques, sur l'oreillette humaine. Nous avons confirmé le faible effet inotrope négatif du CGP12177 sur ce tissu. Cette observation suggère qu'il existe des différences quantitatives de réponse inotrope négative entre

l'étage auriculaire et l'étage ventriculaire. Le second article de Kaumann auquel il est fait référence [10], a été réalisé sur l'oreillette de rat et ne concerne pas le récepteur  $\beta_3$ -adrénergique mais un nouveau sous-type de récepteur  $\beta$ -adrénergique dont la pharmacologie est distincte de celle du récepteur  $\beta_3$ -adrénergique du côlon de rat.

4. La dernière remarque concerne l'organisation du gène du récepteur  $\beta_3$ -adrénergique humain. Piétri-Rouxel et Strosberg écrivent que le gène du récepteur  $\beta_3$ -adrénergique humain comprendrait deux exons et non pas trois. Dans une des références [11] citées par les auteurs, l'équipe de Daniel Caput a montré que la séquence génomique de l'homme comporte les déterminants moléculaires (sites d'épissage) de trois exons qui peuvent potentiellement coder pour trois protéines différentes. La forme majoritaire des ARNm correspondant au premier et au troisième exons code pour une protéine de 408 acides aminés. Une seconde forme utilisant le premier et le second exon est également présente dans le côlon et le tissu adipeux brun humains (Daniel Caput, Sanofi Recherches, communication personnelle). Cette forme code pour une protéine qui diffère de la précédente dans sa partie COOH-terminale. Les rares études effectuées sur des tissus humains n'ont pas montré, à ce jour, l'existence d'une forme ne correspondant qu'au premier exon. Par ailleurs, Piétri-Rouxel et Strosberg pensent que la démonstration moléculaire d'un récepteur  $\beta_3$ -adrénergique cardiaque chez l'homme n'a pas été apportée par notre travail [4]. La technique que nous avons employée a également été utilisée par le groupe de Donny Strosberg pour la caractérisation moléculaire du récepteur  $\beta_3$ -adrénergique d'autres tissus humains [12]. De plus, l'absence de détection d'ARNm codant pour la lipase hormono-sensible nous a permis de nous assurer que les échantillons myocardiques n'étaient pas contaminés par des adipocytes bruns ou blancs. Concernant les effets des catécholamines endogènes sur le récepteur  $\beta_3$ -adrénergique cardiaque, nous avons montré

que la noradrénaline en présence de nadolol produit un effet inotrope négatif [4]. Dans nos conditions expérimentales, l'affinité de la noradrénaline pour le récepteur  $\beta_3$ -adrénergique est plus faible que pour le récepteur  $\beta_1$ -adrénergique, résultats analogues à ceux obtenus sur d'autres tissus [13].

En conclusion, nous ne pensons pas que les efforts de correction et de clarification qu'ont voulu apporter Piétri-Rouxel et Strosberg modifient les conclusions de notre revue [1]. La découverte, chez l'homme, d'un récepteur  $\beta_3$ -adrénergique cardiaque dont la stimulation induit des effets opposés à la stimulation des récepteurs  $\beta_1$ - et  $\beta_2$ -adrénergiques ouvre de nouvelles perspectives de recherche inattendues en cardiologie. Comme le soulignent Bond et Lefkowitz dans leur éditorial du *J Clin Invest* [14], le récepteur  $\beta_3$ -adrénergique cardiaque pourrait être impliqué dans certaines affections telles que l'insuffisance cardiaque pour laquelle de nombreux points obscurs demeurent ■

## RÉFÉRENCES

- Langin D, Gauthier C. Le récepteur  $\beta_3$ -adrénergique humain : le cœur et la raison. *Med Sci* 1996; 11: 1253-6.
- Tavernier G, Barbe P, Galitzky J, Berlan M, Caput D, Lafontan M, Langin D. Expression of  $\beta_3$ -adrenoceptors with low lipolytic action in human subcutaneous white adipocytes. *J Lipid Res* 1996; 37: 87-97.
- Umekawa T, Yoshida T, Sakane N, Kondo M. Effect of CL316243, a highly specific  $\beta_3$ -adrenoceptor agonist, on lipolysis of human and rat adipocytes. *Horm Metab Res* 1996; 28: 394-6.
- Gauthier C, Tavernier G, Charpentier F, Langin D, Le Marec H. Functional  $\beta_3$ -adrenoceptor in the human heart. *J Clin Invest* 1996; 98: 556-62.
- Chaudhry A, MacKenzie RG, Georgic LM, Grannemann JG. Differential interaction of  $\beta_1$ - and  $\beta_3$ -adrenergic receptors with Gi in rat adipocytes. *Cell Signal* 1994; 6: 457-65.
- Bégin-Heick N.  $\beta_3$ -adrenergic activation of adenylyl cyclase in mouse white adipocytes: modulation by GTP and effect of obesity. *J Cell Biochem* 1995; 58: 464-73.
- Xiao RP, Ji XW, Lakatta EG. Functional coupling of the  $\beta_3$ -adrenoceptor to a pertussis toxin-sensitive G protein in cardiac myocytes. *Mol Pharmacol* 1995; 47: 322-9.

## RÉFÉRENCES

- Xiao RP, Ji XW, Hohl C, Altschuld R, Lakatta EG. Coupling of pertussis toxin-sensitive G protein to  $\beta_2$ -adrenoceptor dissociates cAMP and contractile responses. *Circulation* 1996; 94 (suppl 1): 146.
- Kaumann AJ. (-)-CGP 12177-induced increase of human atrial contraction through a putative third  $\beta$ -adrenoceptor. *Br J Pharmacol* 1996; 117: 93-8.
- Kaumann AJ, Molenaar P. Differences between the third cardiac  $\beta$ -adrenoceptor and the colonic  $\beta_3$ -adrenoceptor in the rat. *Br J Pharmacol* 1996; 118: 2085-98.
- Lelias JM, Kaghad M, Rodriguez M, Chalton P, Bonnin J, Dupre I, Delpech B, Bensaïd M, LeFur G, Ferrara P, Caput D. Molecular cloning of a human  $\beta_3$ -adrenergic receptor cDNA. *FEBS Lett* 1993; 324: 127-30.
- Krief S, Lönnqvist F, Raimbault S, Baude B, Spronsen AV, Arner P, Strosberg AD, Ricquier D, Emorine LJ. Tissue distribution of  $\beta_3$ -adrenergic receptor mRNA in man. *J Clin Invest* 1993; 91: 344-9.
- Lafontan M. Differential recruitment and differential regulation by physiological amines of fat cell  $\beta_1$ -,  $\beta_2$ - and  $\beta_3$ -adrenergic receptors expressed in native fat cells and in transfected cells. *Cell Signal* 1994; 6: 363-92.
- Bond RA, Lefkowitz RJ. The third beta is not the charm. *J Clin Invest* 1996; 98: 241

### Dominique Langin

Inserm U. 317, Institut Louis-Bugnard, faculté de médecine, université Paul-Sabatier, hôpital Rangueil, 31403 Toulouse Cedex 4, France.

### Chantal Gauthier

Laboratoire de physiopathologie et pharmacologie cellulaires et moléculaires, Inserm C/JF 96-01, hôpital Laënnec et faculté des sciences et techniques, université de Nantes, 44035 Nantes Cedex, France.

**m/s ANNIVERSAIRE EN VIDÉO-CASSETTES**

**Les conférences de la journée du 10<sup>e</sup> anniversaire de médecine/sciences du 16 mars 1995 sont disponibles sur vidéo-cassettes auprès de :**

**ASSOCIATION DIFFUSION DES CONNAISSANCES**  
2, avenue Léon-Bernard,  
35043 Rennes Cedex, France.