

Physiologie de la cellule β des îlots de Langerhans

Le glucose et d'autres effecteurs agissent à plusieurs niveaux sur la production d'insuline par la cellule β de l'îlot de Langerhans. La transcription du gène de l'insuline et la stabilité du messenger sont augmentées, alors que la sécrétion est précocement stimulée. La transduction du signal glucose semble se faire par l'intermédiaire du métabolisme glycolytique et de l'accumulation d'ATP. Ce dernier composé entraîne la fermeture de canaux K^+ dépendants de l'ATP, et ainsi une dépolarisation membranaire qui provoque l'ouverture de canaux Ca^{2+} dépendants du voltage. C'est l'augmentation du calcium intracellulaire qui, par l'intermédiaire de la protéine kinase C et de protéines kinases dépendantes de la calmoduline, provoquerait la stimulation de la sécrétion d'insuline. Tous ces processus sont étroitement contrôlés par un réseau complexe d'interactions hormonales et métaboliques.

Bernard Portha

Chez l'homme et les mammifères de façon générale, la sécrétion d'insuline par les cellules β des îlots de Langerhans joue un rôle majeur dans l'homéostasie énergétique et notamment dans le contrôle de la glycémie. Une augmentation du débit de sécrétion de l'insuline est le seul moyen dont l'organisme dispose pour lutter contre l'hyperglycémie, alors qu'il existe plusieurs facteurs nerveux ou hormonaux dits contrarégulateurs, dont la libération est déclenchée par l'hypoglycémie. Les altérations dans le fonctionnement des cellules β pancréatiques entraînent des troubles métaboliques dont les plus fréquents sont les diabètes sucrés et les syndromes hypoglycémiques. La molécule de D-glucose est indiscutablement le signal régulateur majeur de la biosynthèse et de la sécrétion de

l'insuline ; c'est le seul signal métabolique qui active le processus sécrétoire *in vitro* à des concentrations similaires aux concentrations physiologiques. Cependant on connaît de nombreux autres facteurs régulateurs de la sécrétion d'insuline (*figure 1B*, p. 213). Parmi eux : des nutriments (des sucres autres que le glucose, des acides aminés, les corps cétoniques et les acides gras), des médiateurs du système nerveux (noradrénaline, galanine, acétylcholine, VIP*), des signaux hormonaux (glucagon, GIP*, GLP*-1 (7-36) amide, cholécystokinine) et des agents pharmacologiques (sulfonylurées) (*Tableau I*, p. 214). Le débit de sécrétion des cellules β est contrôlé à chaque instant par les

ADRESSE

B. Portha : professeur à l'université Paris VII. Laboratoire de physiologie du développement, groupe de recherches régulations métaboliques et diabète, Cnrs URA 307, université Paris 7, tour 33, 2, place Jussieu, 75251 Paris Cedex 05, France.

* VIP = vasoactive intestinal peptide ; GIP = gastric inhibitory peptide ; GLP = glucagon-like peptide.

| Tableau I | | | | |
|--|-----------------------------------|----------------|---------------------|---|
| LES PRINCIPAUX STIMULI OU INHIBITEURS DE LA SÉCRÉTION D'INSULINE | | | | |
| Stimulus/ inhibiteur | Type | Taux circulant | Effet biologique | Situation physiologique |
| Glucose | Métabolite | 5-20 mM | ↑ ↑ ↑ | Repas riche en glucides État prandial/état postabsorptif |
| Acides aminés | Métabolite | 0,1-10 mM | ↑ ↑ | Repas protéique |
| GIP | Hormone gastro-intestinale | 10-100 pM | ↑ ↑ | Repas (glucidique ou lipidique) |
| CCK | Hormone gastro-intestinale | 1-10 pM | ↑ | Repas (protéique) |
| GLP-1 (7-36) | Hormone gastro-intestinale | 10-100 pM | ↑ ↑ | Repas (glucidique) (?) |
| Adrénaline | Hormone de stress | 0,2-20 nM | ↓ ↓ | Stress |
| Acétylcholine | Neurotransmetteur parasympathique | Inconnu | ↑ ↑ | Repas |
| VIP | Neurotransmetteur parasympathique | Inconnu | ↑ | Repas |
| Noradrénaline | Neurotransmetteur sympathique | Inconnu | ↓ | Stress |
| Galanine | Neurotransmetteur sympathique | Inconnu | ↓ ↓ | Stress (?) |

Les neurotransmetteurs sont libérés localement au voisinage de la cellule β et les concentrations effectives ne sont pas actuellement connues.

variations des concentrations extracellulaires de nutriments, hormones et neurotransmetteurs. Certains signaux hormonaux et les nutriments atteignent la cellule β via le système vasculaire de l'îlot, alors que d'autres signaux hormonaux et les neurotransmetteurs sont libérés au voisinage immédiat de la cellule β , soit à partir d'autres cellules endocrines (cellules α et δ), soit à partir des terminaisons des fibres sympathiques et parasympathiques innervant l'îlot. La réponse de la cellule β à tous les régulateurs physiologiques est rapide : la sécrétion se produit dans les secondes qui suivent l'exposition au stimulus et s'annule aussi rapidement dès que le stimulus est supprimé. En outre, on connaît des régulations adaptatives de la cellule β , qui représentent des variations beaucoup plus lentes à s'établir (régulations à long terme) et reflètent des changements dans la situation physiologique du mammifère (modifications dues à des facteurs ontogéniques, nutritionnels ou endocriniens).

Des progrès significatifs ont été réalisés ces dernières années dans la connaissance des mécanismes de transduction des signaux reconnus par la cellule β . Nous commençons à comprendre comment les nutriments, les neurotransmetteurs et les hormones provoquent les variations de certains facteurs intracellulaires qui pourraient jouer le rôle de messagers

intracellulaires (AMP cyclique, ions Ca^{2+} , phospho-inositides). Ces progrès ont été rendus possibles en partie grâce à la mise au point de nouvelles techniques d'étude de la cellule β . Parmi elles : le *patch-clamp*, qui permet de mesurer directement l'activité des canaux ioniques membranaires, l'utilisation des sondes fluorescentes sensibles aux ions Ca^{2+} (quin 2, fura 2) qui permettent de mesurer directement les concentrations en ions Ca^{2+} libres, et diverses techniques de perméabilisation cellulaire (digitonine, choc électrique) qui, tout en préservant les fonctions cellulaires, rendent possible l'accès direct au cytosol de molécules qui n'y pénètrent pas normalement. En outre, l'obtention de lignées clonales (Rin, HIT) de cellules sécrétant de l'insuline a facilité les approches biochimiques et biophysiques du fonctionnement des cellules β . Même si les cellules de ces lignées clonales ne conservent pas une sensibilité normale à tous les sécrétagogues (et en particulier au glucose), elles offrent une alternative intéressante aux études utilisant les îlots isolés. On sait en effet que les îlots isolés présentent certaines caractéristiques (faible quantité de matériel cellulaire disponible et hétérogénéité des populations cellulaires) qui en rendent l'utilisation difficile pour certaines études. Le succès récent des techniques de triage cellulaire par

fluorescence devrait permettre de progresser puisque l'on peut obtenir une population pure de cellules β normales (figure 2).

La cellule β synthétise de l'insuline et la stocke dans des vésicules sécrétoires

L'expression du gène de l'insuline apparaît limitée à la cellule β insulaire. Le glucose est le régulateur majeur de la biosynthèse de l'insuline. Les effets du glucose passent essentiellement : (1) par une stimulation de la traduction des ARNm de la pré-pro-insuline détectable dans les minutes qui suivent l'élévation de la concentration en glucose [1] ; (2) par une stimulation de la transcription du gène de l'insuline et une stabilisation des ARNm lorsque l'exposition au glucose est plus longue (quelques heures) [1]. Les messagers intracellulaires impliqués dans l'effet du glucose sur la synthèse de l'insuline ne sont pas connus, mais on sait que le glucose doit être métabolisé dans la cellule β pour exercer son effet [1].

Le produit initial de la traduction des ARNm de l'insuline est la pré-pro-insuline (figure 3, p. 217). Les 25 premiers acides aminés de la molécule représentent une séquence riche en résidus hydrophobes et permettent la pénétration du peptide en cours de synthèse dans la lumière du réticu-

lum endoplasmique rugueux (RER). Dès que cette séquence est passée dans le RER, elle est éliminée par des peptidases spécifiques. Reste donc, dans les citernes du RER, le peptide tronqué : la pro-insuline. L'approche morphologique développée par Orci [2] a permis d'élucider les mécanismes de la conversion de la pro-insuline en insuline et du transport de ces molécules depuis le RER jusqu'à la membrane plasmique de la cellule β (figure 4, p. 219). La pro-insuline quitte le RER dans des microvésicules qui se dirigent vers la face *cis* des complexes golgiens. La face *trans* de l'appareil de Golgi est le site de triage des produits de sécrétion. En effet, les différentes protéines synthétisées au niveau du RER atteignent leurs destinations respectives par deux voies distinctes : (1) certaines rejoignent leur destination finale de façon automatique, sans stimulation spécifique, c'est le mode de transport non contrôlé, dit « constitutif » ; (2) d'autres, comme

l'insuline, sont libérées par la cellule seulement en réponse à un signal (le glucose, par exemple) : leur transport est dit « contrôlé ». La cellule β sécrète l'insuline dans le cadre d'un processus de transport par exocytose qui implique l'emballage des peptides dans une vésicule sécrétoire et la conversion des propeptides en peptides bioactifs, en temps et lieu appropriés. Dans l'appareil de Golgi, la pro-insuline semble être associée à un récepteur spécifique présent sur la face interne de la membrane golgienne. Ce système pourrait fonctionner à la manière du système de reconnaissance du mannose-6-phosphate (récepteur au mannose-6-phosphate), qui assure, dans l'appareil de Golgi, le triage des enzymes destinées aux lysosomes. Il est remarquablement efficace puisque, dans la cellule β normale, la totalité de la pro-insuline est dirigée vers des vésicules appartenant au mode de sécrétion dit « contrôlé » [3].

La pro-insuline quitte la face *trans* du

Golgi incluse dans des vésicules revêtues de clathrine. Ces vésicules (ou granules) immatures vont subir une acidification de leur contenu et la pro-insuline va y être convertie en insuline [3]. Deux enzymes sont responsables de cette conversion ; elles sont présentes dans le granule immature et activées seulement à pH acide. L'une coupe les résidus basiques entre le peptide C et les chaînes A et B ; l'autre enlève les résidus basiques C terminaux. Au même moment, le granule perd son revêtement de clathrine.

La vésicule mature est donc un granule lisse qui contient de l'insuline cristallisée (sous forme d'hexamères avec des atomes de Zn), une quantité équimolaire de peptide C sous forme soluble et un peu de pro-insuline résiduelle non clivée. La vésicule mature peut être stockée, sécrétée par exocytose ou dégradée par crinophagie (fusion de la vésicule avec des lysosomes) [4].

L'insuline est sécrétée par exocytose

Dans la cellule β comme dans toutes les cellules à fonction sécrétoire, l'ion calcium joue un rôle crucial dans le couplage stimulation-sécrétion. Un grand nombre d'études fondées essentiellement sur la mesure des flux transmembranaires de ^{45}Ca et de l'activité électrique cellulaire a conduit à l'idée cruciale qu'une augmentation de l'activité Ca^{2+} cytosolique dans la cellule β était un prérequis à la libération des grains sécrétoires [5-8] (figure 5, p. 220-221).

La cellule β est particulièrement riche en calcium : la quantité totale de calcium mesurée dans la cellule β est de l'ordre de 20-30 μmoles par gramme de tissu sec, soit une concentration 10 fois plus élevée que dans une cellule hépatique, par exemple.

La concentration de Ca^{2+} dans le cytosol (déterminée au moyen de marqueurs photochimiques) est de 100 nM dans le cas particulier des cellules β . Puisque la concentration de Ca^{2+} dans le sang ou le fluide interstitiel est de l'ordre de quelques millimoles par litre, il existe donc un important gradient de concentration

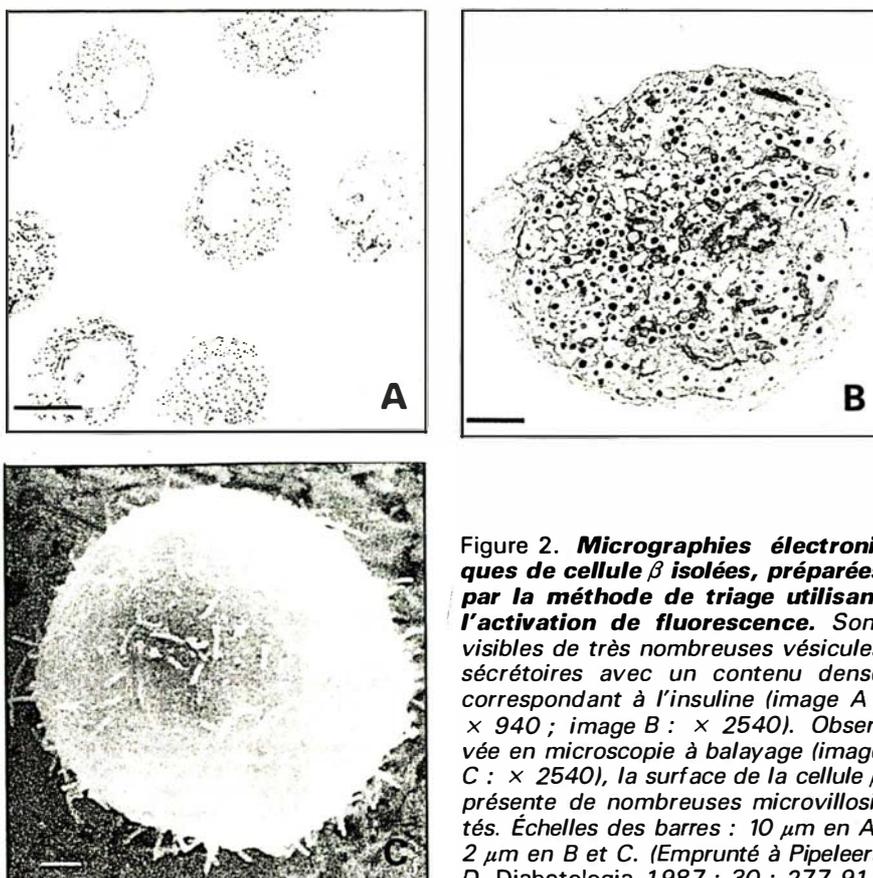


Figure 2. **Micrographies électroniques de cellule β isolées, préparées par la méthode de triage utilisant l'activation de fluorescence.** Sont visibles de très nombreuses vésicules sécrétoires avec un contenu dense correspondant à l'insuline (image A : $\times 940$; image B : $\times 2540$). Observée en microscopie à balayage (image C : $\times 2540$), la surface de la cellule β présente de nombreuses microvillosités. Échelles des barres : 10 μm en A, 2 μm en B et C. (Emprunté à Pipeleers D. *Diabetologia* 1987 ; 30 : 277-91.)

RÉFÉRENCES

1. Welsh M. Glucose regulation of insulin gene expression. *Diabète Métabolisme* 1989 ; 15 : 367-71.
2. Orci L. The insulin factory : a tour of the plant surroundings and a visit to the assembly line. *Diabetologia* 1985 ; 28 : 528-46.
3. Halban PA. Proinsulin trafficking and processing in the pancreatic β cell. *TEM* 1990 ; 1 : 261-4.
4. Schnell AH, Westman J, Borg LAH. Lysosomes and pancreatic islet function. *Diabetes* 1988 ; 37 : 309-16.
5. Wollheim CB, Sharp GW. Regulation of insulin release by calcium. *Physiol Rev* 1981 ; 61 : 914-73.
6. Herchuelz A, Malaisse WJ. Calcium movements and insulin release in pancreatic islet cells. *Diabète et Métabolisme* 1981 ; 7 : 283-8.
7. Hellman B. Calcium transport in pancreatic β cells : implications for glucose regulation of insulin release. *Diabetes/Metabolism Reviews* 1986 ; 3-4 : 215-41.
8. Henquin JC. Regulation of insulin release by ionic and electrical events in β cells. *Hormone Res* 1987 ; 27 : 168-78.
9. Prentki M, Matchinsky FM. Ca^{2+} , cAMP and phospholipid-derived messengers in coupling mechanisms of insulin secretion. *Physiol Rev* 1987 ; 67 : 1185-248.
10. Wolf B, Colca J, Turk J, Florholmen J, McDaniel M. Regulation of Ca^{2+} homeostasis by islet endoplasmic reticulum and its role in insulin secretion. *Am J Physiol* 1988 ; 17 : E121-6.
11. Zawalich W. Modulation of insulin secretion from β -cells by phosphoinositide-derived second messenger molecules. *Diabetes* 1988 ; 37 : 137-41.
12. Sener A, Malaisse WJ. The metabolism of glucose in pancreatic islets. *Diabète et Métabolisme* 1978 ; 4 : 127-33.
13. Ascroft SJ. Glucoreceptor mechanisms and the control of insulin release and biosynthesis. *Diabetologia* 1980 ; 18 : 5-15.
14. Malaisse WJ. Stimulus-secretion coupling in the pancreatic β -cell. *Experientia* 1984 ; 40 : 1025-164.

de Ca^{2+} (environ 10^4) entre les deux faces de la membrane plasmique. C'est l'existence même de ce gradient qui fait du Ca^{2+} un excellent candidat pour jouer le rôle de signal amplificateur intracellulaire. En effet, une faible augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique pour le Ca^{2+} entraînera une augmentation importante de la concentration de Ca^{2+} ionisé dans le cytosol.

Les membranes internes, et en particulier les membranes du réticulum endoplasmique, interviennent aussi dans la gestion des taux de calcium intracellulaire. Les citernes du réticulum endoplasmique et/ou des organelles proches de ces dernières, les calciosomes, sont capables d'accumuler activement des ions Ca^{2+} (ATPase-Ca dépendante). Les ions Ca^{2+} peuvent sortir du réticulum endoplasmique par des canaux spécifiques (dont l'ouverture est commandée par l'IP₃) : ce mécanisme contribue donc à élever le Ca^{2+} cytosolique [9-11].

Le glucose modifie la distribution des ions Ca^{2+} dans la cellule β

Les observations classiques montrant que le glucose stimule la captation de ^{45}Ca par des îlots isolés ont suggéré que le glucose pouvait augmenter la quantité totale du calcium dans les cellules β . En fait, cet effet du glucose n'a pas toujours pu être mis en évidence et reste faible dans le meilleur des cas (contenu total en $\text{Ca}^{2+} \times 1,5$) [7]. Il n'en demeure pas moins que la cellule β est à cet égard fondamentalement différente de l'hépatocyte, par exemple, où les effecteurs biologiques dont l'action dépend du Ca^{2+} produisent une perte nette de calcium. Il a été confirmé que le glucose était bien un stimulant puissant de l'entrée de Ca^{2+} dans la cellule β . La technique de mesure du Ca^{2+} cytosolique avec la sonde fluorescente quin 2 a permis de montrer directement que le glucose augmentait le Ca^{2+} cytosolique dans les cellules β isolées, en présence de concentrations en Ca^{2+} extracellulaire physiologiques (1,2 mM). Mais cet effet disparaît lorsque l'on rajoute un bloqueur des canaux calciques dépendants du voltage (le D600) ou lorsque l'on diminue la

concentration en Ca^{2+} extracellulaire (0,2 mM). A côté de cet effet majeur du glucose sur la perméabilité de la membrane plasmique aux ions Ca^{2+} , il a été proposé que le glucose avait, au moins dans des conditions *in vitro*, la faculté de stimuler la séquestration intracellulaire des ions Ca^{2+} (par le réticulum endoplasmique) et/ou le flux sortant des ions Ca^{2+} à travers la membrane plasmique [7]. Un tel processus, qui tend à diminuer la concentration en Ca^{2+} cytosolique, a pu être corrélé, toujours *in vitro*, à un effet paradoxal inhibiteur du glucose sur l'insulinosécrétion [7].

La question qui se pose maintenant est celle de la séquence des événements intracellulaires qui, lors de l'exposition de la cellule β à une concentration élevée de glucose (stimulation), vont déterminer l'augmentation du contenu cytosolique en ions Ca^{2+} (et donc la sécrétion insulini- que qui en résultera).

Le métabolisme du glucose dans la cellule β provoque la fermeture de canaux ioniques K^+ (dépendants de l'ATP). Cela entraîne l'ouverture de canaux ioniques Ca^{2+} (dépendants du voltage).

• *La reconnaissance du glucose par la cellule β .* Deux théories ont été proposées pour rendre compte de l'identification du glucose par les cellules β comme stimulus de l'insulinosécrétion. La première théorie postule que le glucose se lie à un récepteur stéréospécifique, peut-être localisé sur la membrane cellulaire. La liaison du glucose à son récepteur entraînerait l'activation de la cellule β . Par analogie avec le mode d'action de certaines hormones, un deuxième messager, peut-être l'AMP cyclique, compléterait l'occupation du récepteur à la riposte fonctionnelle. Cette théorie, qui manque d'arguments convainquants à l'heure actuelle, est abandonnée par la majorité des spécialistes. Et même si le glucose se lie aux enzymes qui catalysent les premières étapes de son métabolisme intracellulaire, par exemple sa phosphorylation en glucose-6-phosphate, aucun système enzymatique ayant le glucose pour activateur allostérique n'a encore été identifié dans les cellules β . Il convient cependant de sou-

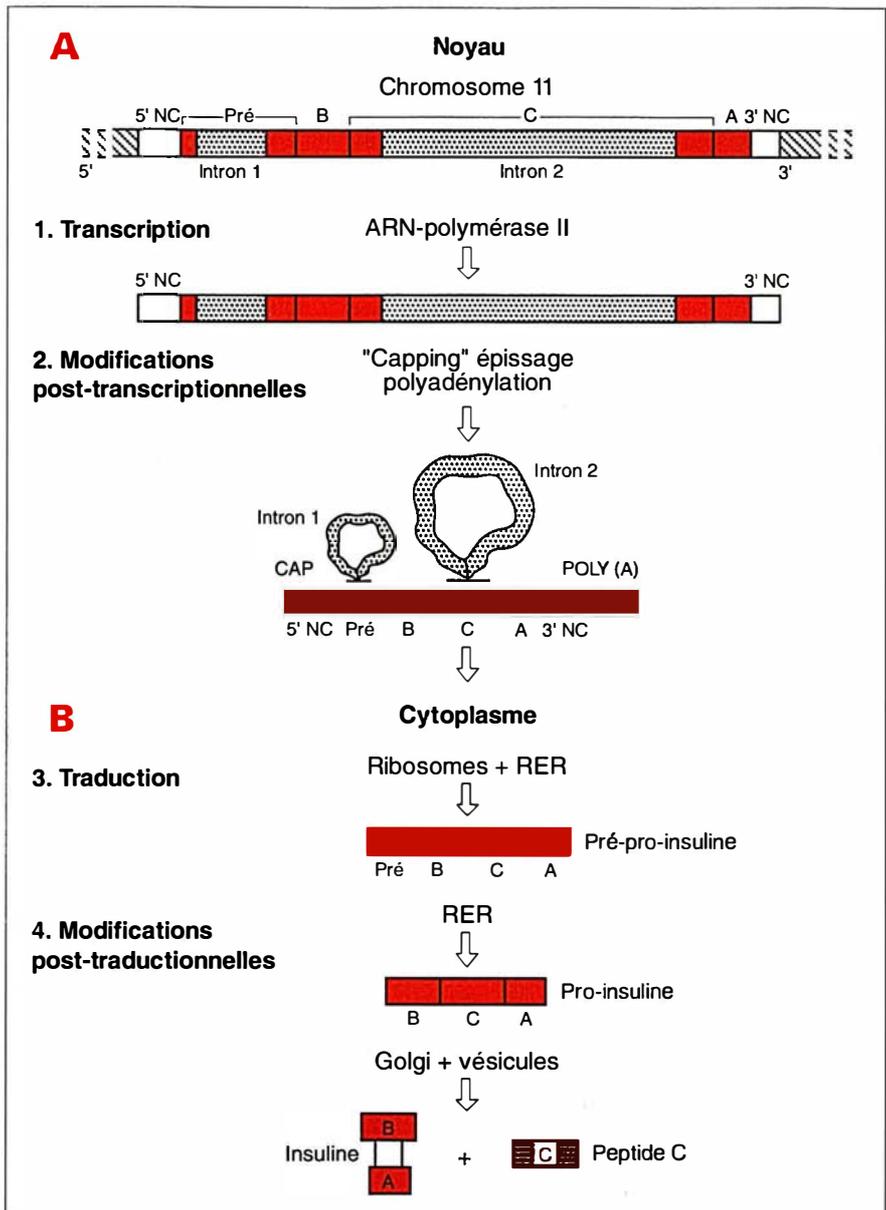


Figure 3. **Expression du gène de l'insuline dans la cellule β insulaire.** Les étapes décrites en A correspondent à la transcription proprement dite du gène (étape 1) et à la modification post-transcriptionnelle nucléaire du produit de transcription (étape 2). Chez l'homme, le gène de l'insuline est situé sur le bras court du chromosome 11. NC = région non codante. RER : réticulum endoplasmique rugueux. Les étapes décrites en B sont toutes cytoplasmiques et correspondent à la traduction de l'ARNm mature (étape 3) et aux modifications post-traductionnelles (étape 4) du produit de la traduction. (D'après Chirgwin JM. Diabetes Care 1990 ; 13 : 188-97.

ligner que l'existence au niveau de la membrane plasmique des cellules β d'un système stéréospécifique pour le D-glucose n'est pas mise en cause. Ce système est responsable du transport du glucose dans les cellules insulaires. Il est particulièrement efficace, de sorte que la concentration en glucose libre dans les cellules β est constamment voisine de sa concentration extracellulaire. Le transporteur de glucose dans la cellule β a été récemment identifié sur le plan moléculaire comme une isoforme également présente dans l'hépatocyte (GLUT 2).

La deuxième théorie postule que le glucose n'est capable de stimuler la sécrétion insulinaire qu'après avoir été métabolisé dans la cellule. L'identification de la sécrétion d'insuline est ainsi étroitement tributaire de son métabolisme, le lien avec les étapes distales de la séquence sécrétoire étant assuré par un métabolite du glucose ou par des cofacteurs engendrés par sa dégradation et son oxydation [12-14]. Différents arguments plaident en faveur de cette deuxième théorie. Citons deux exemples. D'abord, l'aptitude relative de différents hexoses (D-glucose, D-mannose, D-fructose, D-galactose) à stimuler la sécrétion d'insuline est parallèle à leur vitesse d'utilisation dans la cellule β . Ensuite, il est possible de stimuler la sécrétion d'insuline en l'absence de glucose extracellulaire si l'on stimule la glycogénolyse dans des îlots préalablement enrichis en glycogène grâce à une exposition prolongée à des concentrations très élevées de glucose.

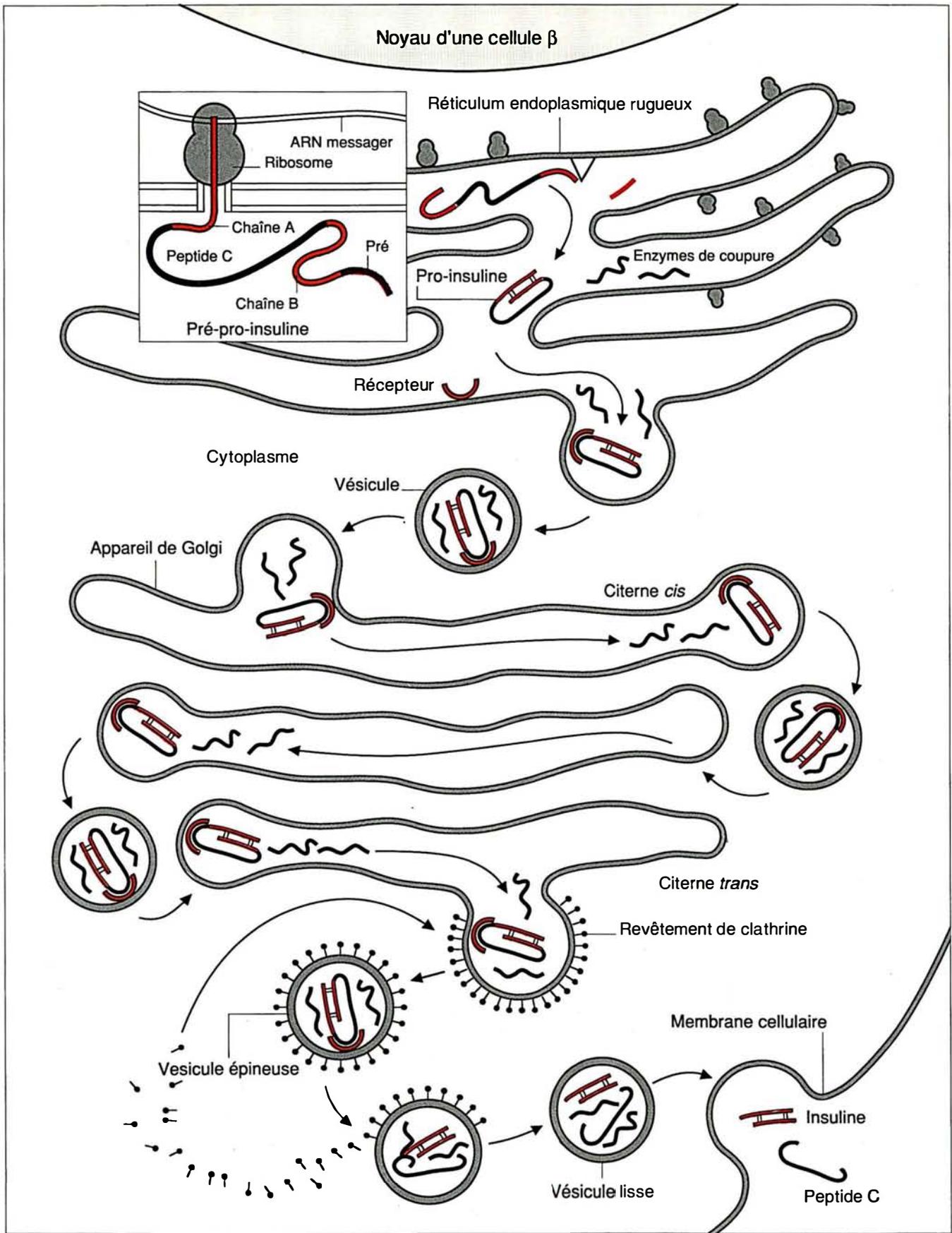
De façon plus générale, l'effet des nutriments non glucidiques (leucine par exemple) sur la sécrétion d'insuline est également tributaire d'une augmentation des flux cataboliques et de la consommation d'oxygène dans les cellules insulaires. L'activité insulinosécrétoire d'un nutriment donné refléterait donc sa capacité à être utilisé comme substrat métabolique dans la cellule β .

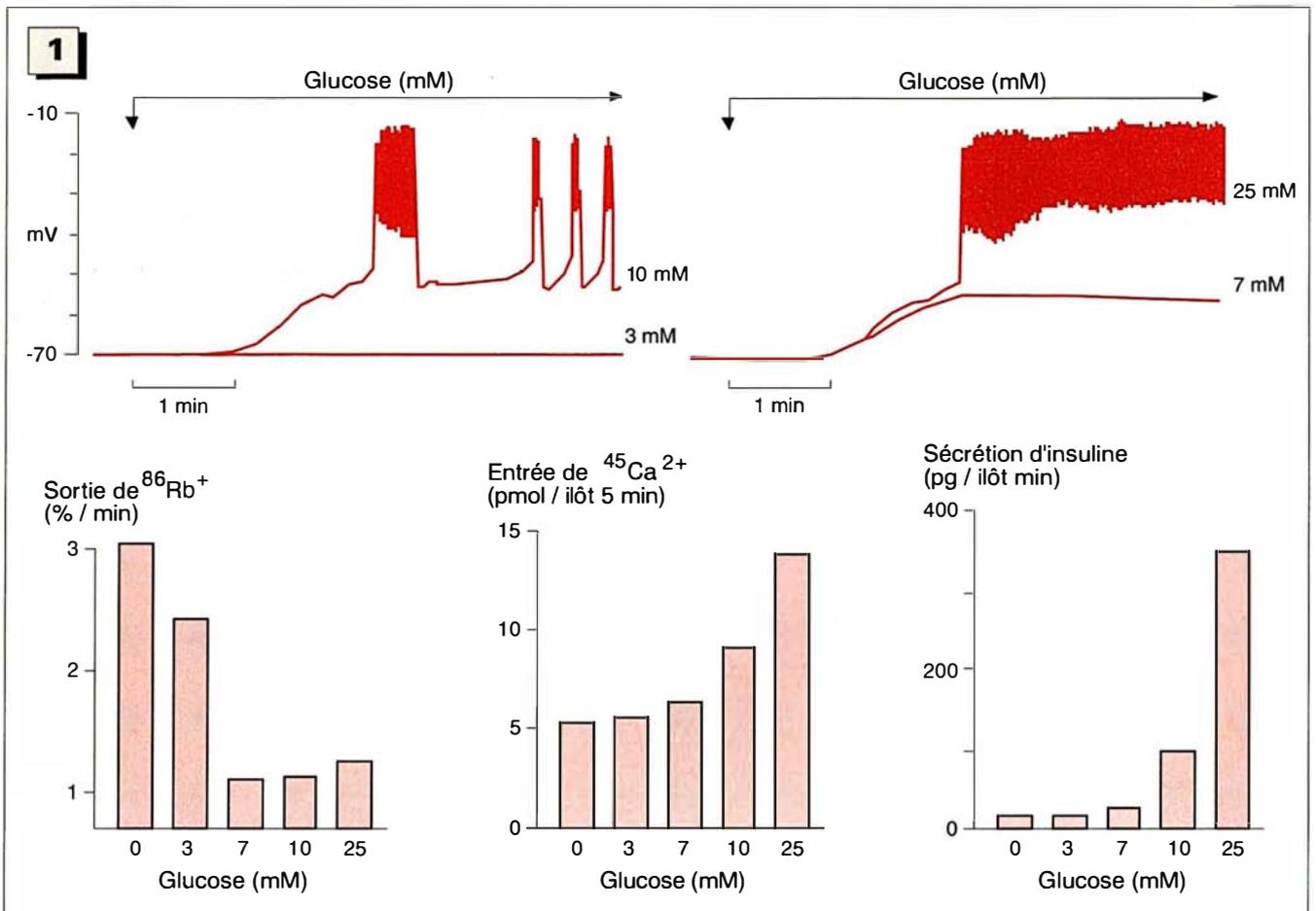
- *Le métabolisme du glucose dans la cellule β .* Le métabolisme du glucose dans les cellules productrices d'insuline présente certaines particularités. D'abord, le transport du glucose dans la cellule β n'est pas un facteur limitant dans la vitesse d'utilisation

RÉFÉRENCES

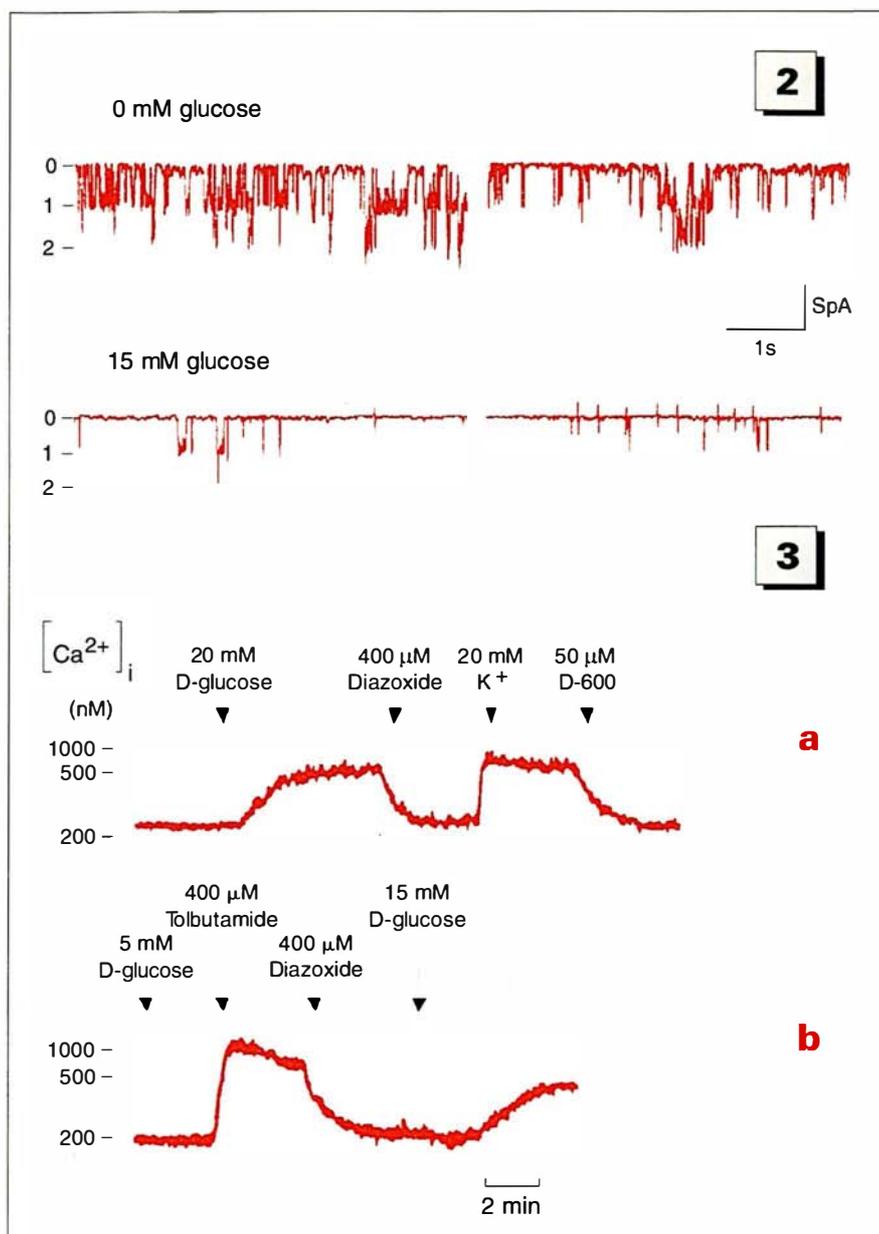
15. Sener A, Malaisse WJ. Stimulation by D-glucose of mitochondrial oxidative events in islets cells. *Biochem J* 1987 ; 246 : 89-95.
16. Giroix MH, Sener A, Dufrane SP, Malaisse-Lagaef F, Malaisse WJ. Glucose metabolism in insulin-producing tumoral cells. *Arch Biochem Biophys* 1985 ; 241 : 561-70.
17. Eizirik DL, Sandler S, Sener A, Malaisse WJ. Defective catabolism of D-glucose and L-glutamine in mouse pancreatic islets maintained in culture after streptozotocin exposure. *Endocrinology* 1988 ; 123 : 1001-7.
18. Portha B, Giroix MH, Serradas P, *et al.* Insulin production and glucose metabolism in isolated pancreatic islets of rats with NIDDM. *Diabetes* 1988 ; 37 : 1226-33.
19. Cook D, Satin L, Ashford MLJ, Hales N. ATP-sensitive K⁺ channels in pancreatic β cells- Spare channel hypothesis. *Diabetes* 1988 ; 37 : 495-8.
20. Arkhammar P, Nilsson T, Rorsman P, Berggren PO. Inhibition of ATP-regulated channels precedes depolarization-induced increase in cytoplasmic free Ca²⁺ concentration in pancreatic β cells. *J Biol Chem* 1987 ; 262 : 5448-54.
21. Lazdunski M. Les canaux potassiques sensibles à l'ATP, ou les suites imprévues de l'étude des sulfamides hypoglycémiantes. *médecine-sciences* 1990 ; 6 : 279-85.
22. Wolf B, Florholmen J, Turk J, McDaniel M. Studies of the Ca²⁺ requirements for glucose and carbachol-induced augmentation of inositol triphosphate and inositol tetrakisphosphate accumulation in digitonine permeabilized islets. Evidence for a glucose recognition site in insulin secretion. *J Biol Chem* 1988 ; 263 : 3565-75.
23. Metz S. Is protein kinase C required for physiologic insulin release? *Diabetes* 1988 ; 37 : 3-7.
24. Pipeleers D. The biosociology of pancreatic β cells. *Diabetologia* 1987 ; 30 : 277-91.
25. Hellman B, Berne C, Grapengiesser E, Grill V, Gylfe E, Lund PE. The cytoplasmic Ca²⁺ response to glucose as an indicator of impairment of the pancreatic β cells function. *Eur J Clin Invest* 1990 ; 20 : 510-7.
- de cet hexose. Ensuite, la cellule β dispose de deux enzymes catalysant la phosphorylation du glucose. Outre une hexokinase ubiquitaire, dont la constante de Michaelis (Km) pour le D-glucose ne dépasse pas 0,06 mM, elle contient également une gluco-kinase (Km pour le glucose \geq 10 mM). La participation de cette deuxième enzyme à la phosphorylation du glucose permet une modulation du flux glycolytique dans la gamme des glycémies physiologiques. De plus, la stimulation des cellules β par le glucose comporte une activation de la phosphofructokinase par certains hexoses bisphosphates, en particulier le fructose 2,6 bisphosphate et le glucose 1,6 bisphosphate. Cette activation de la phosphofructokinase semble requise pour que la vitesse de phosphorylation du fructose-6-phosphate suive celle du glucose. Bien que ces données mettent en relief l'importance de ses étapes initiales, la glycolyse n'est pas la seule voie d'utilisation du glucose et on ne doit pas perdre de vue les particularités qui suivent. En effet, il a été récemment suggéré que l'exposition de la cellule β à des concentrations élevées de glucose conduisait à une augmentation préférentielle des étapes mitochondriales du catabolisme du glucose [15]. L'importance de l'étape oxydative mitochondriale dans la régulation de l'ensemble du métabolisme du glucose par la cellule β , et donc de la sécrétion d'insuline, est suggérée par l'observation d'un effondrement important du flux oxydatif mitochondrial du glucose (alors que le flux glycolytique n'est pas altéré) dans divers modèles de dysfonctionnement sécrétoire de la cellule β : la cellule RINm5F [16], la cellule β exposée *in vitro* à la streptozotocine [17] et l'îlot de rat présentant un diabète non insulino-dépendant [18]. Par ailleurs, on sait que des îlots exposés pendant plusieurs heures à des concentrations élevées de glucose accumulent du glycogène. En outre, une fraction du glucose-6-phosphate est oxydée dans le shunt des pentoses phosphates. La partie de la glycolyse conduisant des trioses phosphates au pyruvate représente un site de production extra-mitochondrial tant de NADH que d'ATP. Une partie importante du pyruvate produit par la glycolyse échappe à l'oxydation mitochondriale, étant libéré tel quel ou après conversion en lactate, dans le milieu extracellulaire. La conversion de pyruvate en lactate contribue à la reconversion du NADH en NAD⁺, reconversion elle-même indispensable au maintien du flux glycolytique au niveau de la glyceraldéhyde phosphate déshydrogénase. Lorsqu'on augmente brutalement la concentration extracellulaire en glucose, une production accrue de lactate et de pyruvate et une augmentation de la teneur tissulaire en NAD(P)-H représentent une réponse précoce décelable dès la première minute de stimulation et précédant d'autres phénomènes cellulaires tels que le remaniement des flux ioniques [12-14]. Cette séquence chronologique est compatible avec l'idée que les phénomènes métaboliques sont

Figure 4. La production d'insuline sur la cellule β débute par la transcription en ARNm du gène codant une molécule précurseur, la pré-pro-insuline. L'ARNm, une fois dans le cytoplasme, est traduit au niveau de ribosomes accrochés à la membrane du réticulum endoplasmique rugueux (RER). La séquence « pré » est coupée très tôt lorsque le peptide s'engage dans le RER. Restent des molécules de pro-insuline qui pourraient être reconnues par des récepteurs spécifiques situés sur la face interne de la membrane du RER. La pro-insuline et des enzymes de coupure sont transférées via de petites vésicules vers le pôle cis de l'appareil de Golgi. Sur la face trans du Golgi, la pro-insuline est concentrée dans les extrémités dilatées des citernes qui se détachent pour former des vésicules « épineuses » (revêtues de clathrine). Dans la lumière de ces vésicules, les enzymes découpent la pro-insuline en insuline bioactive et en peptide C. Le processus est concomitant d'une acidification du contenu des vésicules (pompe à protons dans la membrane vésiculaire) et d'une disparition du revêtement de clathrine. Les vésicules sont donc devenues des vésicules sécrétoires lisses, mures, stockées dans le cytosol ou libérées au niveau de la membrane plasmique. (D'après Orci L. Pour la Science 1988 ; 133 : 36-47.)





▲
Figure 5. 1. Relation entre l'activité électrique, les flux ioniques (K^+ et Ca^{2+}) et la sécrétion d'insuline par la cellule β (îlots isolés de souris). Le potentiel membranaire est mesuré à l'aide d'une microélectrode empalée dans une cellule β (îlot microdisséqué). En présence d'une faible concentration de glucose (3mM), la membrane de la cellule β est polarisée aux environs de -70 mV (potentiel de repos). Cette polarisation est liée à l'existence d'un courant sortant d'ions K^+ (quantifiable par la mesure du flux sortant de $^{86}\text{Rb}^+$). Lorsque la concentration de glucose augmente (7 mM), la cellule se dépolarise d'environ 10 mV (potentiel seuil), mais aucun potentiel d'action n'apparaît. En revanche, pour des concentrations de glucose supérieures (10 et 25 mM ici), la cellule se dépolarise davantage et les potentiels d'action apparaissent. Ces derniers sont liés à une diminution du flux des ions K^+ (cf. mesure de la sortie de $^{86}\text{Rb}^+$ et à une entrée massive des ions Ca^{2+} (cf. mesure de la captation nette de $^{45}\text{Ca}^{2+}$). Dans ces conditions, la sécrétion d'insuline est stimulée. (D'après Henquin JC. Hormone Res 1987 ; 27 : 168-78.) **2. Fonctionnement du canal K^+ -ATP dépendant dans une cellule β isolée,** apprécié par la technique du patch-clamp (configuration cellule intacte), en absence ou en présence (15 mM) de glucose. L'échelle indique l'état d'activité du canal. Cette activité est fortement inhibée (fermeture du canal) en présence de glucose. C'est la fermeture des canaux K^+ qui va provoquer la dépolarisation membranaire ; cette dernière conduira le potentiel de membrane au seuil d'activation des canaux Ca^{2+} dépendants du voltage. L'ouverture de ces canaux pendant les potentiels d'action permet l'entrée de Ca^{2+} . Il en résultera l'augmentation du Ca^{2+} intracellulaire nécessaire à la sécrétion d'insuline. (D'après Henquin JC, Plant TD. The electrophysiology of insulin secretion. In : Imura et al., eds Progress in Endocrinology 1988 ; 137-42.) **3. Effets du glucose, du diazoxide (sulfamide hyperglycémiant), des ions K^+ , du D-600 (bloqueur des canaux calciques dépendants du voltage) et du tolbutamide (sulfamide hypoglycémiant) sur la concentration de Ca^{2+} libre (estimée avec l'indicateur fluorescent quin 2) dans le cytosol de cellules β isolées.** Le diazoxide bloque la sécrétion d'insuline induite par le glucose : il interagit directement avec les canaux K^+ -ATP dépendants en augmentant leur probabilité d'ouverture. L'hyperpolarisation membranaire qui en résulte inactive les canaux Ca^{2+} dépendants du voltage. Le tolbutamide stimule la sécrétion d'insuline en augmentant directement la probabilité de fermeture des canaux K^+ -ATP dépendants. La dépolarisation qui en résulte active les canaux Ca^{2+} dépendants du voltage. On peut obtenir une dépolarisation de la membrane par un mécanisme autre que la diminution de la perméabilité membranaire du K^+ : c'est ce qui est réalisé par des concentrations extracellulaires très élevées de K^+ (25 mM). Le D-600 bloque directement les canaux Ca^{2+} dépendants du voltage. (D'après Rorsman R, Berggren PO. J Biol Chem 1987 ; 262 : 5448-54.)



liés aux phénomènes ioniques par une relation de cause à effet.

- *La relation entre phénomènes métaboliques et phénomènes ioniques.* La stimulation de la cellule β par le glucose et d'autres nutriments sécrétagogues (glycéraldéhyde, leucine) s'accompagne d'un remaniement spectaculaire de différents flux ioniques, outre les flux calciques déjà mentionnés. On observe notamment une réduction rapide et soutenue des flux sortants de K^+ et une stimulation transitoire

de ceux d'orthophosphate (phénomène connu sous le nom de *phosphate flush*) [7, 8].

Un premier lien entre phénomènes métaboliques et ioniques pourrait résider dans la genèse d'un métabolite particulier susceptible d'influencer les mouvements ioniques. Certains auteurs ont fait jouer un rôle au phosphoénolpyruvate dans le remaniement des flux calciques. Le fait que des nutriments distincts (par exemple le D-glucose et la L-leucine) exercent des effets semblables sur la

réponse ionique et sécrétoire des îlots, alors qu'ils sont catabolisés par des voies métaboliques entièrement différentes (en tout cas jusqu'à la production d'acétyl-coenzyme A), suggère cependant que le rôle d'un métabolite intermédiaire dans une voie métabolique donnée n'est sans doute pas essentiel. Une hypothèse plus raisonnable est que la liaison entre phénomènes métaboliques et ioniques est assurée par des facteurs toujours produits par l'oxydation des substrats, quelle que soit la voie métabolique en cause. Parmi les trois candidats potentiels que sont les protons (H^+), les équivalents réduits (NADH ou NADPH) et l'ATP, le rôle tenu par l'ATP est actuellement privilégié. Le schéma actuel le mieux argumenté est le suivant : une production accrue d'ATP entraînerait la fermeture de canaux potassiques sensibles à l'ATP intracellulaire (les techniques de *patch-clamp* ont permis leur identification dans la membrane plasmique de la cellule β [19]) ; il en résulterait une dépolarisation de la membrane et l'ouverture des canaux calciques dépendants du voltage, un flux entrant massif de Ca^{2+} et son accumulation cytosolique [20, 21] (figure 5).

Il est cependant raisonnable de penser que le lien entre les phénomènes métaboliques et ioniques est multifactoriel. Par exemple, il a été proposé qu'une production accrue de protons pourrait, par le biais d'une acidification cytosolique, diminuer le flux sortant de K^+ et de Ca^{2+} . L'effet des ions H^+ sur la sortie de Ca^{2+} pourrait s'expliquer par l'inhibition du processus de contre-transport Na^+/Ca^{2+} , présent dans la membrane plasmique (les ions H^+ pourraient entrer en compétition avec les ions Ca^{2+} au niveau de ce système) [9]. La production accrue de protons, liée au catabolisme des nutriments, rendrait donc compte à la fois de la diminution de la sortie du K^+ (avec dépolarisation et ouverture des canaux calciques dépendants du voltage et de la diminution de la sortie du Ca^{2+} (avec accumulation cytosolique de l'ion divalent).

D'autres auteurs insistent sur le rôle des équivalents réduits. Il est bien établi que les nutriments sécrétagogues modifient l'état redox des

RÉFÉRENCES

26. O'Rahilly S, Turner R, Matthews D. Impaired pulsatile secretion of insulin in relatives of patients with non insulin-dependent diabetes. *N Engl J Med* 1988 ; 318 : 1225-30.
27. Nesher R, Eylon L, Segal N, Cerasi E. Characterization of the time-dependent inhibitory control system in the isolated rat pancreas. *Endocrinology* 1989 ; 124 : 142-8.
28. Robertson RP. Type II diabetes, glucose « non-sense », and islet desensitization. *Diabetes* 1989 ; 38 : 1501-5.
29. Unger R.H, Grundy S. Hyperglycemia as an inducer as well as a consequence of impaired islet cell function and insulin resistance : implication for the management of diabetes. *Diabetologia* 1985 ; 28 : 119-21.
30. Weir GC, Leahy JL, Bonner-Weir S. Experimental reduction of β -cell mass. Implications for the pathogenesis of diabetes. *Diabetes/Metabolism Reviews* 1986 ; 2 : 125-61.
31. Portha B, Blondel O, Serradas P, et al. The rat models of non insulin dependent diabetes induced by neonatal streptozotocin. *Diabete Metab* 1989 ; 15 : 61-75.
32. Rossetti L, De Fronzo R. Glucose toxicity : an important cause of insulin resistance and impaired insulin secretion. In : *Lessons from animal diabetes II*. Shafir E, Renold A, eds. London : John Libbey and Co, 1988 : 389-92.
33. Grodsky GM. A new phase of insulin secretion : how will it contribute to our understanding of β cell function ? *Diabetes* 1989 ; 38 : 673-8.
34. Ktorza A, Laury MC, Bailbe D, et al. Differential effects of prolonged hyperglycemia on insulin secretion *in vivo* and *in vitro* in the rat. *Diabetologia* 1989 ; 32 : 506A.
35. Giroix MH, Serradas P, Portha B. The desensitization of normal β cell to glucose *in vitro* is transient and no related to high glucose levels. *Endocrinology* 1989 ; 125 : 1999-2007.
36. Portha B, Serradas P, Blondel O, Giroix MH, Bailbe D. Relation between hyperglycemia and impairment of insulin secretion and action. Information from the n-STZ rat models. In : Shafir E, Smith-Gordon, eds. *Lessons from animal diabetes III*. 1991 (à paraître).
- couples NADH/NAD⁺ et/ou NADPH/NADP⁺ et augmentent la teneur en groupes thiols des protéines membranaires [9]. On conçoit que des modifications de l'équilibre entre les groupes thiols et les groupes disulfures des protéines membranaires agissant comme canaux ioniques pourraient moduler la perméabilité aux ions [9].
- Les hypothèses mentionnées ici ne s'excluent pas mutuellement. Mais tout cela met en relief le rôle primordial des variations de potentiel transmembranaire dans la cellule β , vis-à-vis du couplage stimulation-sécrétion. Il existe en effet un étroit parallélisme entre l'activité bioélectrique et l'activité sécrétoire des îlots (figure 5).
- Le métabolisme des phospholipides dans la cellule β participe à la mobilisation des ions Ca²⁺**
- Le renouvellement des phospholipides dans la cellule β est accéléré par les nutriments insulinosécréteurs et par les neurotransmetteurs ou hormones tels que acétylcholine et cholécystokinine [9-11]. Une des questions récemment abordée a été de savoir si cette accélération du métabolisme des phospholipides, et en particulier de leur catabolisme, pouvait représenter un phénomène précoce lors de la stimulation de la cellule β . Il convient à ce niveau de distinguer ce qui concerne respectivement la réponse aux neurotransmetteurs et la réponse aux nutriments (en particulier au glucose).
- Le glucose, la carbamylcholine et la cholécystokinine provoquent une dégradation rapide (< 1 min) des phospho-inositides membranaires (PIP₁, PIP₂) et une augmentation concomitante des inositols mono-, bi- et triphosphates et du diacylglycérol. Dans le cas de la carbamylcholine et de la cholécystokinine, ces effets ne nécessitent pas une élévation de la concentration cytosolique en Ca²⁺ car ils persistent lorsque la cellule β est incubée dans un milieu sans Ca²⁺ ou en présence d'EGTA. Ils résulteraient d'un couplage (intervention de protéines G) entre récepteurs muscariniques ou de la cholécystokinine et une phosphodiesterase membranaire (phospholipase C).
- L'augmentation des inositols triphosphates dans la cellule β stimulée par le glucose est en revanche supprimée en l'absence de Ca²⁺ dans le milieu extracellulaire ou lorsque les canaux calciques sont bloqués par le vérapamil. Il a donc été proposé que l'activation de la phospholipase C par le glucose dans la cellule β est une des conséquences de l'augmentation du Ca²⁺ cytosolique lors de l'ouverture des canaux calciques présents dans la membrane plasmique. Cette idée est cependant remise en question par un travail très récent réalisé avec des îlots perméabilisés par la digitonine et qui montre : (1) qu'en l'absence d'un agoniste muscarinique ou de glucose, la phospholipase C n'est pas activée directement par des concentrations de Ca²⁺ cytosoliques de l'ordre de 0,1-1 μ M (ordre de grandeur des concentrations basales physiologiques) ; (2) qu'en revanche, elle est activée directement par le D-glucose, cette activation étant optimale en présence d'une concentration de Ca²⁺ cytosolique de 0,5 μ M. Les auteurs, tout en ne remettant pas en cause l'importance du métabolisme intracellulaire du glucose dans l'insulinosécrétion, suggèrent que la cellule β est équipée d'un site membranaire de reconnaissance du glucose qui serait couplé à la phospholipase C [22]. Outre leur effet sur le catabolisme des phospholipides, les nutriments insulinosécréteurs peuvent aussi stimuler la synthèse *de novo* de ces lipides. Cette propriété pourrait contribuer au maintien ou à l'amplification (*priming effect*) de la réponse insulinosécrétrice lors d'une stimulation durable [11].
- La dégradation des phospho-inositides dans la cellule β fournit aussi du diacylglycérol (DAG), activateur de la protéine kinase C, ce qui permettrait la phosphorylation de certaines protéines intracellulaires.
- Les propriétés de la protéine kinase C (PK-C) identifiée (isoforme III) dans la cellule β sont encore mal caractérisées. Les variations physiologiques de Ca²⁺ cytosolique contrôlent sans doute le fonctionnement de la PK-C, puisque des concentrations de Ca²⁺ de l'ordre de la micromole sont capables d'activer l'enzyme. Plusieurs arguments suggèrent que l'activation de la protéine kinase C par le DAG endogène entraîne l'insulinosécrétion [23] :

(1) la phospholipase C exogène induit la sécrétion de l'insuline ; (2) l'ester de phorbol TPA (12-0-tétradécanoyl-phorbol-13-acétate), activateur puissant de la protéine kinase C, stimule la sécrétion d'insuline, même en l'absence de glucose. Dans un système expérimental utilisant l'îlot isolé perfusé, il a été montré que le TPA, en l'absence de nutriment exogène, fait apparaître une sécrétion d'insuline qui a les caractéristiques cinétiques de la phase tardive habituelle (seconde phase), la phase précoce (première phase) étant absente. Cela contraste avec la réponse de la cellule β à la tolbutamide ou à un ionophore calcique tel que le A-23187 qui agissent en provoquant une élévation brusque du Ca^{2+} cytosolique : dans ce cas, il se produit une sécrétion rapide et transitoire (première phase uniquement) de l'insuline. Les combinaisons (tolbutamide + TPA) ou (A23187 + TPA) permettent de reproduire, en l'absence de glucose exogène, une réponse sécrétoire typiquement biphasique : cette observation suggère que les première et deuxième phases de sécrétion de l'insuline pourraient être contrôlées par des phosphorylations dépendantes respectivement des protéines kinases dépendantes du Ca^{2+} et de la calmoduline, et des protéines kinases C [11] ; (3) un analogue du DAG qui traverse librement la membrane plasmique, l'OAG (1-oléoyl-2-acétyl-glycérol), active la protéine kinase C et stimule la sécrétion d'insuline ; (4) la polymixine B, une polyamine antibiotique, inhibe l'activité PK-C et freine l'insulinosécrétion induite par le glucose.

La libération d'acide arachidonique est aussi une des conséquences du catabolisme des phospholipides lors d'une stimulation par le glucose. Elle résulte soit de l'hydrolyse du DAG par la DAG lipase, soit de la déacylation des phospholipides (phosphoinositides, phosphatidylcholine et acide phosphatidique) par une phospholipase A_2 . L'élévation du Ca^{2+} cytosolique dans la cellule β pourrait jouer un rôle dans l'activation de la phospholipase A_2 , puisque cette enzyme est dépendante du Ca^{2+} . L'acide arachidonique pourrait participer au métabolisme du Ca^{2+} intracellulaire en induisant la libéra-

tion de Ca^{2+} depuis le réticulum endoplasmique. L'acide arachidonique est aussi un précurseur des eicosanoïdes : les produits de la voie de la cyclo-oxygénase (prostaglandines, prostacyclines, thromboxane) semblent inhiber la sécrétion d'insuline, puisque les inhibiteurs de la voie, tels que l'acide acétylsalicylique ou l'indométhacine, potentialisent la sécrétion d'insuline induite par le glucose [9].

Le métabolisme de l'AMP cyclique dans la cellule β permet d'amplifier l'effet des ions Ca^{2+}

L'AMPc lui-même ou les agents qui augmentent l'AMPc intracellulaire — tels que le glucagon, la cholératoxine, la forskoline ou les agonistes β -adrénergiques — ont peu ou pas d'effet sur la sécrétion d'insuline en l'absence ou à faible concentration de glucose. En revanche, dès que la concentration de glucose est suffisamment élevée pour entraîner à elle seule la sécrétion, l'AMPc potentialise la réponse insulinosécrétoire. Comme le glucose n'augmente pas l'AMPc dans la cellule β en l'absence de Ca^{2+} dans le milieu extracellulaire, il a été suggéré que la stimulation de l'adénylcyclase par les nutriments insulinosécréteurs était en fait secondaire à l'augmentation des ions Ca^{2+} dans le cytosol et dépendait de la calmoduline.

Une difficulté dans l'interprétation des résultats obtenus sur îlot isolé, en ce qui concerne la production d'AMPc, réside dans le fait qu'environ 20 % des cellules de l'îlot sont des cellules sécrétrices de glucagon. Les études utilisant des cellules β isolées à partir d'îlots et triées par la méthode d'activation de fluorescence*, ont montré que la réponse insulinosécrétoire au glucose de ces cellules β purifiées était anormalement faible, que le glucose ne provoquait pas d'élévation de l'AMPc intracellulaire, mais que, en revanche, l'exposition au glucagon, ou la réassociation avec des cellules α , rétablis-

* Méthode d'activation de fluorescence : cette technique repose sur l'observation que le contenu en flavine-Adénine dinucléotide (FAD) est élevé dans les cellules β et faible dans les cellules insulaires non β . Les deux populations cellulaires sont identifiées et séparées (analyseur-trieur de cellules) sur la base de leur fluorescence endogène.

sait la réponse sécrétoire au glucose [24] : il a donc été proposé que le glucose ne provoquait pas directement l'augmentation de l'AMPc intracellulaire, mais amplifiait plutôt sa production lorsqu'elle est déjà stimulée par le glucagon ; ce qui signifie aussi que l'AMPc exerce dans ce cas un rôle permissif sur l'action des nutriments insulinosécréteurs.

Les mécanismes par lesquels l'AMPc contrôle la sécrétion d'insuline sont sans doute multiples [9] : (1) il augmenterait la sensibilité aux ions Ca^{2+} des effecteurs de l'exocytose (protéines du cytosquelette ?) ; (2) l'AMPc modulerait, *via* la phosphorylation de certaines protéines, l'activité des canaux calciques et/ou des canaux potassiques ; (3) l'activation d'une protéine kinase dépendante de l'AMPc pourrait induire une réponse lipolytique dans la cellule β (elle contient des triglycérides) et une partie des molécules de DAG libérées pourrait activer la protéine kinase C.

Le glucose, outre son rôle de stimulus primaire, exerce en fait des effets multiples et complexes sur la sécrétion d'insuline

La cinétique de sécrétion de l'insuline est modulée par le glucose

L'amplitude de la réponse insulinaire au glucose n'est pas seulement due à la concentration de glucose présente à chaque instant au niveau de la cellule β , mais dépend de la vitesse à laquelle la concentration de glucose varie [5]. Ainsi, une augmentation brusque du taux de glucose provoque une riposte sécrétoire rapide et transitoire, appelée phase précoce (ou 1^{re} phase) de la sécrétion insulinaire. Elle n'est pas modifiée par l'inhibition de la synthèse d'insuline *in vitro* et est en rapport avec la libération préférentielle de granules sécrétoires directement adjacents à la membrane des cellules β . Cette 1^{re} phase serait provoquée par la fermeture des canaux potassiques et l'ouverture des canaux calciques. La phase tardive (ou 2^e phase) se développe lentement et persiste lorsque le taux de glucose demeure élevé (3-6 heures) (figure 6, p. 224). Cette cinétique biphasique de la sécrétion est détectable *in vitro*

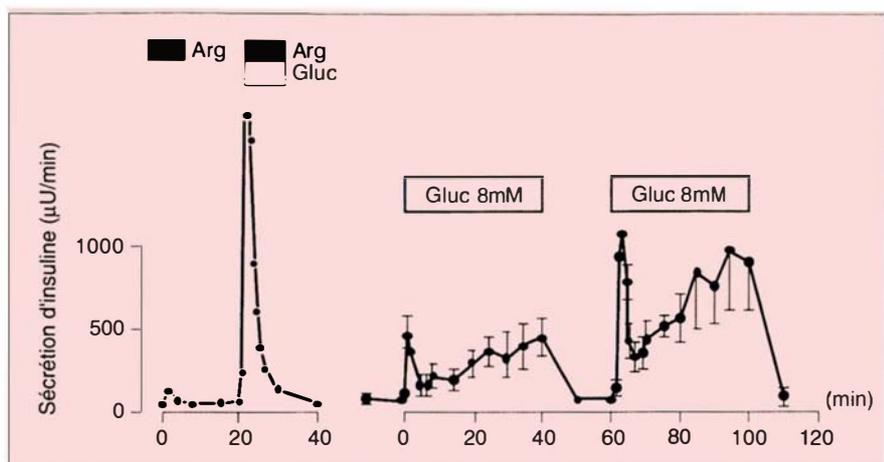


Figure 6. **La sécrétion d'insuline (pancréas perfusé de rat) en réponse à l'arginine (Arg, 5 mM) est fortement amplifiée (potentialisée) par la présence simultanée de glucose (Gluc, 8 mM).** Dans ces expériences et les suivantes, le milieu de perfusion de base contient une concentration non stimulante de glucose (3 mM). La sécrétion d'insuline en réponse au glucose (Gluc, 8 mM) est biphasique. Une deuxième exposition du pancréas à la même concentration de glucose (8 mM), après un délai de repos de 20 minutes, provoque une riposte insulinaire beaucoup plus importante (potentialisation de la réponse aiguë au glucose, par le taux de glucose présent auparavant. (D'après Cerasi E. *Endocrinology* 1987 ; 121 : 1017-24 et *Diabetologia* 1984 ; 26 : 146-9.)

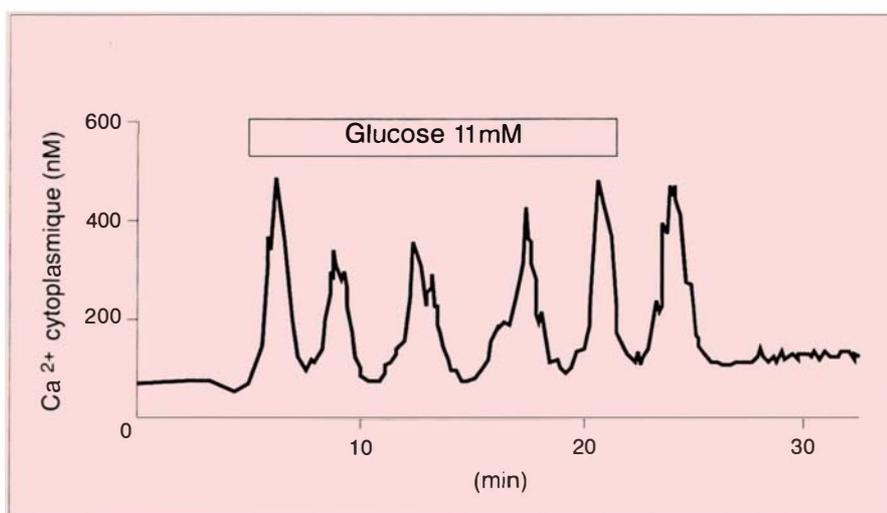


Figure 7. **Effet d'une augmentation de la concentration extracellulaire de glucose de 3 mM à 11 mM sur la concentration cytoplasmique en Ca²⁺ d'une cellule β isolée (estimation avec l'indicateur fluorescent fura 2).** (D'après Hellman B, Gylfe E. *Biochem Biophys Res Commun* 1988 ; 151 : 1299-304.)

(îlots isolés, pancréas isolé), mais elle a été aussi démontrée chez l'homme en situation de *clamp* hyperglycémique.

L'extinction de la sécrétion qui se produit avant la phase dite tardive pourrait être une des conséquences de l'élévation transitoire du calcium cytosolique (réouverture des canaux membranaires potassiques dépendant du calcium). La phase tardive de sécrétion reflète l'exocytose de granules matures, mais aussi de granules en cours de synthèse, puisque la sécrétion durant la phase tardive est partiellement freinée par les inhibiteurs de la synthèse d'insuline. On sait en outre que l'insuline nouvellement élaborée par la cellule β est sécrétée de façon préférentielle durant l'exposition chronique à des niveaux élevés de glucose.

Par ailleurs, il a été récemment montré que le glucose induisait des oscillations (périodicité de 5 min environ) de la concentration cytosolique de Ca²⁺ dans la cellule β isolée [25] (figure 7). Ces oscillations apparaissent déterminées par des bouffées de potentiel d'action induites par l'exposition au glucose. Ces oscillations du calcium cytosolique sont en effet dépendantes de l'entrée d'ions Ca²⁺ par les canaux sensibles au voltage (elles disparaissent en présence de D600 ou en présence de diazoxyde) et il vient d'être montré que ces oscillations disparaissent en présence d'un agent diabétogène (streptozotocine) [25]. De telles oscillations pourraient rendre compte (périodicité analogue) du caractère pulsatile de la sécrétion d'insuline tel qu'il vient d'être identifié au niveau de l'îlot isolé. Enfin, la perturbation de ces oscillations pourrait jouer un rôle physiopathologique lors de l'altération de l'insulinosécrétion chez les diabétiques non insulino-dépendants : il a été en effet rapporté que le caractère pulsatile de la sécrétion d'insuline disparaît très précocement chez les patients développant un diabète non insulino-dépendant (ou diabète de type 2) [26].

La cellule β mémorise le taux de glucose ambiant (effet potentialisateur et effet mémoire)

Non seulement le glucose stimule directement la sécrétion d'insuline,

mais il influence aussi l'amplitude de la riposte sécrétoire aux autres sécrétagogues (hormones, sulfonyles, acides aminés) [27] (figure 6). La riposte insulinaire à l'un de ces signaux se trouve amplifiée (potentialisée) quand le taux de glucose présent au niveau des cellules β est plus élevé. Il s'agit là d'un mécanisme important pour le contrôle physiologique de la sécrétion d'insuline *in vivo* (cas d'un repas mixte protéines/glucides). En outre, l'appréciation de cette faculté qu'a le glucose de potentialiser la réponse sécrétoire à d'autres agents non glucidiques fournit un moyen fin de détecter précocement le dysfonctionnement sécrétoire des cellules β dans le diabète de type 2. La potentialisation par le glucose semble en effet disparaître très tôt dans cette maladie [28].

La réponse de la cellule β à une stimulation aiguë par le glucose dépend aussi de la concentration de glucose qui baignait au préalable la cellule : elle sera d'autant plus forte que la concentration de glucose à laquelle elle était exposée auparavant, était plus élevée (*priming effect*) [27] (figure 6). Les bases moléculaires de la potentialisation et de l'effet mémoire ne sont pas connues.

La cellule β peut perdre sa capacité à répondre au glucose (désensibilisation)

Il a été proposé que l'exposition de l'organisme à une hyperglycémie chronique (du type de celles observées au cours des diabètes) pouvait conduire à une diminution de la sensibilité de la cellule β à la stimulation par le glucose [29]. Cette idée d'un effet toxique direct de l'hyperglycémie (« glucotoxicité ») a été suggérée sur la base d'observations obtenues d'abord avec divers modèles animaux de diabète [30-32]. Elle a été reprise pour rendre compte : 1) des résultats obtenus lorsqu'on analyse *in vitro* le fonctionnement des cellules β chez le rat normal exposé *in vivo* à une hyperglycémie de quelques jours [30] ; 2) de l'effondrement de la sécrétion d'insuline en réponse au glucose, observé *in vitro* après 6 à 8 heures d'exposition des cellules β normales à une concentration élevée de glucose (notion de « 3^e phase » proposée par Grodsky [33]).

En fait, cette interprétation des résultats obtenus chez l'animal non diabétique, ou sur des cellules β *in vitro*, a été récemment remise en question [34-35]. Il serait plutôt raisonnable de considérer que la désensibilisation des cellules β , lorsqu'elle est observée, n'est pas due à un simple effet direct sur la cellule β de l'hyperglycémie [35] et qu'elle ne s'exerce véritablement que dans les situations où la population de cellules β dans le pancréas est diminuée (diabète de type 2) [32, 36].

Conclusion

En conclusion, à la fin de cet inventaire des propriétés fonctionnelles majeures de la cellule β , il convient de ne pas perdre de vue que l'ensemble des cellules β fonctionne de façon intégrée au sein d'un micro-organe très élaboré, l'îlot de Langerhans. Il existe en effet des interactions fonctionnelles entre les différents types de cellules insulaires (α , β , δ et PP) avec les caractéristiques suivantes : le produit de sécrétion d'un type cellulaire peut influencer la fonction d'un autre type cellulaire ; il existe une topographie particulière des différents types cellulaires au sein de l'îlot ; des jonctions membranaires ont été décrites entre cellules endocrines homologues et hétérologues ; au sein même de la masse des cellules β , des sous-populations fonctionnellement différentes ont été identifiées ; certaines réagissent aux augmentations de glucose et d'autres restent insensibles au stimulus glucosé. L'ensemble de ces propriétés, qui commencent seulement à être répertoriées, contribuent à faire de l'îlot de Langerhans un système remarquablement équipé pour régler l'utilisation des carburants et, au premier chef, du glucose ■

TIRÉS A PART

B. Portha.

Summary

Physiology of the pancreatic β cell

Insulin production by the β cell is controlled by circulating nutrients, especially glucose. It is also modulated by various hormones and neurotransmitters and can be influenced by pharmacological agents. Glucose-stimulation of insulin biosynthesis results from the combined effects of selectively increased transcription of the insulin gene and a selective stabilization of preproinsulin mRNA. Immediate stimulation of insulin release by glucose is thought to be mediated by a sequence of metabolic, ionic and motile events. The process by which glucose is recognized as a stimulus mainly depends on the metabolic changes evoked by the sugar in the β cell. Glycolysis is the major pathway of this metabolism, but a stimulation of oxidative mitochondrial events also plays a prominent role. These metabolic changes lead to closure of ATP-sensitive K^+ channels in the plasma membrane. The resulting decrease in K^+ conductance causes depolarization with activation of voltage-dependent Ca^{2+} channels. The ensuing influx of Ca^{2+} increases the concentration of cytoplasmic Ca^{2+} . This activates an effector system (protein-kinases, cytoskeleton) which promotes exocytosis of insulin granules. The neurohormonal amplification of insulin release involves several messengers : cyclic AMP which enhances the triggering signal (Ca^{2+} influx) and sensitizes the effector system to the action of Ca^{2+} by activating protein kinase A ; diacylglycerol which sensitizes the effector system by activating protein kinase C ; inositol 1,4,5-trisphosphate which mobilizes cellular Ca^{2+} .