



Physiologie

Electrophysiologie des cellules productrices d'insuline : acquisitions récentes

Electrophysiology of insulin-producing cells : recent acquisitions

Willy J. MALAISSE¹, Juan Vicente SANCHEZ-ANDRES.²

¹Département de Biochimie, Université Libre de Bruxelles, Bruxelles, Belgique

²Departamento Medicina, Universitat Jaume I, Castellon, España

Auteur correspondant : malaisse@ulb.ac.be

Reçu le 02 juin 2017, Révisé le 25 juillet 2017, Accepté le 12 septembre 2017

Résumé. Le présent article de revue concerne des acquisitions récentes dans le domaine de l'électrophysiologie des cellules productrices d'insuline. D'abord, dans le cadre de la participation des canaux anioniques sensibles au volume cellulaire, en particulier l'anocamine 1, au processus de stimulation de la sécrétion d'insuline par le glucose, les modifications de l'activité bioélectrique de cellules insulaires soumises à l'hexose provoquées par l'acide tannique sont exposées. Les modifications du potentiel de membrane provoquées par la carbamylcholine en présence d'une concentration physiologique de glucose sont ensuite prises en considération. Enfin, l'accent est mis sur les aspects bioélectriques de l'activation par le sucralose du récepteur au goût sucré TIR 3 présent dans les cellules productrices d'insuline. Les implications physiopathologiques d'une telle activation sont également évoquées.

Mots clés : *Cellules productrices d'insuline, électrophysiologie, anocamine 1, carbamylcholine, récepteur du goût sucré TIR3*

Abstract : The present review article concerns recent acquisitions in the field of insulin-producing cell electrophysiology. First, within the framework of the participation of anionic channels sensitive to cell volume, especially anoctamin 1, in the process of glucose-stimulated insulin secretion, the changes in the bioelectrical activity of islet cells exposed to the hexose provoked by tannic acid are presented. The effect of carbamylcholine upon the membrane potential of cells exposed to a physiological concentration of glucose are then taken into consideration. Last, emphasis is placed on the bioelectrical aspects of the activation by sucralose of the sweet taste receptor TIR3 present in insulin-producing cells. The physiopathological implications of the latter activation are also evoked.

Keywords. *Insulin-producing cells, electrophysiology, anoctamin 1, carbamylcholine, sweet taste TIR3 receptor*

L'objet principal du présent article de revue concerne Dans cette perspective, la participation des canaux trois acquisitions récentes relatives à l'électrophysiologie anioniques sensibles au volume cellulaire, en particulier des cellules productrices d'insuline tant dans les l'anocamine 1, au processus de stimulation de la conditions physiologiques que pathologiques. sécrétion d'insuline par l'insuline, sera d'abord pris en

considération. L'hypothèse proposée postule, qu'en réponse à une augmentation de la concentration en glucose, l'accélération de son catabolisme dans les cellules productrices d'insuline provoque une accumulation intracellulaire d'anions tels que le lactate et le bicarbonate et amène, de ce fait, une augmentation du volume cellulaire pour rétablir la même pression osmotique de part et d'autre de la membrane plasmique, cette augmentation de volume résultant d'une entrée d'eau via l'aquaporine 7 et conduisant alors à l'ouverture des canaux anioniques sensibles au volume cellulaire, celle-ci permettant enfin l'efflux du lactate, du bicarbonate, du chlorure et de phosphate, l'augmentation rapide et transitoire de la sortie des anions phosphates étant qualifiée dans la terminologie anglaise de «phosphate flush» (Figure 1).

La réponse bioélectrique des cellules productrices d'insuline à une augmentation de la concentration extracellulaire de glucose est normalement caractérisée par une dépolarisation de la membrane plasmique et l'apparition de bouffées de pics électriques dont la branche montante correspond à l'influx d'ions calcium dans les cellules insulaires.

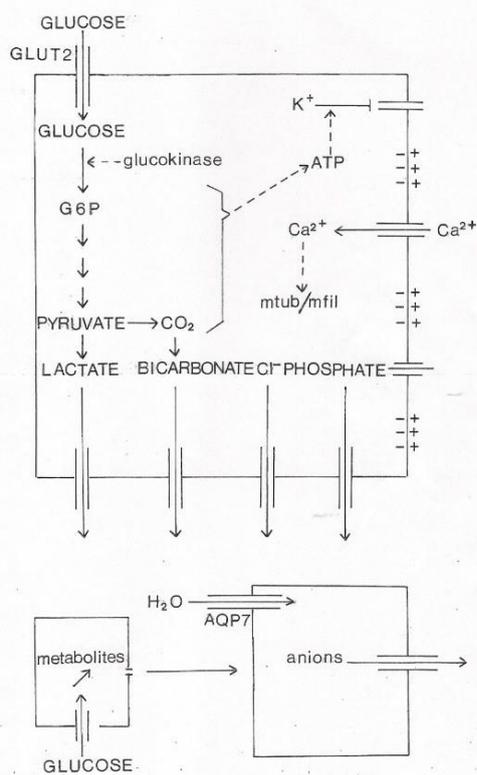


Fig. 1. Schéma illustrant la participation des canaux anioniques sensibles au volume cellulaire dans le processus de stimulation de la sécrétion d'insuline par le glucose.

En présence de glucose, l'administration d'acide tannique, utilisé comme inhibiteur de l'anocetamine 1, provoque une modification évidente de l'activité

bioélectrique comportant notamment une prolongation prononcée des phases silencieuses séparant les bouffées de pics électriques. Le Tableau I résume les aspects quantitatifs de l'effet exercé par l'acide tannique (100 µM) sur l'activité bioélectrique des cellules exposées à une concentration élevée (16,7 mM) de glucose.

Tableau I. Paramètres de l'activité bioélectrique des cellules productrices d'insuline exposées à du glucose (16.7 mM) en l'absence (contrôle) ou présence d'acide tannique (0,1 mM)

Paramètre	Contrôle	Acide tannique
Hauteur du potentiel d'action (millivolt)	39,1	26,2
Nombre de pics en phase active (par seconde)	4,9	3,3
Durée des phases silencieuses (secondes)	98,8	396,6
Durée des phases actives (secondes)	182,1	573,1
Durée relative des phases actives (%)	64,8	59,1
Nombre de pics en phases réunies (par seconde)	3,18	1,95
Somme des potentiels d'action (mV/seconde)	124,1	51,1

Compte tenu de la diminution de hauteur des potentiels d'actions de 39 à 26 millivolts, de la diminution du nombre de pics électriques en phase active de 4,9 à 3,3 pics par seconde et de la diminution relative de durée des phases actives de 65 à 59 pourcent et, dès lors, de la diminution du nombre de pics, toutes phases réunies, d'environ 3 à 2 pics par seconde, la somme des potentiels d'action est réduite par l'acide tannique de 124 à 51 millivolts, soit une réduction à une valeur expérimentale ne représentant environ que 40 pourcent de la valeur témoin de référence. Dans les mêmes conditions expérimentales, l'augmentation du débit sécrétoire d'insuline provoqué par le glucose ne représente, en présence d'acide tannique, environ que 40 pourcent de sa valeur témoin de référence. Il y a donc quantitativement une parfaite analogie entre l'effet inhibiteur de l'acide tannique sur les potentiels d'action sensés correspondre à l'entrée des ions calcium dans les cellules insulaires, d'une part, et sur l'ampleur de la riposte insulino-sécrétoire au glucose, d'autre part [1, 2]. Une autre acquisition récente concerne la réponse bioélectrique à la carbamylcholine (50 µM) de cellules productrices d'insuline exposées à une concentration physiologique de glucose (8,0 mM). C'est en 1967, il y a donc cinquante ans de cela, que fut documentée pour la première fois *in vitro* dans des pièces de pancréas incubées en présence de glucose (5,6 mM), l'augmentation du débit sécrétoire d'insuline provoquée

soit par l'acétylcholine (8,0 μM) en présence d'ésérine (6,0 μM) utilisé comme inhibiteur de la choline estérase, soit par la carbamylcholine (2,0 mM), l'analogue de l'acétylcholine résistant à la choline estérase [3]. La stimulation d'insuline par la voie cholinergique met en jeu une séquence sophistiquée d'évènements cellulaires, commençant par l'occupation des récepteurs muscariniques, suivi par l'activation de la phospholipase C et la libération de diacylglycérol et d'inositol phosphate à partir des phosphoinositides membranaires, conduisant alors à l'activation de la protéine kinase C par le diacylglycérol et à la mobilisation de calcium intracellulaire par l'inositol 1,3,5-triphosphate. L'augmentation de la concentration cytosolique des ions calcium amène des grains sécrétoires aux sites d'exocytose [4]. Les aspects bioélectriques de la riposte fonctionnelle des cellules insulaires aux agents cholinergiques ont fait jusqu'à présent l'objet d'une première étude indiquant que l'acétylcholine stimule l'activité bioélectrique en présence de glucose 11,1 mM, mais pas en présence de seulement 3,0 mM de l'hexose, et que l'atropine s'oppose à l'effet de l'acétylcholine [5]. Une observation semblable fut ensuite rapportée utilisant la carbamylcholine (0,1 à 1,0 mM) administrée à des îlots pancréatiques de souris exposés à un milieu contenant 11,1 mM de glucose, l'accent étant mis sur une stimulation précoce par l'agent cholinergique de l'entrée du calcium dans les cellules productrices d'insuline [6]. Nous avons récemment observé que la carbamylcholine (50,0 μM) augmente également l'activité bioélectrique des cellules bêta et ceci à une concentration de glucose ne dépassant pas 8,0 mM, l'administration de l'agent cholinergique provoquant une dépolarisation de la membrane plasmique et l'apparition de nombreuses bouffées de pics électriques. Cet effet s'efface quelques minutes après l'arrêt de l'administration de carbamylcholine. Il ne s'observe pas en l'absence de glucose et, en sa présence (8,0 mM), est plus marqué que celui enregistré dans la même série d'expériences en réponse à une augmentation de la concentration de glucose de 8,0 à 12,0 mM. Enfin, le troisième thème des études récentes concernant l'électrophysiologie des cellules productrices d'insuline concerne les aspects bioélectriques de l'activation par un édulcorant, à savoir le sucralose, d'un récepteur du goût sucré, le TIR3, présent dans les cellules productrices d'insuline. Ce sont les travaux d'ItaruKojima et ses collègues de la Gunma University au Japon qui ont révélé la présence de ce récepteur dans les cellules MIN6 et les îlots pancréatiques de souris [7-10]. Nous avons également observé la présence de ce récepteur TIR3 dans les cellules bêta de sujets humains [11]. L'administration du sucralose, par exemple 5,0 mM, à des îlots de souris exposés à une concentration suffisante de glucose, par

exemple également 5,0 mM, stimule l'activité bioélectrique des cellules productrices d'insuline, augmentant la fraction du temps, exprimée en pourcentage, occupée par les phases actives (Figure 2). Il convient de souligner que la réponse au sucralose à des concentrations de 3 à 5 mM en présence de glucose dans le milieu de périfusion à des concentrations également de 3 à 5 mM est loin d'être uniforme, allant d'une absence virtuelle d'effet à des dépolarisations modestes avec des bouffées de pics électriques occasionnelles ou encore à des dépolarisations évidentes avec une activité bioélectrique plus ou moins soutenue.

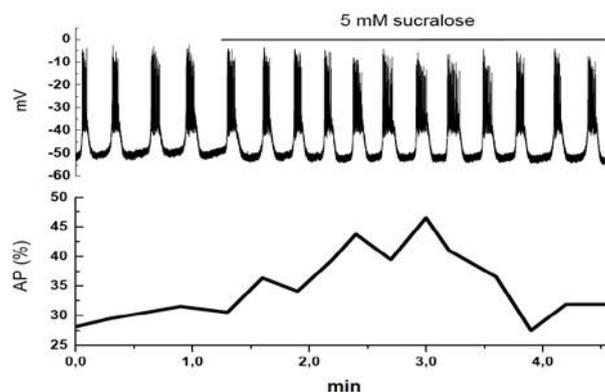


Fig. 2. Effet du sucralose (5,0 mM) sur le potentiel de membrane de cellules productrices d'insuline exposée à du glucose (5,0 mM)

Le tracé au bas de la figure concerne la fraction du temps, exprimée en pourcentage, occupée par la phase active (AP).

Par contre, en présence de glucose 10 mM, l'administration de sucralose (10, 20 ou 30 mM) provoque invariablement une augmentation évidente et liée à la concentration de l'édulcorant de l'activité bioélectrique [12]. Quelques considérations factuelles ou spéculatives quant à l'implication de nos récents travaux concernant la présence du récepteur du goût sucré TIR3 dans les cellules productrices d'insuline méritent de ne pas être ignorées. Il y a une cinquantaine d'année de cela, deux théories concernant le mode d'identification du glucose par les cellules bêta du pancréas endocrine s'opposaient l'une à l'autre. D'une part, la théorie métabolique ou concept énergétique, en anglais « the fuel hypothesis », postulait que l'action insulinothèque du glucose était étroitement liée au catabolisme de l'hexose dans les cellules productrices d'insuline, conduisant à une production accrue d'adénosine triphosphate (ATP). Ce dernier provoque la fermeture de canaux potassiques conduisant elle-même à la dépolarisation de la membrane plasmique et à l'ouverture de canaux calciques sensibles au potentiel électrique de cette membrane et donc à l'influx des ions calcium et à l'activation par ce cation d'un système effecteur microtubulo-microfilamenteux responsable de la trans-

location intracellulaire des grains sécrétoires d'insuline et leur accès aux sites d'exocytose [13]. D'autre part, cependant, l'hypothèse dite du glucorécepteur postulait que l'identification du glucose par les cellules bêta s'opérait au niveau d'un récepteur stéréospécifique éventuellement localisé à la membrane plasmique. La découverte par des chercheurs japonais que l'anomère alpha du D-glucose était plus puissant comme agent insulinothrope que l'anomère bêta de l'hexose [14], observation rapidement confirmée par d'autres auteurs, était aussitôt considérée comme apportant un argument décisif en faveur de la théorie du glucorécepteur. Le succès de cette théorie devenait d'autant plus volontiers universel qu'elle était aisément compréhensible et épargnait donc aux personnes intéressées la nécessité fastidieuse de connaître les étapes sophistiquées du métabolisme cellulaire du glucose de la phosphorylation de l'hexose à l'oxydation mitochondriale de ses métabolites. Cependant, en 1976, nous avons constaté que l'alpha-D-glucose était mieux capable que le bêta-D-glucose d'être métabolisé dans les cellules insulaires, cette observation étant alors proposée comme un argument décisif en faveur de la théorie métabolique [15]. Les implications physiopathologiques de cette dernière proposition n'étaient pas ignorées. Plusieurs travaux révélaient que la préférence anomérique en faveur de l'alpha-D-glucose était souvent perturbée dans différents modèles animaux de dysfonctionnement des cellules productrices d'insuline [16-19]. Nous avons même observé cette perturbation qualifiée de malaise anomérique chez des sujets diabétiques non- insulino-dépendants [20]. Les travaux que nous avons conduits par la suite ont incriminé l'accumulation de glycogène dans les cellules insulaires de sujets ou d'animaux souffrant d'une hyperglycémie soutenue comme responsable de ce malaise anomérique [21]. Cependant, d'autres chercheurs ont émis l'hypothèse que, peut-être, dans le diabète non-insulino-dépendant, une anomalie de la perception du goût sucré par l'appareil gustatif allait éventuellement de pair avec une perturbation de la spécificité anomérique de cette identification du goût sucré [22]. Il est vrai que nous avons observé une telle perturbation du goût sucré des anomères du glucose chez certains sujets diabétiques et, en fait, même à une occasion chez un sujet normoglycémique [23]. L'identification récente du récepteur du goût sucré TIR3 dans les cellules productrices d'insuline est évidemment susceptible d'éveiller un regain d'intérêt concernant les déterminants cellulaires du malaise anomérique. Comme le dit l'expression latine «*Ad augusta per angusta*», expression latine que le dictionnaire Larousse traduit en français par les mots «à des résultats grandioses par des voies étroites» et qu'il indique être le mot de passe des conjurés au quatrième acte du drame «Hernani» de Victor Hugo, impliquant que l'on n'arrive au triomphe qu'en surmontant maintes difficultés.

Conflits d'intérêts

Aucun

Références

1. Crutzen R., Virreira M., Markadieu N., Shlyonsky V., Sener A., Malaisse W.J., BEauwens R., Boom A. ; Golstein P.E. Anoctamin 1 (Ano1) is required for glucose-induced membrane potential oscillations and insulin secretion by murine β -cells. *Eur J Physiol* 2016; 468:573-91.
2. Malaisse W.J. Anoctamin 1, candidate anion channel sensitive to cell volume insulin-producing cells. *Turk J Med Biol Res* 2017; in press.
3. Malaisse W., Malaisse-Lagae F., Wright P.H., Ashmore J. Effects of adrenergic and cholinergic agents upon insulin secretion in vitro. *Endocrinology* 1967; 80:975-8.
4. Malaisse W.J. Stimulus-secretion coupling in the pancreatic B-cell : the cholinergic pathway for insulin release. *Diabetes/Metabolism Reviews* 1986; 2:243-59.
5. Gagerman E., Idahl L.A., Meissner H.P., Täljedal I.-B. Insulin release, cGMP, cAMP and membrane potential in acetylcholine-stimulated islets. *Am J Physiol* 1978; 235:E493-500.
6. Sanchez-Andrés J.V., Ripoll C., Soria B. Evidence that muscarinic potentiation of insulin release is initiated by an early transient calcium entry. *FEBS Lett* 1988; 213:143-7.
7. Nakagawa Y., Nagasawa M., Yamada S. et al. Sweet taste receptor expressed in pancreatic beta-cells activate the calcium and cyclic AMP signaling systems and stimulates insulin secretion. *PLoS ONE* 2009; 4:e5106.
8. Kojima I., Nakagawa Y. The role of the sweet taste receptor in enteroendocrine cells and pancreatic β -cells. *Diabetes Metab J* 2011; 34:451- 7.
9. Nakagawa Y., Nagasawa M., Mogami H., Lhse M., Nimomiya U., Kojima I. Multinodal function of the sweet taste receptor expressed in pancreatic β -cells: generation of diverse patterns of intracellular signals by sweet agonists. *Endocr J* 2013; 60:1191- 1206.
10. Nakagawa Y., Ohtsu Y., Nagasawa M., Shibata H., Kojima I. Glucose promotes its own metabolism by acting on the cell-surface glucose-sensing receptor TIR3. *Endocr J* 2013; 10:1507.
11. Malaisse W.J., Strange G., Kojima I. Presence of the sweet taste TIR3 receptor in human and rat pancreatic alpha cells Abstract Book *Autumn Meeting Belgian Soc Physiol Pharmacol* 2014; P-02.

12. Sanchez-Andrés J.V., Malaisse W.J. 19. Characterisation of the sweet taste receptor electrophysiology in pancreatic beta cells. Abstract Annual Meeting of the European *Association for the Study of Diabetes* 2015; 429.
13. Malaisse W.J., Sener A., Herchuelz A., Hutton J.C. 20. Insulin release: the fuel hypothesis. *Metabolism* 1979; 28:373-86.
14. Niki A., Niki H., Miwa I., Okuda J. 21. Insulin secretion by anomers of D-glucose. *Science* 1974; 186:150-1.
15. Malaisse W.J., Sener A., Koser M., Herchuelz A. 22. Identification of the α -stereospecific glucosensor in the pancreatic B-cell. *FEBS Lett* 1976; 65:131-4.
16. Niki A., Niki H., Niki I., Kuno Y. 23. Insulin release by glucose anomers in a rat model of non-insulin-dependent diabetes. *Diabetologia* 1988; 31:65-7.
17. Leclercq-Meyer V., Marchand J., Malaisse W.J. 24. Alteration of the insulin secretory response to D-glucose anomers in diabetic BB rats. *Med Sci Res* 1987; 15:1535-6.
18. Fichaud F., Marchand J., Yaylali B., Leclercq-Meyer V., Catala J., Malaisse W.J. 25. Altered anomeric specificity of glucose-induced insulin release in rabbits with duct-ligated pancreas. *Int J Pancreatol* 1991; 8:151-67.
19. Leclercq-Meyer V., Marchand J., Malaisse W.J. 26. Attenuated anomeric difference of glucose-induced insulin release in the perfused pancreas of diazoxide-treated rats. *Horm Metab Res* 1991; 23:257-61.
20. Rovira A., Garrotte F.J., Valverde I., Malaisse W.J. 27. Anomeric specificity of glucose-induced insulin release in normal and diabetic subjects. *Diab Res* 1987; 5:119-24.
21. Malaisse W.J. 28. Physiology of insulin secretion and its alteration in diabetes : the concept of glucotoxicity. In Andreani D, Gueriguian J.L, Striker G.E, editors. *Diabetic complications : epidemiology and pathogenetic mechanisms*, New York : Raven Press, 1991, p. 3-23.
22. Niki A., Niki H., Hashioka T. 29. Receptors of paraneurons, with species reference to glucoreceptors. *Arch HistolCytol* 1989; 52 Suppl: 33-8.
23. Malaisse-Lagae F., Malaisse W.J. 30. Abnormal identification of the sweet taste of D-glucose anomers. *Diabetologia* 1986; 29:344-5 (Letter).