

## Aspects physiologiques et physiopathologiques du contrôle de la lipolyse et de la mobilisation des lipides par les peptides natriurétiques

par Cédric Moro<sup>1,2,3</sup>, Michel Berlan<sup>1,2,3</sup>, Max Lafontan<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Inserm, U586, Unité de Recherche sur les Obésités, F-31432 Toulouse; <sup>2</sup>Université Paul Sabatier, Institut Louis Bugnard IFR31, F-31432 Toulouse; <sup>3</sup>Faculté de Médecine Purpan, Laboratoire de Pharmacologie Médicale et Clinique, F-31000 Toulouse.

Correspondance : moro@cict.fr

Reçu le 23 novembre 2005

### RÉSUMÉ

Nous avons montré que les peptides natriurétiques (PN) exercent un puissant effet lipolytique spécifiquement dans les adipocytes de l'Homme et des Primates. Au niveau cellulaire, leur effet implique la stimulation de récepteurs spécifiques des peptides natriurétiques de type A de la membrane plasmique, la production de GMPc et l'activation de la protéine kinase GMPc-dépendante  $I\alpha$ , médiateur de la phosphorylation de la lipase hormono-sensible et de la stimulation de la lipolyse. Une perfusion locale d'ANP (*Atrial Natriuretic Peptide*), *in situ* dans le tissu adipeux sous-cutané via une sonde de microdialyse, augmente la lipolyse et le flux sanguin local chez des sujets de poids normal. Cet effet est altéré chez des individus en surpoids et restauré par un entraînement en endurance. L'ANP stimule la mobilisation des lipides au cours d'exercices d'endurance. L'administration d'un  $\beta$ -bloquant avant l'exercice potentialise paradoxalement cet effet en rai-

son d'une majoration des niveaux circulants d'ANP. Aucune différence sexuelle dans la réponse lipolytique de l'ANP n'a été observée au cours d'un exercice. Une injection intraveineuse d'ANP à dose physiologique induit une mobilisation des lipides. Des concentrations plus fortes d'ANP, telles qu'observées au cours de l'insuffisance cardiaque, stimulent l'oxydation des lipides. L'insuffisance cardiaque s'accompagne d'une élévation chronique et soutenue des taux circulants de PN qui pourrait favoriser l'évolution vers la cachexie. Au contraire, une corrélation inverse entre les niveaux circulants de PN et l'indice de masse corporelle apparaît chez des sujets obèses. La base moléculaire de cette corrélation n'a pas été fonctionnellement démontrée. Des études complémentaires sont nécessaires pour évaluer clairement le rôle physiopathologique des PN dans l'obésité et l'insuffisance cardiaque.

### SUMMARY Physiological and pathophysiological features of the control of lipolysis and lipid mobilization by natriuretic peptides

We have demonstrated a potent and specific lipolytic effect of natriuretic peptides (NP) in human and primates' fat cells. The lipolytic effect of NP is mediated through intracellular production of cGMP and activation of the cGMP-dependent kinase  $I\alpha$ . Local infusion of atrial-NP (ANP), directly within the subcutaneous adipose tissue through a microdialysis catheter, increases lipolysis and stimulates blood flow through its vasodilating effect in lean healthy men. This effect is blunted in overweight men and can be recovered by endurance training. Intravenous infusion of physiological doses of ANP induces lipid mobilization. Higher concentrations of ANP that are encountered during heart failure also stimulate lipid oxidation. ANP activates lipolysis and free fatty acids release

from adipose tissue during endurance exercise. This effect is paradoxically amplified when exercise is performed under  $\beta$ -blockade treatment, because of an enhanced cardiac release of ANP. No gender differences in ANP-induced lipid mobilization during exercise have been found. Heart failure is associated with high circulating levels of NP that could participate to the progression toward cachexia. On contrary, a negative correlation between NP levels and body mass index is found in obese persons. The molecular basis of this inverse correlation is not yet demonstrated from a functional standpoint. Further studies are needed to clearly define the pathophysiological role of NP in obesity and heart failure.

## INTRODUCTION

Le tissu adipeux blanc constitue chez l'Homme une source d'énergie majeure et quasi-inépuisable. La proportion de tissu adipeux est variable d'un individu à l'autre suivant l'âge, le sexe et le niveau d'entraînement. Sa fonction principale consiste à ajuster la biodisponibilité des acides gras circulants selon l'état nutritionnel. Les lipides ingérés au cours des repas sont transportés par les chylomicrons jusqu'au tissu adipeux dans lequel les acides gras issus de l'hydrolyse des triglycérides (TG) par la lipoprotéine lipase (LPL) seront stockés sous forme de triglycérides. L'hydrolyse des triglycérides contenus dans le tissu adipeux, *i.e.* la lipolyse, est une étape clé de la mobilisation des lipides. La lipolyse constitue un processus physiologique essentiel dans l'approvisionnement des tissus oxydatifs en énergie. L'énergie est contenue dans les acides gras non estérifiés (AGNE) issus de la lipolyse et transportés par l'albumine dans le sang jusqu'aux organes cibles (muscle squelettique, cœur, foie et cortex rénal). La gestion des flux quotidiens d'AGNE implique plusieurs hormones. Les catécholamines et l'insuline ont longtemps été considérées comme les régulateurs physiologiques principaux de la lipolyse. Nous avons démontré le rôle lipolytique des peptides natriurétiques (PN), Atrial Natriuretic Peptide (ANP) et Brain Natriuretic Peptide (BNP), chez l'Homme. La découverte de cette propriété insolite des PN, initialement connus pour leur action cardiovasculaire et rénale, offre de nouvelles perspectives en physiologie et physiopathologie cardiovasculaire. Dans cette revue nous développerons les aspects moléculaires et intégrés de l'effet lipolytique des PN chez l'homme de poids normal et en surpoids.

## RÉGULATION NEURO-HUMORALE DE LA LIPOLYSE

Le contrôle de la lipolyse est attribué de longue date à l'activation de la lipase hormono-sensible (LHS) de l'adipocyte, responsable de la dégradation des triglycérides en AGNE et glycérol, par les voies hormonales contrôlant la production d'AMP cyclique (AMPc). Les taux intracellulaires d'AMPc sont notamment régulés par les catécholamines, l'insuline et divers autres facteurs et hormones (Fig. 1). L'adrénaline et la noradrénaline recrutent de manière différentielle des récepteurs  $\beta_{1,2,3}$ -adrénergiques ( $\beta$ -RA) stimulateurs et des récepteurs  $\alpha_2$ -adrénergiques ( $\alpha_2$ -RA) inhibiteurs de la lipolyse, suivant leur niveau d'expression et la concentration locale des catécholamines dans le tissu adipeux (Lafontan *et al.*, 1995). Bien que très actif dans l'adipocyte de rongeur, le récepteur  $\beta_3$  a un rôle limité chez l'Homme (Tavernier *et al.*, 1996). L'adrénaline possède une meilleure affinité pour les  $\alpha_2$ -RA que pour les  $\beta$ -RA et exerce un effet antilipolytique dans les adipocytes sous-cutanés hypertrophiés où les  $\alpha_2$ -RA sont très majoritaires (Lafontan & Berlan, 1985). A l'inverse, les adipocytes viscéraux sont

très sensibles aux catécholamines et possèdent peu d' $\alpha_2$ -RA. Ainsi, les réponses lipolytiques des différents dépôts adipeux sont tributaires de la distribution hétérogène des récepteurs adrénergiques (Lafontan & Berlan, 2003). L'insuline, puissante hormone antilipolytique, stimule le catabolisme de l'AMPc en activant une phosphodiesterase de type-3B (PDE-3B) abondante dans le tissu adipeux (Degerman *et al.*, 1990). L'activité antilipolytique de l'insuline est plus forte dans le tissu adipeux sous-cutané que dans le tissu adipeux viscéral (Zierath *et al.*, 1998).

Plusieurs autres facteurs comme l'hormone de croissance, le cortisol, l'hormone parathyroïdienne, l'hormone thyroïdienne T3, le facteur de nécrose tumorale (TNF- $\alpha$ ) ou l'interleukine-6 (IL-6) sont décrits pour stimuler la lipolyse *in vitro* chez l'Homme. Toutefois le rôle physiologique de ces facteurs dans le contrôle aigu de la lipolyse au cours d'un exercice physique n'est pas clairement démontré (Stich & Berlan, 2004).

## BIOLOGIE DES PEPTIDES NATRIURÉTIQUES ET DE LEURS RÉCEPTEURS

De Bold et coll. démontrent en 1981 la présence d'un facteur, contenu dans les granules de l'atrium cardiaque, capable d'inhiber puissamment la réabsorption tubulaire de  $\text{Na}^+$  (de Bold *et al.*, 1981). Cette observation conduit par la suite à la purification et au clonage du gène codant pour le peptide atrial natriurétique (ANP), premier membre de la famille des peptides possédant des activités natriurétiques, diurétiques et vasorelaxantes. La famille des PN comprend quatre membres à ce jour: l'*atrial natriuretic peptide* (ANP), le *brain NP* (BNP), le *C-type NP* (CNP) et le *dendroaspis NP* (DNP) (Pandey, 2005). L'ANP est synthétisé par les cardiomyocytes de l'oreillette droite et sécrété en réponse à une hausse de la pression de remplissage auriculaire. Même si l'étirement mécanique de l'atrium reste le principal stimulus physiologique de la sécrétion d'ANP, plusieurs agents vasoconstricteurs induisent indirectement la sécrétion d'ANP par augmentation de la pré-charge ou de la post-charge cardiaque (Dietz, 2005). Le BNP, originellement identifié dans le cerveau, est majoritairement exprimé par les cardiomyocytes ventriculaires cardiaques. Les concentrations physiologiques de BNP sont faibles, elles augmentent avec l'âge et sont plus élevées chez la femme (Wang *et al.*, 2002).

Les effets cellulaires des PN sont induits par un second messenger intracellulaire, le GMPc, produit par l'activation de récepteurs transmembranaires possédant une activité guanylyl cyclase dans leur portion intracytoplasmique. Le récepteur au PN de type A (NPR-A pour natriuretic peptide receptor-A) est considéré comme le principal récepteur de l'ANP et du BNP. Le CNP recrute préférentiellement le récepteur de type B (NPR-B) (Kuhn, 2003, 2004 ; Pandey, 2005). L'activité de ces récepteurs possédant un seul domaine transmembranaire dépend de leur état de phosphorylation. Ils se désensibilisent par

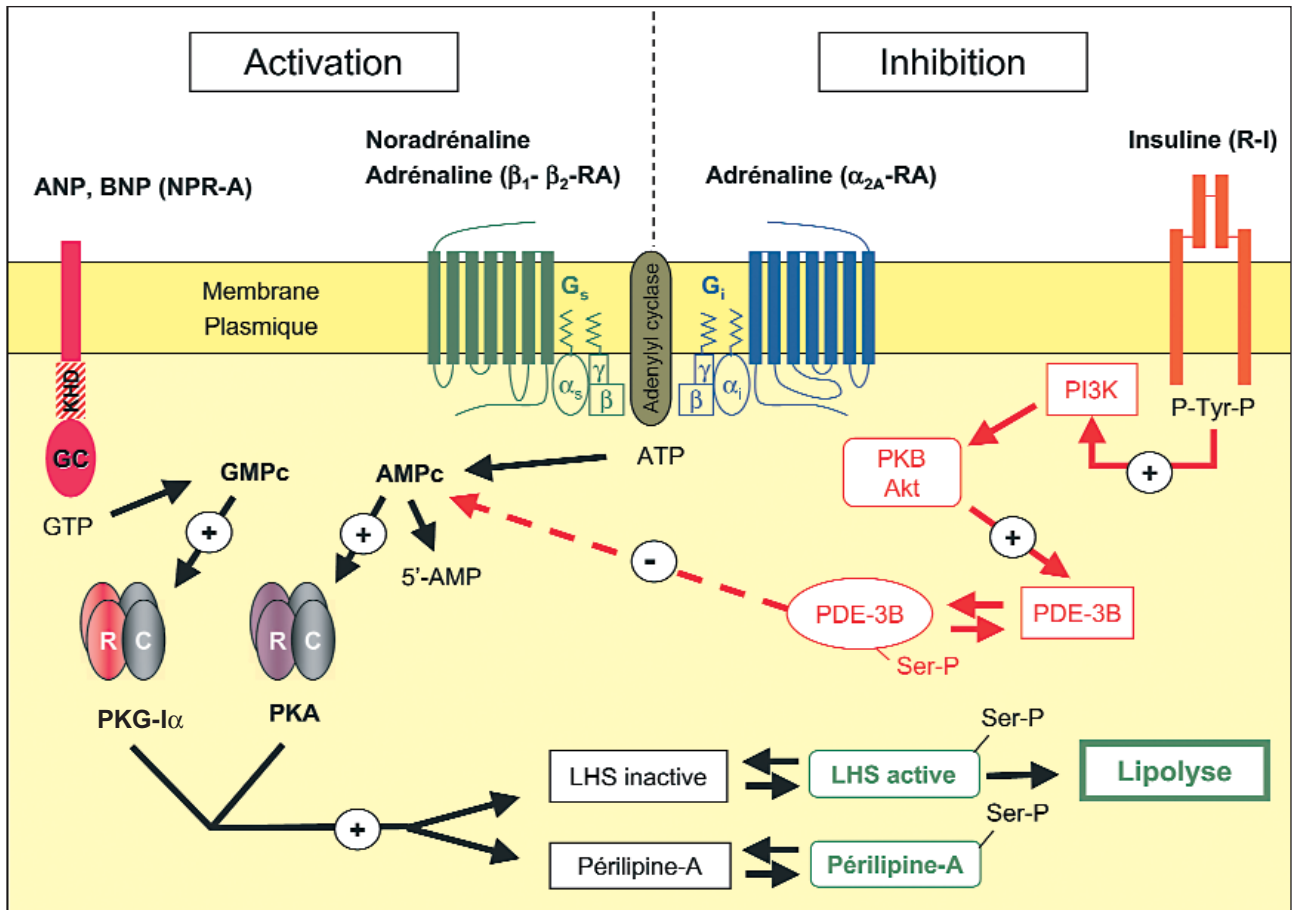


FIG. 1. – Régulation neuro-humorale de la lipolyse chez l'Homme. Les catécholamines activent les récepteurs  $\alpha_{2A}$ -adrénergiques ( $\alpha_{2A}$ -RA) et  $\beta_{1,2}$ -adrénergiques ( $\beta_{1,2}$ -RA) modulant négativement et positivement l'activité de l'adénylyl-cyclase (AC) respectivement. L'AC produit de l'AMPc qui va activer une protéine kinase dépendante de l'AMPc (PKA). L'insuline possède une action antilipolytique. Son mécanisme d'action implique la phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K), la protéine kinase B (PKB/Akt) et la phosphodiesterase-3B (PDE-3B) qui dégrade l'AMPc en 5'-AMP. L'ANP et le BNP stimulent le NPR-A dont l'activité guanylyl cyclase (GC) génère du GMPc. Le GMPc stimule une protéine kinase dépendante du GMPc (PKG-I $\alpha$ ). La PKA et la PKG-I $\alpha$  activent par phosphorylation les périlipines et la LHS, enzyme assurant l'étape finale de la lipolyse.

déphosphorylation en réponse aux PN (Potter & Garbers, 1992) ou à différents vasoconstricteurs (angiotensine-II, vasopressine, endothéline) (Potter & Garbers, 1994). Le GMPc produit par l'activation des récepteurs NPR-A et NPR-B module l'activité de différents éléments à l'intérieur de la cellule, des protéines kinases GMPc-dépendantes (PKG), des phosphodiéstrases (PDE) et des canaux ioniques. La PKG-I constitue le principal médiateur des effets cellulaires des PN. Des souris génétiquement déficientes en PKG-I développent une hypertension sévère précocement après la naissance, une dysfonction érectile, une sténose pylorique accompagnée de troubles du péristaltisme intestinal (Pfeifer *et al.*, 1998). Les niveaux intracellulaires de GMPc sont soumis à une régulation fine par des PDE spécifiques. De nombreuses PDE ont été identifiées, la PDE-5 joue un rôle critique dans l'ajustement des niveaux de GMPc et du signal intracellulaire au niveau des cellules musculaires lisses des vaisseaux et des plaquettes. Cette

enzyme est rapidement activée en réponse au monoxyde d'azote (NO) ou à l'ANP (Wyatt *et al.*, 1998; Mullershausen *et al.*, 2001). L'activation de la PDE-5 représente un mécanisme physiologique de rétrocontrôle de la durée et de l'amplitude du signal intra-cellulaire. Un troisième récepteur, NPR-C ou récepteur de clairance, internalise et dégrade les PN circulants. Il module les concentrations plasmatiques et intra-tissulaires de PN, et possède une affinité équivalente pour les différents peptides (Matsukawa *et al.*, 1999). L'inactivation des PN circulants implique aussi une enzyme, la néprilysine ou endopeptidase neutre (NEP ou EC 3.4.24.11), métallopeptidase largement exprimée au niveau vasculaire. L'affinité plus faible du BNP pour cette enzyme explique la plus grande stabilité et demi-vie du peptide comparativement à l'ANP (Smith *et al.*, 2000).

Les fonctions physiologiques du système ANP/NPR-A ont été décrites dans divers tissus et types cellulaires (Fig. 2). L'ANP facilite l'excrétion urinaire de Na<sup>+</sup> et

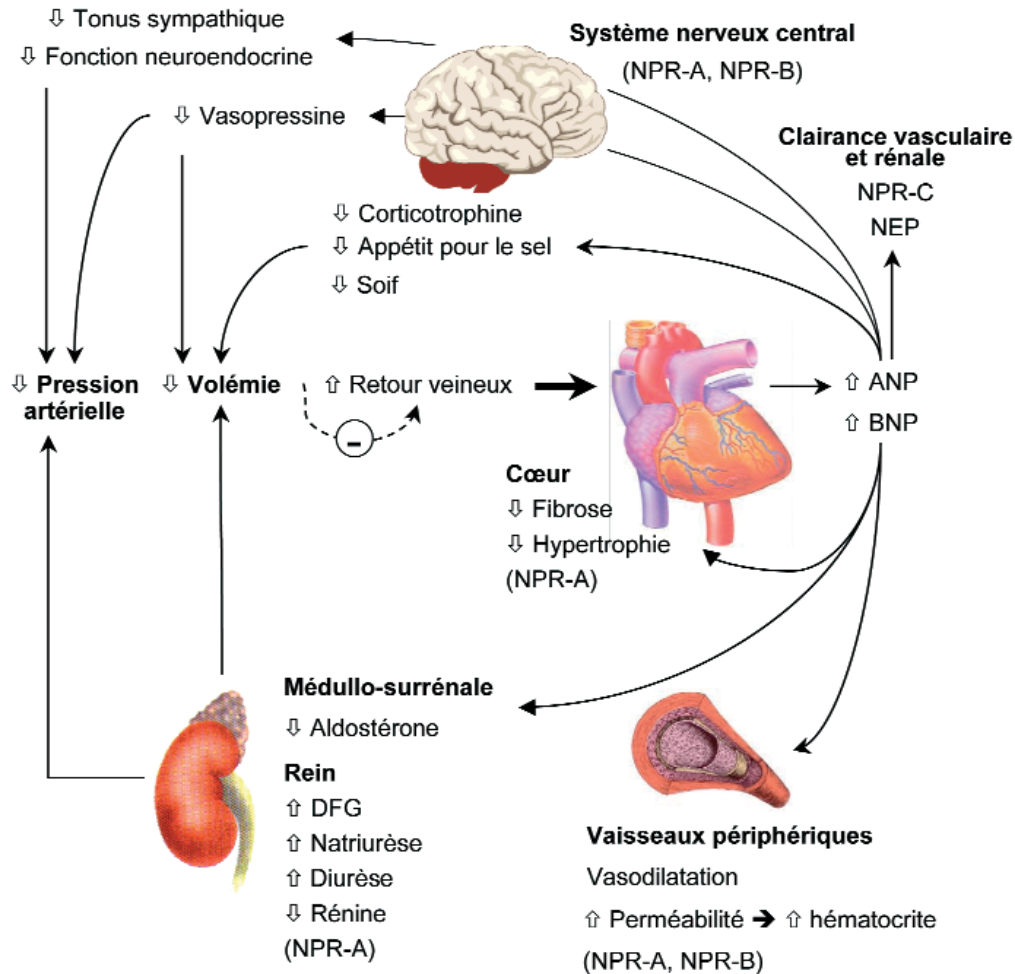


FIG. 2. – Fonctions physiologiques des peptides natriurétiques libérés par le cœur en réponse à une augmentation du retour veineux et de la pré-charge cardiaque.

d'eau en augmentant le débit de filtration glomérulaire (Brenner *et al.*, 1990). Son effet natriurétique s'exprime aussi par antagonisme des effets de l'angiotensine II et de l'aldostérone. L'ANP inhibe également la sécrétion de rénine par les cellules de l'appareil juxta-glomérulaire, ainsi que la sécrétion basale et stimulée d'aldostérone par les corticosurrénales (Levin *et al.*, 1998). Des études récentes sur des modèles animaux ont permis de définir le rôle du système ANP/NPR-A dans l'homéostasie du tissu cardiaque. Une hypertension sévère associée à une hypertrophie cardiaque et à une augmentation du risque de mort subite est observée chez des souris déficientes en NPR-A (Lopez *et al.*, 1995). Une inactivation ciblée du gène codant pour ce récepteur, spécifiquement dans les cardiomyocytes, induit un phénotype similaire avec une hypertension résistante aux traitements anti-hypertenseurs usuels (Holtwick *et al.*, 2003). Ces études démontrent le rôle fondamental du système ANP/NPR-A dans la régulation du phénotype cardiaque, *via* des effets paracrines anti-fibrotique et anti-hypertrophique.

## LES PEPTIDES NATRIURÉTIQUES ET LE TISSU ADIPEUX

Un lien plausible entre le niveau d'expansion du tissu adipeux et les niveaux circulants d'ANP était déjà suspecté depuis une quinzaine d'années. Un régime hypocalorique de 15 semaines induit une hausse de 42 % des niveaux circulants d'ANP dans un modèle d'obésité nutritionnelle chez le Rat (Crandall *et al.*, 1989). Cette perte de poids s'accompagne d'une stimulation de la diurèse et de la natriurèse. Une équipe avait également noté que l'administration d'une dose massive d'ANP chez l'Homme provoquait une augmentation des taux d'AGNE plasmatiques qui avait été attribuée à une activation du sympathique (Uelinger, 1986). Plus tard, la présence de récepteurs fonctionnels aux PN est décrite dans le tissu adipeux brun de rat. Un rôle de l'ANP dans le contrôle de la thermogenèse est proposé mais aucun effet sur la lipolyse n'est mis en évidence (Okamura *et al.*, 1988). Quelques années plus tard, Sarzani *et al.* rap-

portent la présence d'ARNm codant pour les NPR-A et NPR-C dans le tissu adipeux humain (Sarvani *et al.*, 1996).

### SIGNALISATION INTRACELLULAIRE DES PEPTIDES NATRIURÉTIQUES DANS L'ADIPOCYTE

Nous avons montré que l'ANP, le BNP et le DNP stimulent puissamment la lipolyse *in vitro* (Sengenès *et al.*, 2000; Moro *et al.*, 2004b). L'ANP induit un effet lipolytique maximal comparable à celui de l'isoprénaline mais avec une efficacité dix fois supérieure. Il possède également une efficacité lipolytique supérieure à celle du BNP avec une CE50 (concentration efficace 50) proche de la nmole/L. Le CNP est très faiblement lipolytique en raison d'une faible quantité de récepteur de type NPR-B, pour lesquels il a le plus d'affinité (Sengenès *et al.*, 2000). L'ordre de potentialité de stimulation de la lipolyse par ces peptides est le suivant : DNP > ANP > BNP >> CNP (Moro *et al.*, 2004b). Chez l'Homme, les PN recrutent un récepteur à activité guanylyl cyclase intrinsèque de type NPR-A ancré dans la membrane des adipocytes. Lorsque le NPR-A est stimulé, la guanylyl cyclase s'active et produit du GMPc, second messager du signal intracellulaire, à partir de GTP. Les concentrations intracellulaires de GMPc augmentent très rapidement et fortement en 5 minutes (Moro *et al.*, 2004b). Les niveaux intracellulaires de GMPc sont régulés par une phosphodiesterase de type 5A (PDE-5A) exprimée dans l'adipocyte. Le blocage de l'activité PDE-5A par du sildenafil potentialise la production de GMPc en réponse à l'ANP sans affecter notablement la lipolyse (Moro *et al.*, données personnelles). Le GMPc formé stimule ensuite une protéine kinase dépendante du GMPc (PKG- $\alpha$ ) (Fig. 1). Cette kinase phosphoryle les périlipines et la LHS (Sengenès *et al.*, 2003). La phosphorylation des périlipines facilite des remaniements dans la distribution de la périlipine à la surface de la gouttelette lipidique, et permet à la LHS d'accéder aux triglycérides. La LHS est activée par phosphorylation; les résidus impliqués n'ont pas encore été identifiés. Une autre lipase hydrolysant spécifiquement les TG, l'ATGL (*Adipocyte Triglyceride Lipase*) est présente dans l'adipocyte humain (Zimmermann *et al.*, 2004). Elle ne semble pas être impliquée dans la lipolyse induite par l'ANP. Par contre, les effets lipolytiques de PN sont totalement supprimés par un inhibiteur sélectif de la LHS. Ceci démontre que la LHS confère la totalité de l'effet lipolytique de l'ANP (Langin *et al.*, 2005). L'effet lipolytique des PN est limité aux adipocytes de primates. L'adipocyte des espèces non répondantes comme les Rongeurs, le Lapin et le Chien, exprime trop peu de NPR-A et sa stimulation génère trop peu de GMPc pour entraîner une lipolyse (Sengenès *et al.*, 2002b). Par contre, le tissu adipeux de ces espèces exprime abondamment le récepteur de clairance à l'ANP, le NPR-C, impliqué dans la dégradation des peptides.

### STIMULATION PHARMACOLOGIQUE DE LA MOBILISATION ET DE L'OXYDATION DES LIPIDES

La technique de microdialyse du tissu adipeux sous-cutané (TASC) abdominal nous a permis de montrer qu'une perfusion *in situ* de 10  $\mu$ mol/L d'ANP entraîne une vasodilatation et une lipolyse chez des sujets de poids normal (Sengenès *et al.*, 2000). Cette réponse lipolytique est nettement altérée chez des hommes en surpoids et restaurée presque entièrement après quatre mois d'entraînement en endurance (Fig. 3) (Moro *et al.*, 2005a). Les bases moléculaires de l'augmentation de sensibilité du tissu adipeux à l'ANP n'ont pas été étudiées. Cette adaptation à l'entraînement d'endurance pourrait dépendre d'une augmentation du nombre de récepteurs à l'ANP dans les adipocytes et/ou d'améliorations fonctionnelles à un niveau post-récepteur. De la même manière, l'action lipolytique de l'ANP est renforcée *in situ* et *in vitro* sur adipocytes isolés après un régime hypocalorique de 28 jours chez des femmes obèses (Sengenès *et al.*, 2002a). Cet effet pourrait provenir d'une réduction du nombre de récepteurs de clairance à l'ANP (NPR-C) largement exprimés par le tissu adipeux (Sarvani *et al.*, 1995).

Dans le but d'étudier les régulations physiologiques de la lipolyse et de la mobilisation des lipides au cours de l'exercice, il était nécessaire d'évaluer au préalable les interactions possibles de la voie des PN avec les voies adrénérgiques et insuliniques *in vivo*. Ainsi, un clamp hyperinsulinémique euglycémique réduit l'activité lipolytique de l'isoprénaline mais reste sans effet sur celle de l'ANP (Moro *et al.*, 2005c). *In vitro*, l'effet lipolytique de l'ANP est strictement indépendant des voies adrénérgiques ( $\alpha$ - et  $\beta$ -adrénérgiques) ainsi que des effets de l'insuline et des niveaux intracellulaires d'AMPc (Moro *et al.*, 2004b). Ces résultats importants définissent la voie ANP comme une voie originale de stimulation de la lipolyse, indépendante des principales hormones physiologiques contrôlant la lipolyse.

Lorsque l'ANP est perfusé par voie intraveineuse à une dose pharmacologique importante de 50  $\text{ng.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$  chez des sujets jeunes de poids normal, il induit une puissante mobilisation des lipides avec une forte augmentation des AGNE et du glycérol plasmatiques et localement dans le TASC. Cet effet est indépendant d'une activation réflexe du système nerveux sympathique (Galitzky *et al.*, 2001). L'administration de doses plus modérées d'ANP, mimant des variations physiologiques des taux plasmatiques du peptide, stimule la lipolyse dans le TASC, entraîne une augmentation notable des niveaux circulants d'AGNE ainsi que de leur oxydation (Birkenfeld *et al.*, 2005). Les mécanismes expliquant l'effet de l'ANP sur l'oxydation des acides gras restent à élucider. Ils pourraient dépendre d'une action directe de l'ANP sur le muscle (vasodilatation, transfert d'AGNE dans la mitochondrie ou  $\beta$ -oxydation) ou relever d'une action plus indirecte induite par la stimulation de la mobilisation des lipides. L'ANP n'induit pas de lipolyse dans le muscle squelettique fémoral mais provoque une

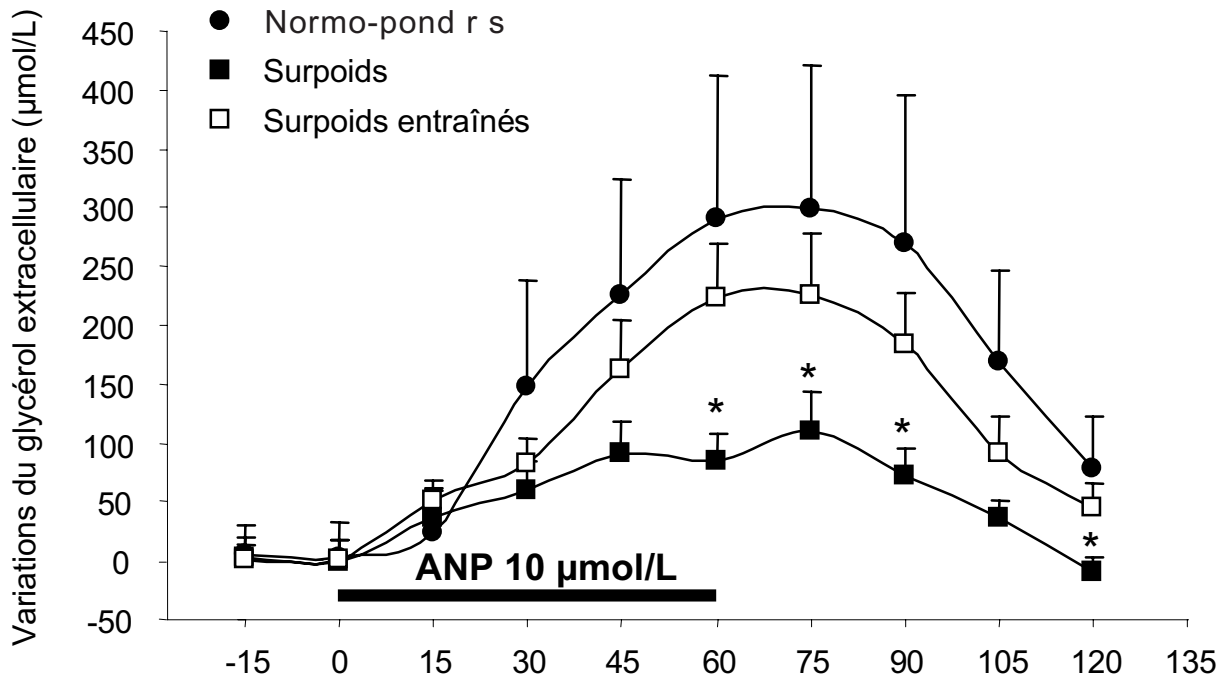


FIG. 3. – Comparaison de l'effet lipolytique de 10 µmol/L d'ANP, perfusé *in situ* dans le tissu adipeux sous-cutané abdominal, chez des sujets de poids normal, et en surpoids (Indice de masse corporelle, IMC = 28 kg.m<sup>-2</sup>) avant et après 4 mois d'entraînement aérobic. L'activité lipolytique est représentée par les variations du glycérol extracellulaire par rapport aux valeurs mesurées avant la perfusion.

\*  $p < 0,05$  quand on compare les surpoids avant et après entraînement.

stimulation de la glycolyse reflétée par une augmentation des concentrations intramusculaires de pyruvate. Finalement, l'administration *i.v.* d'ANP induit des changements complexes dans les métabolismes glucidique et lipidique dont la signification fonctionnelle reste à préciser.

### STIMULATION PHYSIOLOGIQUE DE LA MOBILISATION DES LIPIDES PENDANT L'EXERCICE PHYSIQUE

La mobilisation des lipides au cours d'un exercice aigu d'endurance était attribuée jusqu'à très récemment à l'activation du système nerveux sympathique et à l'augmentation des taux circulants de catécholamines associée à la baisse de l'insulinémie (Horowitz, 2003). Pour autant, ce type d'exercice induit une libération cardiaque d'ANP consécutive à l'augmentation du retour veineux et à la distension atriale (Berlin *et al.*, 1993). La perfusion locale d'une dose efficace de  $\beta$ -bloquant (propranolol) dans le TASC, *via* une sonde de microdialyse, ne réduit que partiellement la mobilisation lipidique induite par l'exercice. Plus intéressant, cette mobilisation lipidique non adrénérgique est majorée lors de l'administration d'un  $\beta$ -bloquant par voie orale 90 minutes avant l'exercice (Moro *et al.*, 2004a). En effet, une telle approche pharmacologique potentialise efficacement la libération cardiaque d'ANP pendant l'exercice physique et préserve une mobilisation lipidique bien que l'on soit

sous un traitement  $\beta$ -bloquant. Les corrélations existant entre les concentrations de glycérol extracellulaire qui témoignent de la lipolyse non adrénérgique, le GMPc extracellulaire (second messenger de la voie ANP) et les niveaux plasmatiques d'ANP pendant l'exercice, plaident en faveur d'une contribution majeure de l'ANP dans la stimulation de la mobilisation lipidique au cours de l'exercice. Le rôle d'autres régulateurs potentiels de la lipolyse comme l'hormone de croissance, le cortisol, l'interleukine-6, le TNF- $\alpha$ , ou l'hormone parathyroïdienne peut être exclu pour des exercices de courte durée (1 heure). En conclusion, les catécholamines, l'insuline et l'ANP sont les principaux régulateurs physiologiques de la mobilisation lipidique au cours d'un exercice aigu (Fig. 4).

Les effets cellulaires et le rôle de l'ANP étant établis, il était nécessaire de préciser la contribution relative des différentes hormones impliquées dans le contrôle de la mobilisation lipidique au cours d'un exercice aigu ou d'une répétition d'exercices. En effet, la mobilisation des lipides augmente au cours de deux exercices répétés à une heure d'intervalle (Stich *et al.*, 2000). Les mécanismes expliquant cette adaptation physiologique ne sont pas élucidés. Nous avons donc, dans un travail récent, tenté de discriminer la part de chaque hormone dans la régulation de la mobilisation des lipides au cours d'exercices répétés. Des hommes jeunes de poids normal ont pratiqué deux exercices d'endurance de 45 minutes (50 % de la consommation maximale d'oxygène, VO<sub>2max</sub>) sépa-

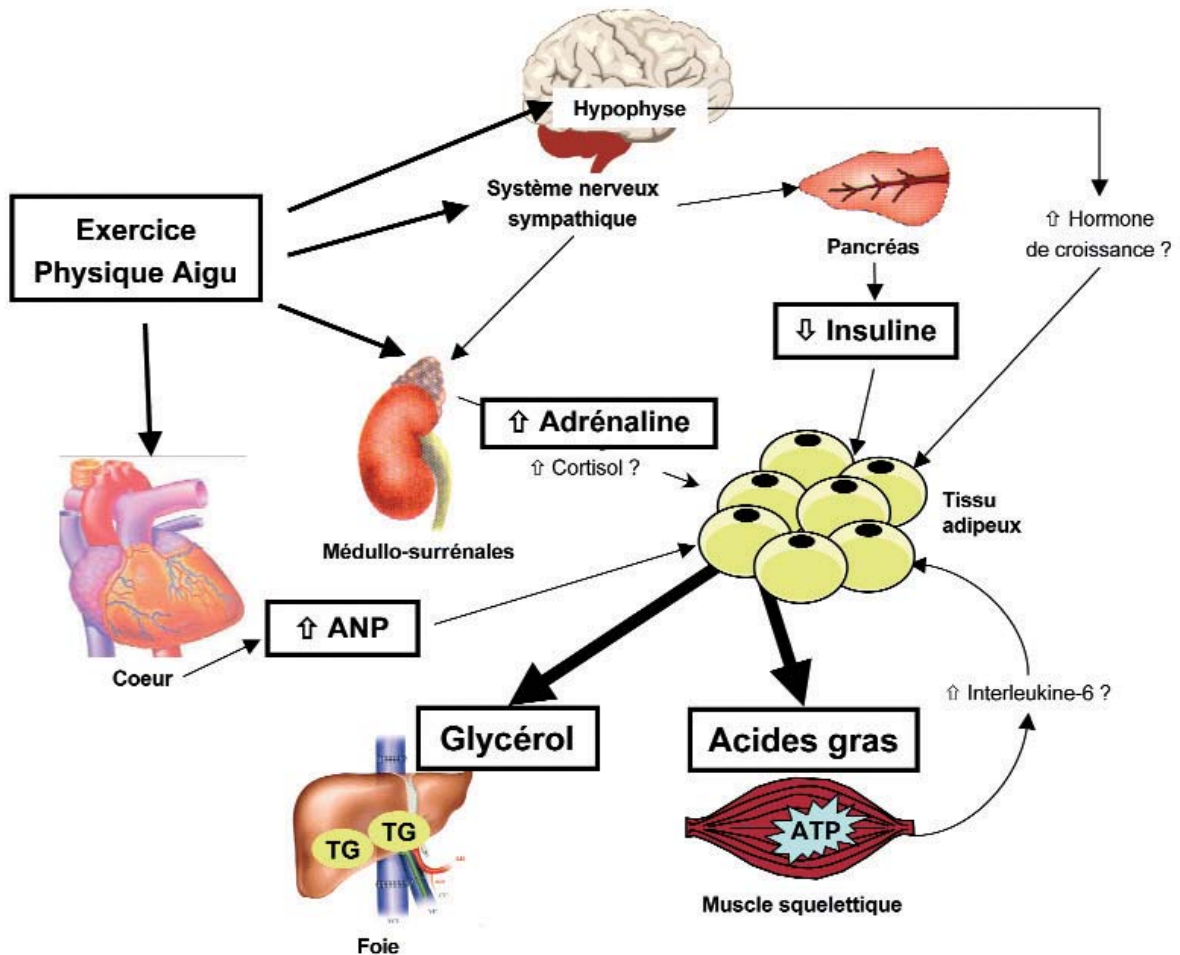


FIG. 4. – Principales adaptations neuro-endocrines impliquées dans la stimulation de la mobilisation des lipides au cours d'un exercice physique aigu.

rés d'une heure au cours et au décours d'un clamp insulino-euglycémique. Les réponses lipolytiques locales dans le TASC ont été évaluées par microdialyse en présence et en absence de  $\beta$ -bloquant (propranolol). Cette investigation a montré que l'insuline, les catécholamines et l'ANP participent également à l'activation de la lipolyse pendant le premier exercice. À l'inverse, les catécholamines ne contribuent pas au surplus de lipolyse observé au cours du deuxième exercice et plus de 50 % de la lipolyse est alors attribuable à l'ANP (Moro *et al.*, 2005b).

#### DIMORPHISME SEXUEL DE LA MOBILISATION ET DE L'OXYDATION LIPIDIQUE PENDANT L'EXERCICE

Comme nous l'avons vu précédemment, la régulation de la mobilisation lipidique pendant l'exercice est complexe. Elle fait intervenir séquentiellement différentes hormones suivant la durée et l'intensité à laquelle l'exer-

cice est pratiqué. Une fois que les graisses sont mobilisées par le tissu adipeux, elles vont être utilisées pour alimenter l'activité musculaire. La régulation de l'utilisation des lipides est aussi complexe et dépend de divers processus biochimiques. Elle est influencée par le niveau d'AGNE circulants, la quantité de fibres oxydatives du muscle squelettique, le nombre de capillaires par fibre musculaire, la quantité de mitochondries, l'équipement en transporteurs d'acides gras et en enzymes oxydatives (Jeukendrup *et al.*, 1998 ; Spriet, 2002).

Les femmes ont généralement un pourcentage de graisse supérieur aux hommes. Elles stockent davantage dans le territoire glutéal-fémoral tandis que les hommes stockent plus dans le territoire sous-cutané et viscéral abdominal. Les mécanismes responsables de cette différence sexuelle dans la distribution des graisses ne sont pas totalement élucidés (Blaak, 2001). Nous avons étudié la mobilisation (par microdialyse du tissu adipeux) et l'utilisation (par calorimétrie indirecte) des lipides chez 10 hommes et 10 femmes en surpoids pratiquant des exercices à différentes intensités (30, 50 et 70 % de la

VO<sub>2max</sub>). Les résultats montrent que les femmes mobilisent mieux les lipides sur la base des paramètres sanguins (AGNE et glycérol) que les hommes quelle que soit l'intensité de l'exercice. Cette caractéristique pourrait s'expliquer par la différence de masse grasse entre les deux sexes et/ou une plus grande sensibilité lipolytique chez la femme. L'activité lipolytique au sein du TASC abdominal est équivalente à l'exercice dans les deux groupes. L'analyse détaillée de la lipolyse adrénérergique montre l'absence d'effet  $\alpha_2$ -adrénérergique anti-lipolytique fonctionnel chez la femme pendant l'exercice. La lipolyse non adrénérergique, évaluée par la perfusion locale et simultanée d' $\alpha$ - et de  $\beta$ -bloquant non sélectifs, est équivalente dans les deux sexes. La baisse de l'insulinémie et l'augmentation des taux plasmatiques d'ANP sont comparables dans les deux groupes, tandis que le niveau circulant des catécholamines est plus faible chez la femme, quelle que soit l'intensité de l'exercice. Cet effet est consistant avec une plus grande activité du système nerveux sympathique chez l'homme au cours d'un stress physique ou mental (Davis *et al.*, 2000). Par ailleurs, les femmes utilisent plus de lipides que les hommes aux intensités modérées d'exercice (30 % de la VO<sub>2max</sub>). Cette différence disparaît aux exercices plus intenses (50 et 70 % de la VO<sub>2max</sub>). L'utilisation accrue des lipides chez la femme pourrait s'expliquer par une plus grande mobilisation des lipides que chez l'homme et/ou un transport plus important d'acides gras dans le muscle squelettique (Blaak, 2001).

### IMPLICATION PHYSIOPATHOLOGIQUE CHEZ L'OBÈSE ET CHEZ L'INSUFFISANT CARDIAQUE

Plusieurs études épidémiologiques mentionnent une corrélation inverse entre les niveaux circulants de PN, BNP et N-terminal proBNP (NT-proBNP) en particulier et l'indice de masse corporelle (IMC) (Mehra *et al.*, 2004 ; Wang *et al.*, 2004 ; Das *et al.*, 2005 ; Krauser *et al.*, 2005 ). Ainsi les obèses ont des taux plasmatiques de BNP inférieurs à ceux de sujets de poids normal. L'origine de cette corrélation inverse reste discutée. Pour certains auteurs, cette association entre IMC élevé et faible niveau circulant de BNP dépendrait d'une augmentation de la clairance des peptides par le NPR-C largement exprimé dans le tissu adipeux de l'obèse (Sarzani *et al.*, 1999 ; Dessi-Fulgheri *et al.*, 2003). Pour d'autres auteurs, cette association inverse dépend de la quantité de masse maigre mais pas de masse grasse des sujets (Das *et al.*, 2005). Le rôle fonctionnel du récepteur de clairance NPR-C dans le tissu adipeux humain n'a pas été démontré à ce jour. Une investigation comparative *in vitro* de la quantité de récepteurs NPR-C et de l'effet lipolytique de l'ANP chez des individus de poids normal par rapport à des individus obèses morbides est nécessaire pour répondre à la question.

A l'inverse, les niveaux circulants d'ANP et de BNP sont élevés en cas d'insuffisance cardiaque (IC). Une corrélation positive existe entre les taux sanguins de BNP et NT-proBNP et le stade d'IC selon la classification

fonctionnelle de la New York Heart Association (Maisel *et al.*, 2002). L'augmentation des concentrations plasmatiques de ces peptides s'observe même lorsque la maladie est encore asymptomatique. Ainsi, le BNP et le NT-proBNP se présentent comme des marqueurs biochimiques d'hypertrophie ventriculaire gauche et de dysfonction systolique (Omland *et al.*, 1996). Leur intérêt diagnostique réside dans leur bonne valeur prédictive d'IC, la rapidité et le faible coût de leur dosage sanguin par immunofluorescence (Gardner *et al.*, 2003 ; McCullough *et al.*, 2003 ). L'insuffisance cardiaque chronique évolue généralement vers un état cachectique. La cachexie constitue une complication sérieuse de l'IC et un tableau aggravant du pronostic de survie (Anker *et al.*, 1997). Les patients cachectiques souffrent d'une perte générale de masse grasse, de masse maigre et de tissu osseux. Les mécanismes physiopathologiques conduisant à la cachexie cardiaque ne sont pas totalement résolus, mais les altérations des systèmes neurohormonaux (élévation des niveaux circulants de catécholamines, cortisol, angiotensine-II, aldostérone, endothéline-1) et immunitaires (augmentation des cytokines proinflammatoires) semblent jouer un rôle critique (Anker *et al.*, 2004). En effet, les catécholamines, le TNF- $\alpha$  et l'interleukine-6 sont connus pour stimuler la lipolyse du tissu adipeux (Lafontan, 2005). Le cortisol et l'angiotensine-II stimulent le catabolisme des protéines et la fonte musculaire (Sanders *et al.*, 2005). Prenant en compte l'effet stimulant des PN sur la mobilisation et l'oxydation lipidique, et l'augmentation dramatique de leur niveau circulant chez les insuffisants cardiaques, ces peptides pourraient contribuer à la cachexie cardiaque (Lafontan *et al.*, 2005). Ainsi, les PN représentent un lien physiopathologique intéressant entre l'IC, les anomalies du métabolisme lipidique et la cachexie cardiaque. Cependant, le tissu adipeux de patients IC pourrait être désensibilisé à l'action des PN et limiter l'existence d'une lipolyse excessive. Cette hypothèse est soutenue par le fait que la voie lipolytique de l'ANP est désensibilisée, *in vitro* et *in situ* dans le TASC, en réponse à une stimulation préalable par le peptide (Moro *et al.*, 2005c).

### CONCLUSION

Les peptides natriurétiques occupent une place essentielle dans la régulation de la balance hydro-sodée et de la volémie. La découverte récente d'une fonction lipolytique de ces peptides ouvre un champ nouveau d'investigations. Les mécanismes moléculaires impliqués dans la transduction du signal ANP dans l'adipocyte sont maintenant bien caractérisés. L'étude de la lipolyse dans diverses situations physiologiques (repos, exercice d'intensités croissantes, restriction calorique et entraînement) et chez différents sujets (homme, femme, maigre, surpoids, obèses) a permis d'établir le rôle fondamental de l'ANP, à côté de celui des catécholamines et de l'insuline, dans le contrôle de la mobilisation et de l'oxydation des lipides. Il reste maintenant à évaluer le rôle physiopathologique des peptides natriurétiques dans l'obésité,



chez des patients présentant un syndrome métabolique et une insuffisance cardiaque, diverses pathologies associées à une dérégulation des niveaux circulants de ces peptides. L'essentiel de notre recherche a été dévolu jusqu'ici à l'étude des effets métaboliques des peptides natriurétiques. Le tissu adipeux sécrète de nombreux facteurs paracrines ou endocrines impliqués potentiellement dans le développement des complications de l'obésité. Il serait intéressant d'étudier les effets potentiels de l'ANP et des voies dépendantes du GMPc sur les sécrétions du tissu adipeux et/ou les autres populations cellulaires présentes dans le tissu adipeux.

## BIBLIOGRAPHIE

- Anker S. D., Ponikowski P., Varney S., Chua T. P., Clark A. L., Webb-Peploe K. M., Harrington D., Kox W. J., Poole-Wilson P. A. & Coats A. J., Wasting as independent risk factor for mortality in chronic heart failure. *Lancet*, 1997, 349, 1050-1053.
- Anker S. D., Steinborn W. & Strassburg S., Cardiac cachexia. *Ann. Med.*, 2004, 36, 518-529.
- Berlin I., Lechat P., Deray G., Landault C., Maistre G., Chermat V., Brouard R., Ressayre C. & Puech A. J.,  $\beta$ -adrenoceptor blockade potentiates acute exercise-induced release of atrial natriuretic peptide by increasing atrial diameter in normotensive healthy subjects. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 1993, 44, 127-133.
- Birkenfeld A. L., Boschmann M., Moro C., Adams F., Heusser K., Franke G., Berlan M., Luft F. C., Lafontan M. & Jordan J., Lipid mobilization with physiological atrial natriuretic peptide concentrations in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2005, 90, 3622-3628.
- Blaak E., Gender differences in fat metabolism. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 2001, 4, 499-502.
- Brenner B. M., Ballermann B. J., Gunning M. E. & Zeidel M. L., Diverse biological actions of atrial natriuretic peptide. *Physiol. Rev.*, 1990, 70, 665-699.
- Crandall D. L., Ferraro G. D. & Cervoni P., Effect of experimental obesity and subsequent weight reduction upon circulating atrial natriuretic peptide. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1989, 191, 352-356.
- Das S., Drazner M., Dries D., Vega G., Stanek H., Abdullah S., Canham R., Chung A., Leonard D., Wians J. & de Lemos J., Impact of body mass and body composition on circulating levels of natriuretic peptides. *Circulation*, 2005, 112, 2163-2168.
- Davis S. N., Galassetti P., Wasserman D. H. & Tate D., Effects of gender on neuroendocrine and metabolic counterregulatory responses to exercise in normal man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2000, 85, 224-230.
- de Bold A. J., Borenstein H. B., Veress A. T. & Sonnenberg H., A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci.*, 1981, 28, 89-94.
- Degerman E., Smith C. J., Tornqvist H., Vasta V., Belfrage P. & Manganiello V. C., Evidence that insulin and isoprenaline activate the cGMP-inhibited low-Km cAMP phosphodiesterase in rat fat cells by phosphorylation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, 87, 533-537.
- Dessi-Fulgheri P., Sarzani R. & Rappelli A., Role of the natriuretic peptide system in lipogenesis/lipolysis. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, 2003, 13, 244-249.
- Dietz J. R., Mechanisms of atrial natriuretic peptide secretion from the atrium. *Cardiovasc. Res.*, 2005, 68, 8-17.
- Galitzky J., Sengenès C., Thalamos C., Marques M., Senard J., Lafontan M. & Berlan M., The lipid-mobilizing effect of atrial natriuretic peptide is unrelated to sympathetic nervous system activation or obesity in young men. *J. Lipid. Res.*, 2001, 42, 536-544.
- Gardner R. S., Ozalp F., Murday A. J., Robb S. D. & McDonagh T. A., N-terminal pro-brain natriuretic peptide. A new gold standard in predicting mortality in patients with advanced heart failure. *Eur. Heart J.*, 2003, 24, 1735-1743.
- Holtwick R., van Eickels M., Skryabin B. V., Baba H. A., Bubikat A., Begow F., Schneider M. D., Garbers D. L. & Kuhn M., Pressure-independent cardiac hypertrophy in mice with cardiomyocyte-restricted inactivation of the atrial natriuretic peptide receptor guanylyl cyclase-A. *J. Clin. Invest.*, 2003, 111, 1399-1407.
- Horowitz J. F., Fatty acid mobilization from adipose tissue during exercise. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2003, 14, 386-392.
- Jeukendrup A. E., Saris W. H. & Wagenmakers A. J., Fat metabolism during exercise: a review. Part I: fatty acid mobilization and muscle metabolism. *Int. J. Sports Med.*, 1998, 19, 231-244.
- Krauser D. G., Lloyd-Jones D. M., Chae C. U., Cameron R., Anwaruddin S., Baggish A. L., Chen A., Tung R. & Januzzi J. L. Jr, Effect of body mass index on natriuretic peptide levels in patients with acute congestive heart failure: a ProBNP Investigation of Dyspnea in the Emergency Department (PRIDE) substudy. *Am. Heart J.*, 2005, 149, 744-750.
- Kuhn M., Structure, regulation, and function of mammalian membrane guanylyl cyclase receptors, with a focus on guanylyl cyclase-A. *Circ. Res.*, 2003, 93, 700-709.
- Kuhn M., Molecular physiology of natriuretic peptide signalling. *Basic Res. Cardiol.*, 2004, 99, 76-82.
- Lafontan M., Fat cells: afferent and efferent messages define new approaches to treat obesity. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2005, 45, 119-146.
- Lafontan M. & Berlan M., Evidence that epinephrine acts preferentially as an antilipolytic agent in abdominal human subcutaneous fat cells: assessment by analysis of  $\beta$ - and  $\alpha$ -adrenoceptors properties. *Eur. J. Clin. Invest.*, 1985, 15, 341-346.
- Lafontan M. & Berlan M., Do regional differences in adipocyte biology provide new pathophysiological insights? *Trends Pharmacol. Sci.*, 2003, 24, 276-283.
- Lafontan M., Bousquet-Melou A., Galitzky J., Barbe P., Carpene C., Langin D., Berlan M., Valet P., Castan I., Bouloumie A. et al., Adrenergic receptors and fat cells: differential recruitment by physiological amines and homologous regulation. *Obes. Res.*, 1995, 3 (Suppl. 4), 507S-514S.
- Lafontan M., Moro C., Sengenès C., Galitzky J., Crampes F. & Berlan M., 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., Dicker A., Tavemier G., Hoffstedt J., Mairal A., Ryden M., Arner E., Sicard A., Jenkins C.M., Viguier N., van Harmelen V., Gross R.W., Holm C. & Arner P., Adipocyte lipases and defect of lipolysis in human obesity. *Diabetes*, 2005, 54, 3190-3197.
- Levin E., Gardner D. & Samson W., Natriuretic peptides. *N. Engl. J. Med.*, 1998, 339, 321-328.
- Lopez M. J., Wong S. K., Kishimoto I., Dubois S., Mach V., Friesen J., Garbers D. L. & Beuve A., Salt-resistant hypertension in mice lacking the guanylyl cyclase-A receptor for atrial natriuretic peptide. *Nature*, 1995, 378, 65-68.
- Maisel A. S., Krishnaswamy P., Nowak R. M., McCord J., Hollander J. E., Duc P., Omland T., Storrow A. B., Abraham W. T., Wu A. H., Clopton P., Steg P. G., Westheim A., Knudsen C. W., Perez A., Kazanegra R., Herrmann H. C. & McCullough P. A., Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N. Engl. J. Med.*, 2002, 347, 161-167.

- Matsukawa N., Grzesik W., Takahashi N., Pandey K., Pang S. & Smithies O., The natriuretic peptide clearance receptor locally modulates the physiological effects of the natriuretic peptide system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, *96*, 7403-7408.
- McCullough P. A., Omland T. & Maisel A. S., B-type natriuretic peptides: a diagnostic breakthrough for clinicians. *Rev. Cardiovasc. Med.*, 2003, *4*, 72-80.
- Mehra M. R., Uber P. A., Park M. H., Scott R. L., Ventura H. O., Harris B. C. & Frohlich E. D., Obesity and suppressed B-type natriuretic peptide levels in heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2004, *43*, 1590-1595.
- Moro C., Crampes F., Sengenès C., De Glisezinski I., Galitzky J., Thalamas C., Lafontan M. & Berlan M., Atrial natriuretic peptide contributes to physiological control of lipid mobilization in humans. *FASEB J.*, 2004a, *18*, 908-910.
- Moro C., Galitzky J., Sengenès C., Crampes F., Lafontan M. & Berlan M., Functional and pharmacological characterization of the natriuretic Peptide-dependent lipolytic pathway in human fat cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2004b, *308*, 984-992.
- Moro C., Pillard F., De Glisezinski I., Harant I., Riviere D., Stich V., Lafontan M., Crampes F. & Berlan M., Training enhances ANP lipid-mobilizing action in adipose tissue of overweight men. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 2005a, *37*, 1126-1132.
- Moro C., Polak J., Hejnova J., Klimcakova E., Crampes F., Stich V., Lafontan M. & Berlan M., Atrial natriuretic peptide stimulates lipid mobilization during repeated bouts of endurance exercise. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2005b, *290*, 864-869.
- Moro C., Polak J., Richterova B., Sengenès C., Pelikanova T., Galitzky J., Stich V., Lafontan M. & Berlan M., Differential regulation of atrial natriuretic peptide- and adrenergic receptor-dependent lipolytic pathways in human adipose tissue. *Metabolism*, 2005c, *54*, 122-131.
- Mullershausen F., Russwurm M., Thompson W.J., Liu L., Koesling D. & Friebe A., Rapid nitric oxide-induced desensitization of the cGMP response is caused by increased activity of phosphodiesterase type 5 paralleled by phosphorylation of the enzyme. *J. Cell Biol.*, 2001, *155*, 271-278.
- Okamura H., Kelly P.A., Chabot J.G., Morel G., Belles-Isles M. & Heisler S., Atrial natriuretic peptide receptors are present in brown adipose tissue. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1988, *156*, 1000-1006.
- Omland T., Aakvaag A. & Vik-Mo H., Plasma cardiac natriuretic peptide determination as a screening test for the detection of patients with mild left ventricular impairment. *Heart*, 1996, *76*, 232-237.
- Pandey K. N., Biology of natriuretic peptides and their receptors. *Peptides*, 2005, *26*, 901-932.
- Pfeifer A., Klatt P., Massberg S., Ny L., Sausbier M., Hirneiss C., Wang G. X., Korth M., Aszodi A., Andersson K. E., Krombach F., Mayerhofer A., Ruth P., Fassler R. & Hofmann F., Defective smooth muscle regulation in cGMP kinase I-deficient mice. *Embo. J.*, 1998, *17*, 3045-3051.
- Potter L. R. & Garbers D. L., Dephosphorylation of the guanylyl cyclase-A receptor causes desensitization. *J. Biol. Chem.*, 1992, *267*, 14531-14534.
- Potter L. R. & Garbers D. L., Protein kinase C-dependent desensitization of the atrial natriuretic peptide receptor is mediated by dephosphorylation. *J. Biol. Chem.*, 1994, *269*, 14636-14642.
- Sanders P M., Russell S. T. & Tisdale M. J., Angiotensin II directly induces muscle protein catabolism through the ubiquitin-proteasome proteolytic pathway and may play a role in cancer cachexia. *Br. J. Cancer*, 2005, *93*, 425-434.
- Sarzani R., Dessi-Fulgheri P., Paci V., Espinosa E. & Rappelli A., Expression of natriuretic peptide receptors in human adipose tissue and other tissues. *J. Endocrinol. Invest.*, 1996, *19*, 581-585.
- Sarzani R., Dessi-Fulgheri P., Salvi F., Serenelli M., Spagnolo D., Cola G., Pupita M., Giantomassi L. & Rappelli A., A novel promoter variant of the natriuretic peptide clearance receptor gene is associated with lower atrial natriuretic peptide and higher blood pressure in obese hypertensives. *J. Hypertens.*, 1999, *17*, 1301-1305.
- Sarzani R., Paci V. M., Zingaretti C. M., Pierleoni C., Cinti S., Cola G., Rappelli A. & Dessi-Fulgheri P., Fasting inhibits natriuretic peptides clearance receptor expression in rat adipose tissue. *J. Hypertens.*, 1995, *13*, 1241-1246.
- Sengenès C., Berlan M., de Glisezinski I., Lafontan M. & Galitzky J., Natriuretic peptides: a new lipolytic pathway in human adipocytes. *FASEB J.*, 2000, *14*, 1345-1351.
- Sengenès C., Bouloumié A., Hauner H., Berlan M., Busse R., Lafontan M. & Galitzky J., Involvement of a cGMP-dependent pathway in the natriuretic peptide-mediated hormone-sensitive lipase phosphorylation in human adipocytes. *J. Biol. Chem.*, 2003, *278*, 48617-48626.
- Sengenès C., Stich V., Berlan M., Hejnova J., Lafontan M., Parisikova Z. & Galitzky J., Increased lipolysis in adipose tissue and lipid mobilization to natriuretic peptides during low-calorie diet in obese women. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 2002a, *26*, 24-32.
- Sengenès C., Zakaroff-Girard A., Moulin A., Berlan M., Bouloumié A., Lafontan M. & Galitzky J., Natriuretic peptide-dependent lipolysis in fat cells is a primate specificity. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2002b, *283*, R257-R265.
- Smith M. W., Espiner E. A., Yandle T. G., Charles C. J. & Richards A. M., Delayed metabolism of human brain natriuretic peptide reflects resistance to neutral endopeptidase. *J. Endocrinol.*, 2000, *167*, 239-246.
- Spriet L. L., Regulation of skeletal muscle fat oxidation during exercise in humans. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 2002, *34*, 1477-1484.
- Stich V. & Berlan M., Physiological regulation of NEFA availability: lipolysis pathway. *Proc. Nutr. Soc.*, 2004, *63*, 369-374.
- Stich V., de Glisezinski I., Berlan M., Bulow J., Galitzky J., Harant I., Suljkovicova H., Lafontan M., Riviere D. & Crampes F., Adipose tissue lipolysis is increased during a repeated bout of aerobic exercise. *J. Appl. Physiol.*, 2000, *88*, 1277-1283.
- 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.
- Uelinger D. W., P. Gnädinger M. P. Hasler L. Bachmann C. Shaw S., Hellmüller B. & Lang R. E., Increase in circulating insulin induced by atrial natriuretic peptides in normal humans. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 1986, *8*, 1122-1129.
- Wang T. J., Larson M. G., Levy D., Benjamin E. J., Leip E. P., Wilson P. W. & Vasari R. S., Impact of obesity on plasma natriuretic peptide levels. *Circulation*, 2004, *109*, 594-600.
- Wang T. J., Larson M. G., Levy D., Leip E. P., Benjamin E. J., Wilson P. W., Sutherland P., Omland T. & Vasari R. S., Impact of age and sex on plasma natriuretic peptide levels in healthy adults. *Am. J. Cardiol.*, 2002, *90*, 254-258.
- Wyatt T. A., Naftilan A. J., Francis S. H. & Corbin J. D., ANF elicits phosphorylation of the cGMP phosphodiesterase in vascular smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.*, 1998, *274*, H448-H455.
- Zierath J. R., Livingston J. N., Thorne A., Bolinder J., Reynisdottir S., Lonnqvist F. & Arner P., Regional difference in insulin inhibition of non-esterified fatty acid release from human adipocytes: relation to insulin receptor phosphorylation and intracellular signalling through the insulin receptor substrate-1 pathway. *Diabetologia*, 1998, *41*, 1343-1354.
- Zimmermann R., Strauss J. G., Haemmerle G., Schoiswohl G., Birner-Gruenberger R., Riederer M., Lass A., Neuberger G., Eisenhaber F., Hermetter A. & Zechner R., Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase. *Science*, 2004, *306*, 1383-1386.