

m/s

médecine/sciences 1994 ; 10 : 791-4

MULTIDISCIPLINARITÉ ET PROGRÈS DANS LE DIABÈTE

Philippe Vague

RÉFÉRENCES

1. Baekkeskov S, Aanstoot AJ, Christgau S, Reetz A, Solmena M, Cascálho M, Folli F, Richter-Olesen H, de Camilli P. Identification of the 64 K autoantigen in insulin-dependent diabetes as the GABA synthesizing enzyme glutamic acid decarboxylase. *Nature* 1990 ; 347 : 151-6.
2. Bjork E, Velloso LA, Kampe O, Karlsson FA. GAD autoantibodies in IDDM, stiff-man syndrome, and autoimmune polyendocrine syndrome type 1 recognize different epitopes. *Diabetes* 1994 ; 43 : 161-5.
3. Kostraba JN. What can epidemiology tell us about the role of infant diet in the etiopathology of IDDM. *Diabetes Care* 1994 ; 17 : 87-91.
4. Gerbitz KD. Does the mitochondrial DNA plays a role in the pathogenesis of diabetes. *Diabetologia* 1992 ; 35 : 1181-6.
5. Kadowaki T, et al. A subtype of diabetes mellitus associated with a mutation in mitochondrial DNA. *N Engl J Med* 1994 ; 330 : 962-8.
6. Roy S, Sala R, Calgiero E, Lorenzi M. Overexpression of fibronectin induced by diabetes or high glucose : phenomenon with a memory. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990 ; 87 : 404-8.
7. Galloway JA. New directions in drug development : mixture, analogue and modeling. *Diabetes Care* 1993 ; 16 : 16-23.
8. Reach G. Bioartificial pancreas. *Diabetic Med* 1993 ; 10 : 105-9.
9. Newgard CB. Cellular engineering and gene therapy strategies for insulin replacement in diabetes. *Diabetes* 1994 ; 43 : 341-50.

ADRESSE ET TIRÉS À PART

P. Vague : professeur de nutrition. Service de nutrition, maladies métaboliques, endocrinologie, CHU Timone, 13385 Marseille Cedex 5, France.

m/s n° 8/9 vol. 10, août-septembre 94

Peu de maladies paraissent avoir bénéficié autant que le diabète des progrès accomplis par une collaboration entre diverses disciplines. On en voudra pour preuve les nombreux prix Nobel décernés pour leur contribution dans ce domaine à un chirurgien orthopédiste, Banting, des chimistes, Sanger et les Cori, un physiologiste, Houssaye, une immunologiste, Yalow, pour la découverte de l'insuline, la caractérisation de sa structure chimique, des étapes biochimiques du métabolisme du glucose, de sa régulation par les hormones hypophysaires, enfin le développement des dosages radioimmunologiques à partir de celui de l'insuline. Plus près de nous, c'est à la suite de la constatation par un infectiologue, Janbon, à Montpellier en 1942, d'hypoglycémies survenues chez les typhiques traités par un sulfamide qu'un physiologiste, Loubatières, ouvrit la voie thérapeutique des sulfamides hypoglycémifiants.

Sans les sous-estimer, nous ne développerons pas ici les progrès spectaculaires obtenus dans le traitement des patients diabétiques grâce à la collaboration des diabétologues et des spécialistes de diverses disciplines. La collaboration avec les obstétriciens a permis au pronostic de la grossesse de devenir à peu près le même chez les femmes diabétiques et non diabétiques, celle avec les néphrologues a permis de retarder l'évolution de l'insuffisance rénale,

celle avec des spécialistes de l'éducation d'optimiser la prise en charge de la maladie par le patient lui-même. De même, le développement de la chimie sèche, qui permet à chacun de mesurer instantanément sa glycémie, a révolutionné la vision que le diabétique avait de sa maladie et sa façon de se soigner.

Si le diabète a tant bénéficié d'une approche multidisciplinaire, c'est qu'il peut être abordé sous de nombreux angles. C'est, en effet, une maladie hétérogène, dont les formes multiples sont en relation avec des mécanismes de transmission génétique divers et des mécanismes physiopathologiques totalement différents. L'hyperglycémie est l'expression phénotypique de la maladie : quelle que soit sa cause, elle entraîne de nombreuses perturbations métaboliques, fonctionnelles, anatomiques, qui sont autant de tentatives d'adaptation, et, *in fine*, de complications de la maladie. Enfin, et en raison même de cette hétérogénéité, les possibilités d'approches thérapeutiques de la maladie sont très variables.

Dans cette perspective des progrès de la diabétologie liés à son approche multidisciplinaire, nous nous limiterons à quelques exemples pour essayer d'éviter de n'écrire qu'un catalogue. La recherche en diabétologie s'oriente dans trois directions : comprendre les mécanismes qui mènent au diabète, comprendre, pour le contrer, l'effet délétère de l'hyperglycémie, déve-

lopper des thérapeutiques pour normaliser la glycémie du diabétique.

Génétique et étiopathogénie

Épidémiologistes et cliniciens ont bien démontré l'existence de deux grandes formes de diabète. Le diabète de type 1 (insulinodépendant) est la conséquence de la destruction spécifique des cellules β des îlots de Langerhans sécrétant l'insuline ; une susceptibilité génétique, liée au système HLA, autorise une agression auto-immune sous l'influence vraisemblable d'un agent d'environnement. On a montré une association très forte entre la présence du diabète et certains allèles des molécules HLA de classe II, tout particulièrement de la chaîne DQ β , et identifié un polymorphisme en position 57 de cette chaîne. Les allèles porteurs d'un résidu aspartique en position 57 ne sont pas associés au diabète (haplotypes protecteurs), et le risque relatif associé à l'homozygotie « non Asp » est supérieur à 100. Or, l'acide aminé occupant la position 57 est un constituant de la poche de la molécule de classe II dans laquelle se fixe l'antigène à présenter. Un changement de charge pourrait modifier la structure du site et altérer la reconnaissance de l'antigène. Le (ou les) autoantigène(s) en cause ne sont pas encore identifiés avec certitude. La confrontation de deux expériences, dans deux maladies différentes, a été déterminante pour progresser dans cette identification : (1) en recherchant des antigènes susceptibles de se lier aux autoanticorps antimembranes d'îlots de Langerhans présents chez les diabétiques de type 1 ou dans la phase préclinique de la maladie, Baekkeskov isola en 1982 une protéine de 64 kDa par immunoprécipitation de membranes d'îlots humains marquées à la ^{35}S méthionine ; (2) en 1988, on trouva dans le sérum de patients atteints de syndrome de l'homme raide (*stiff man syndrome*) des autoanticorps dirigés contre l'acide glutamique décarboxylase (GAD), enzyme de la biosynthèse de l'acide γ -aminobutyrique (GABA), présente dans les neurones,

mais aussi dans d'autres tissus, dont on connaît deux isoformes, la GAD 65 et la GAD 67, codées par des gènes différents. Or 20 % des patients atteints du syndrome de l'homme raide présentaient un diabète insulinodépendant. En 1990, l'autoantigène 64 kDa fut identifié à l'isoforme GAD 65, mise en évidence dans la membrane des cellules β , et l'homologie des deux autoantigènes prouvée [1]. Mais diabète et syndrome de l'homme raide sont deux maladies différentes. Un pas de plus fut franchi lorsqu'il fut montré que les autoanticorps anti-GAD diffèrent dans les deux maladies par les épitopes reconnus, indiquant qu'au début de la maladie l'autoantigène est présenté au système immunocompétent selon des mécanismes différents, ce qui peut expliquer la différence des conséquences cliniques [2].

Plusieurs études épidémiologiques des facteurs d'environnement susceptibles de favoriser l'apparition du diabète, en particulier infectieux, ont montré un effet protecteur de l'allaitement maternel, connu pour diminuer la fréquence de survenue des maladies infectieuses. Parallèlement, des similitudes entre une protéine de la surface des cellules β et une séquence peptidique de l'albumine bovine étaient démontrées : on trouve des anticorps dirigés contre la lactalbumine bovine chez les enfants diabétiques et l'hypothèse a été formulée que, par mimétisme moléculaire, un fragment de lactalbumine bovine mal digérée par le tube digestif immature du nourrisson pourrait jouer un rôle initiateur de la réaction auto-immune [3]. Cela n'est toutefois qu'une hypothèse intéressante qui a le mérite de mettre l'accent sur les facteurs d'environnement, en particulier nutritionnels, dans la pathogénie du diabète de type 1.

Tout différents sont les mécanismes conduisant au diabète de type 2 (non insulinodépendant), longtemps considéré comme un cauchemar par les généticiens en raison de son hétérogénéité, bien que la concordance quasi absolue

entre jumeaux monozygotes ait affirmé le déterminisme génétique de cette maladie.

L'étude d'une forme rare à transmission autosomique dominante, sans doute bénigne, a permis à P. Froguel d'identifier, à l'origine de la maladie, des mutations sur le gène de la glucokinase, enzyme limitante de l'utilisation du glucose par les cellules β pancréatiques (*m/s n°6, vol. 8, p. 600*). Les progrès réalisés dans ce domaine par la collaboration entre généticiens, épidémiologistes et diabétologues sont décrits dans l'article de P. Froguel *et al.* (p. 795 de ce numéro).

Mais les mécanismes conduisant à l'hyperglycémie du diabète de type 2 sont très hétérogènes : anomalie de l'insulinosécrétion et, tout particulièrement, insensibilité des cellules β au stimulus glucose ; résistance tissulaire à l'action de l'insuline ; ou combinaison des deux mécanismes. Ces deux types d'anomalies peuvent être, soit d'origine génétique, soit induites par l'hyperglycémie chronique elle-même, phénomène auquel on a donné le nom de glucotoxicité. En dépit de l'étude de très nombreux modèles de rats ou de souris présentant, spontanément ou après manipulation de leur génome, un syndrome diabétique non insulinodépendant, nous ne disposons pas de modèle vraiment semblable au diabète humain de type 2, d'où l'importance des études faites chez l'homme. Le progrès technologique résultant de l'utilisation d'isotopes stables pour l'étude des voies métaboliques chez l'homme a permis de préciser la localisation de l'insulinorésistance au niveau du tissu hépatique, producteur de glucose, et du tissu musculaire, utilisateur de glucose. L'identification et la caractérisation de récepteurs de l'insuline, l'utilisation de chimères des récepteurs ou de récepteurs mutés, ont permis de préciser les anomalies en cause dans cette résistance, au niveau du récepteur de l'insuline et, surtout, de la transmission du signal à l'intérieur de la cellule, des diverses voies métaboliques du glucose dans la cellule ou du transport

teur de celui-ci à travers la membrane. Ces données physiopathologiques ouvrent des voies à une intervention pharmacologique sur cette transmission imparfaite des signaux. Mais les mécanismes que nous venons de décrire concernant les diabètes de type 1 et de type 2 ne résument pas l'ensemble des causes du diabète. Une nouvelle perspective vient de s'ouvrir avec la démonstration que certains diabètes pouvaient relever d'une affection mitochondriale [4]. Un déficit primitif du métabolisme mitochondrial, et donc de la chaîne respiratoire oxydative, se traduit par l'atteinte de tissus variés à fort métabolisme oxydatif, principalement les muscles et le système nerveux. L'ADN codant pour les enzymes de la chaîne respiratoire est en partie d'origine nucléaire et en partie mitochondrial. La tête du spermatozoïde participant au processus de fécondation étant dépourvue de mitochondries, le génome mitochondrial est d'origine exclusivement maternelle. Des délétions ou mutations de l'ADN mitochondrial ont été décrites dans diverses maladies neuromusculaires. Récemment, l'étude de familles dans lesquelles un diabète était associé à des stigmates de maladie mitochondriale a permis de décrire le remplacement d'une adénine par une guanine en position 3243 du gène de l'ARN de transfert de la leucine. Cette mutation spécifique a été retrouvée dans des familles où le diabète, transmis par voie maternelle, était associé à une surdité (*m/s n°2, vol. 7, p. 172 et n°9, vol. 8, p. 1001*). Les épidémiologistes ont démontré que le diabète non insulino-dépendant est de transmission maternelle préférentielle ; différentes délétions ou mutations pouvant être pathogènes, et l'ADN mitochondrial étant fragile et susceptible de se modifier avec le vieillissement, l'hypothèse a été avancée que de nombreux diabètes pourraient être secondaires à une anomalie du génome mitochondrial. Des études menées dans des familles de diabétiques ont montré

une prévalence d'anomalies de l'ADN mitochondrial de 2 % à 5 %. L'hétéroplasmie du génome mitochondrial, le fait que les études de dépistage n'aient été effectuées que sur des cellules sanguines et que l'analyse de cet ADN soit encore loin d'être complète, n'interdisent pas de penser qu'une mitochondriopathie puisse jouer un rôle dans un grand nombre de diabètes familiaux de type 2. Une nouvelle forme de diabète est donc en train de trouver sa place tant sur le plan génétique qu'étiologique.

Conséquences de l'hyperglycémie

Les études cliniques ont montré que les complications tardives spécifiques du diabète étaient la conséquence de l'hyperglycémie chronique et de sa durée. Une « mémoire » de l'hyperglycémie existe, ses effets pouvant persister après l'amélioration du contrôle glycémique, mais les différences individuelles de susceptibilité à développer certaines complications, principalement néphropathie et neuropathie, sont à prendre en compte. Les progrès dans les techniques d'étude de la machinerie intracellulaire et intramembranaire, de la biochimie structurale, de la biologie moléculaire et de l'étude de l'expression génique, ont permis de préciser au moins trois mécanismes majeurs des effets de l'hyperglycémie (mais il en existe d'autres) et, par là, d'ouvrir la voie à des interventions thérapeutiques. L'élévation de la concentration du glucose intracellulaire accélère la voie dite des polyols, modifie le métabolisme du myoinositol et, par toute une cascade d'altérations enzymatiques et de la composition lipidique membranaire, peut expliquer le développement de complications telles que la cataracte ou la neuropathie. Des inhibiteurs de l'aldose réductase, enzyme limitante de la voie des polyols, sont efficaces chez l'animal. Des essais cliniques sont en cours chez l'homme. La glycation non enzymatique, accrue par la concentration élevée

du glucose, modifie la structure et la fonction de protéines variées ; elle provoque des accrochages entre protéines, analogues *in vivo* des produits de Maillard, connus en technologie alimentaire ; il s'agit de produits avancés de glycation, AGE (*advanced glycation end product*), responsables du « vieillissement » des protéines structurales. Ces produits se lient à des récepteurs spécifiques du macrophage qui, après activation, les élimine. Nombreux sont leurs autres effets délétères qui participent au processus de vieillissement accéléré lié à l'hyperglycémie chez le diabétique. Auto-entretenu, même après normalisation glycémique, la formation de liaisons croisées entre protéines et la cascade d'événements qui en découlent, peuvent expliquer partiellement la « mémoire » de l'hyperglycémie. Des substances, dont l'aminoguanidine est le chef de file, empêchent la formation d'AGE. L'aminoguanidine a fait la preuve de son efficacité pour prévenir les complications du diabète chez l'animal ; elle est à l'étude chez l'homme. Le glucose augmente l'expression génique de nombreux facteurs, modifiant, entre autres, la constitution de la membrane basale, l'interface endothélium-matrice, ainsi que l'activité de nombreuses enzymes impliquées dans les voies métaboliques. L'effet transcriptionnel du glucose peut être indirect, par le biais de la stimulation de la sécrétion d'insuline, mais aussi direct dans certains types cellulaires, peut-être *via* la glycation de molécules spécifiques. Dans le diabète de type 2, l'hyperglycémie peut s'accompagner de taux d'insuline élevés, normaux ou abaissés, dépendant du poids corporel ; on conçoit donc l'hétérogénéité et la diversité des complications d'un sous-groupe de patients à l'autre. Quant à la mémoire de l'hyperglycémie, elle peut s'expliquer par le fait que la surexpression génique induite par le glucose se poursuit, tout au moins dans certains modèles et pour certains ARN messagers, après que la concentration en glucose du milieu de culture a été normalisée [5]. Les généticiens se penchent sur la recherche de polymorphismes allé-

liques pour expliquer la prédisposition, ou la protection, de certains individus vis-à-vis des complications.

Perspectives thérapeutiques

Perfectionner l'insulinothérapie pour la rendre moins contraignante et plus physiologique reste l'objectif primordial du traitement du diabète de type 1 en 1994. Des progrès technologiques ont permis d'avancer dans deux directions.

Chez le sujet normal, l'insulinémie s'élève rapidement après un repas, en trente minutes environ, pour revenir à son niveau basal en deux à quatre heures. Ces variations rapides sont nécessaires pour permettre l'adaptation des métabolismes aux influences extérieures : repas, exercice physique musculaire, par exemple. L'insuline exogène, injectée sous la peau, se résorbe beaucoup plus lentement, d'une part en raison de facteurs locaux, mais surtout parce que, très concentrée, elle se trouve sous forme hexamérique par accolement deux à deux de molécules d'insuline puis formation d'hexamères en rosace autour d'atomes de zinc. Les efforts de recherche en galénique de l'insuline visent à obtenir des molécules monomériques en solution concentrée. Les ressources de la cristallographie des peptides aux rayons X, la modélisation de molécules en trois dimensions sur ordinateur et les techniques de biologie moléculaire ont permis de fabriquer des analogues de l'insuline comportant des mutations des acides aminés qui interviennent dans la formation des dimères et sont situés hors de la zone de liaison de l'hormone à son récepteur. Plus de trente analogues ont été synthétisés [7]. On est au stade des essais cliniques de phase III pour l'un d'entre eux dont la résorption rapide par voie sous-cutanée permet de mimer la sécrétion physiologique. Les progrès réalisés dans le domaine des matériaux implantables, qui ont permis le développement des stimulateurs cardiaques, des pompes implantées pour le traitement de la douleur ou l'administration d'antimitotiques, ont conduit plusieurs com-

pagnies à s'engager dans le développement de pompes à perfusion d'insuline, programmables et implantées. L'intérêt de ces pompes au fonctionnement réglé par télécommande est, non seulement de délivrer le patient de la contrainte des injections d'insuline, mais aussi de pouvoir administrer l'insuline par voie péritonéale : son absorption a lieu au niveau du système porte, et elle arrive directement au foie, comme l'insuline sécrétée par le pancréas endocrine.

Il s'agit toutefois de progrès à court ou moyen terme. À plus long terme, de grands espoirs sont placés dans le remplacement des cellules β détruites. Plus que la greffe de pancréas, ou d'îlots de Langerhans isolés, la collaboration de diverses disciplines permet d'envisager la fabrication d'un pancréas bioartificiel [8]. Son principe est de transplanter des îlots de Langerhans non syngéniques, en les séparant du milieu intérieur par une membrane semi-perméable : perméable au glucose, aux nutriments et à l'insuline, elle est imperméable aux anticorps et aux cellules, prévenant ainsi le rejet immunitaire.

La greffe de pancréas, théoriquement susceptible de normaliser la glycémie, exigerait une immunosuppression, même si elle était pratiquée à partir d'un jumeau monozygote (reviviscence possible de l'agression auto-immune).

La greffe d'îlots isolés est séduisante, le pancréas exocrine étant non seulement inutile, mais encore source de difficultés. Cependant, outre les problèmes liés à l'immunosuppression, la greffe d'îlots se heurte à l'obstacle du manque de tissu : il est difficile, à partir d'un seul pancréas humain, d'obtenir suffisamment d'îlots pour greffer un patient, et le grand nombre de sujets diabétiques insulinodépendants en face de la pénurie de donneurs empêche d'imaginer qu'il s'agira là d'un traitement de routine. L'utilisation d'îlots animaux, en particulier de porcs, dont la glyco-régulation est très semblable à celle de l'homme, s'impose à l'esprit ; mais la greffe xénogénique exige une immunoprotection parfaite.

La collaboration avec des ingénieurs experts dans la biocompatibilité des matériaux, l'expérience acquise dans le domaine de la microdialyse ont permis à des équipes multidisciplinaires d'imaginer et de développer trois types de pancréas bioartificiels : (1) le premier est un système « vascularisé » dans lequel les îlots sont placés à l'intérieur d'une fibre creuse, connectée aux vaisseaux, dans laquelle circule le sang. L'hémocompatibilité n'en est cependant pas encore établie ; (2) les îlots de Langerhans peuvent être encapsulés à l'intérieur d'un organe artificiel, par exemple sous forme de fibres, mais outre la biocompatibilité, se pose le problème de la géométrie et de la dimension de ce système ; (3) un ou deux îlots peuvent être microencapsulés dans une particule faite de molécules d'alginate solidarisées par des polylysines et les îlots encapsulés sont alors injectés dans une veine épiploïque pour aller se fixer dans le foie. De nombreux problèmes restent encore à régler, en particulier pour éviter le développement d'une fibrose autour de ces microparticules et assurer une cinétique de sécrétion et de diffusion de l'insuline comparable à la sécrétion physiologique. C'est sans doute le système le plus prometteur.

Enfin, les importants progrès récents en biologie cellulaire ont permis de mieux connaître les mécanismes par lesquels le glucose stimule la sécrétion d'insuline ; on peut envisager d'établir des lignées cellulaires modifiées qui reproduiraient fidèlement la sécrétion d'insuline des cellules β normales, réglée par le glucose ; si elles s'avèrent stables dans leur fonction, elles pourraient être alors utilisées, soit directement, soit après microencapsulation [9].

La rapidité et l'aisance de la communication facilitent les collaborations multidisciplinaires. Les diabétiques, qui représentent près de 2 % de la population française, devraient bénéficier rapidement des progrès réalisés dans le domaine de la génétique et de l'étiopathogénie pour la prévention et le traitement de cette maladie ■