

TITRE : Contrôle de l'équilibre rédox mitochondrial et cytosolique par les nutriments et plasticité fonctionnelle des cellules β pancréatiques en conditions normales et de stress métabolique

Objectifs - Le but de ce projet est *i)* de comprendre comment les nutriments contrôlent, à court et long termes, l'oxydation des thiols (et en particulier du glutathion) et la concentration en H_2O_2 dans divers compartiments des cellules β pancréatiques, et *ii)* d'évaluer le rôle de ces modifications dans la SSIG et dans les altérations de survie, d'expression de gènes et de fonction sécrétoire des cellules β exposées à un stress métabolique.

Questions posées - Quel est l'impact d'une modulation d'expression de la Nicotinamide Nucléotide Transhydrogénase (NNT) sur le couplage stimulation-sécrétion en condition normale et sur le maintien de la fonction et de la survie des cellules β en condition de stress métabolique

Déroulement du projet

	2016	2017
1. NNT et couplage stimulation-sécrétion dans les cellules β	X	
2. NNT et plasticité des cellules β (long-terme)	X	X
3. Rôle des PRX3/5 et SRX1 (optionnel)		X
4. Confirmation dans les cellules β humaines	X	X

La première partie du projet fait l'objet d'un article focalisé sur le fonctionnement inhabituel de la NNT dans les cellules bêta et son rôle dans la voie déclenchante et amplificatrice de la sécrétion d'insuline en réponse au glucose. L'abstract en anglais est joint ci-dessous. Un second article tentant d'identifier la cause du défaut de sécrétion dans les cellules bêta dont la NNT est inactive est en préparation. Les souris N5B6J qui ne diffèrent des souris C57BL/6J que par la présence de la NNT fonctionnelle sont maintenant disponibles pour la réalisation des expériences planifiées en 2017 pour la seconde partie du projet.

L'étude des effets des nutriments sur la concentration cytosolique et mitochondriale en peroxyde d'hydrogène dans les îlots pancréatiques de rongeurs fait l'objet d'un article en préparation.

L'étude de l'oxydation des sondes cytosoliques et mitochondriales dans les îlots humains a bien progressé, les résultats seront intégrés dans une étude complète des effets d'une culture d'une semaine à différentes concentrations de glucose sur la survie, l'expression des gènes, l'état rédox et le couplage stimulation-sécrétion. Ces résultats seront publiés dans le courant de cette année.

Title: A reverse mode of operation of NNT controls metabolic responses to glucose in mouse β -cells

Authors: Laila RB Santos, Carole Muller, Arnaldo H de Souza, Hilton K Takahashi, Peter Spégel, Ian R. Sweet, Heeyoung Chae, Hindrik Mulder, and Jean-Christophe Jonas

Abstract: The glucose stimulation of insulin secretion (GSIS) by pancreatic β -cells critically depends on increased production of metabolic coupling factors, including NADPH. Nicotinamide nucleotide transhydrogenase (NNT) typically produces NADPH at the expense of NADH and ΔpH in energized mitochondria. Its spontaneous inactivation in C57BL/6J mice was previously shown to alter ATP production, Ca^{2+} influx and GSIS, thereby leading to glucose intolerance. Comparing islets from C57BL/6N (with functional NNT) and C57BL/6J mice, we show that NNT is largely responsible for the acute glucose-induced rise in islet NADPH/NADP⁺ ratio and decrease in mitochondrial glutathione oxidation (measured with the glutathione redox probe GRX1-roGFP2), with a small impact on cytosolic glutathione. However, contrary to current views on NNT in β -cells, these effects resulted from a glucose-dependent reduction in NADPH consumption by NNT reverse operation, rather than from increased NADPH production by NNT forward operation. Moreover, the lack of NNT in C57BL/6J β -cells did not affect the glucose-stimulation of Ca^{2+} influx and upstream coupling events, but markedly reduced both phases of GSIS by altering Ca^{2+} -induced exocytosis or its metabolic amplification.