Dépôts amyloïdes chez les diabétiques

Formation des fibres amyloïdes

Une des caractéristiques de l'IAPP est **la possibilité de former des fibres amyloïdes** grâce à la séquence fibrillogène AILS au cours de certaines pathologies, notamment le diabète NID. Ces fibres sont des produits de type dégénératifs. Elles sont à l'origine de dépôts et des différences apparaissent quant à leur localisation chez des animaux appartenant à des familles différentes. Ainsi, chez le singe et le chat les dépôts amyloïdes sont extracellulaires en bordure des cellules B, à proximité des capillaires.

Chez la souris transgénique exprimant les gènes de l'IAPP humain, la formation de fibres amyloïdes est à la fois intra et extracellulaire avec une polymérisation débutant à l'extérieur de la cellule alors que chez l'homme les dépôts sont surtout intracellulaires. Cette disposition intracytoplasmique est également retrouvée chez le lapin après ligature du canal pancréatique, ce qui rapproche encore ce modèle injustement méconnu des phénomènes observés chez l'Homme. Chez ce dernier, la formation de fibrilles amyloïdes peut être obtenue à partir de fragments de l'IAPP comportant 5 (IAPP 23-27) ou 6 (IAPP 22-27) acides aminés et contenant la séquence AIL. Bien qu'ils ne différent que par un seul acide aminé, ces deux peptides ne polymérisent pas de la même façon: alors que l'hexa-peptide forme des fibrilles par allongement et enroulement réciproque, le penta-peptide polymérise latéralement pour former de larges rubans. Toutes les fibres formées sont cependant cytotoxiques *in vitro* pour les cellules B pancréatiques.

Les fibres amyloïdes formées a partir de l'IAPP dans le pancréas ont une structure secondaire caractérisée par la formation de feuillets β plissés. **Des dépôts amyloïdes présentant une structure comparable, de forme fibrillaire, sont impliqués dans de nombreuses pathologies dégénératives** telles que maladie d'Alzheimer, amyloïdoses, encéphalopathies spongiformes, polyneuropathies, angiopathie amyloïde cérébrale héréditaire, carcinome médullaire de la thyroïde ainsi qu'une dizaine d'amyloïdoses (il est à noter qu'il existe des formes amyloïdes non fibrillaires de type composant-P).

Ces pathologies sont liées à **un repliement incorrect de peptides ou de protéines** qui forment des fibres: la formation de fibres amyloïdes in vivo concerne 16 peptides ou protéines humaines qui peuvent s'assembler anormalement pour former des fibres de 60 à 100 Å et devenir généralement neurotoxiques. Ceci implique un changement de conformation spatiale qui conduit à la formation d'un intermédiaire de repliement à partir

duquel peuvent se former par autoassemblage des fibrilles amyloïdes. Ce changement de conformation a été particulièrement étudié pour la β-protéine PrP impliquée dans la maladie d'Alzheimer et pour la transthyrétine (*protéine plasmatique assurant le transport de la thyroxine par fixation directe de l'hormone et celui du rétinol par association indirecte avec la protéine qui fixe le rétinol - cette protéine peut se transformer en structure amyloïde et conduit ainsi tardivement (80 ans environ) à une amyloïdose systémique sénile*).

La constitution des fibres amyloïdes implique **une transition de l'IAPP entre un état soluble et sa forme fibrillaire, insoluble, présentant une structure secondaire riche en feuillets** β. Cette transition conformationnelle débuterait à partir d'une forme "fibrillogène" de l'IAPP, partiellement repliée en feuillets β, et qui serait présente en même temps et en équilibre avec la forme "afibrillogène" de l'IAPP. In vitro, la formation des fibres débute par un processus de nucléation à partir du précurseur bêta, processus qui s'accélère ensuite fortement quand la polymérisation est lancée. Toute altération de cet équilibre entre les deux géométries des conformères de l'IAPP pourrait donc entraîner la polymérisation de fibres amyloïdes. On retrouve ici un effet pathogène causé par un changement de conformation d'un peptide, tout comme dans les maladies à prions...

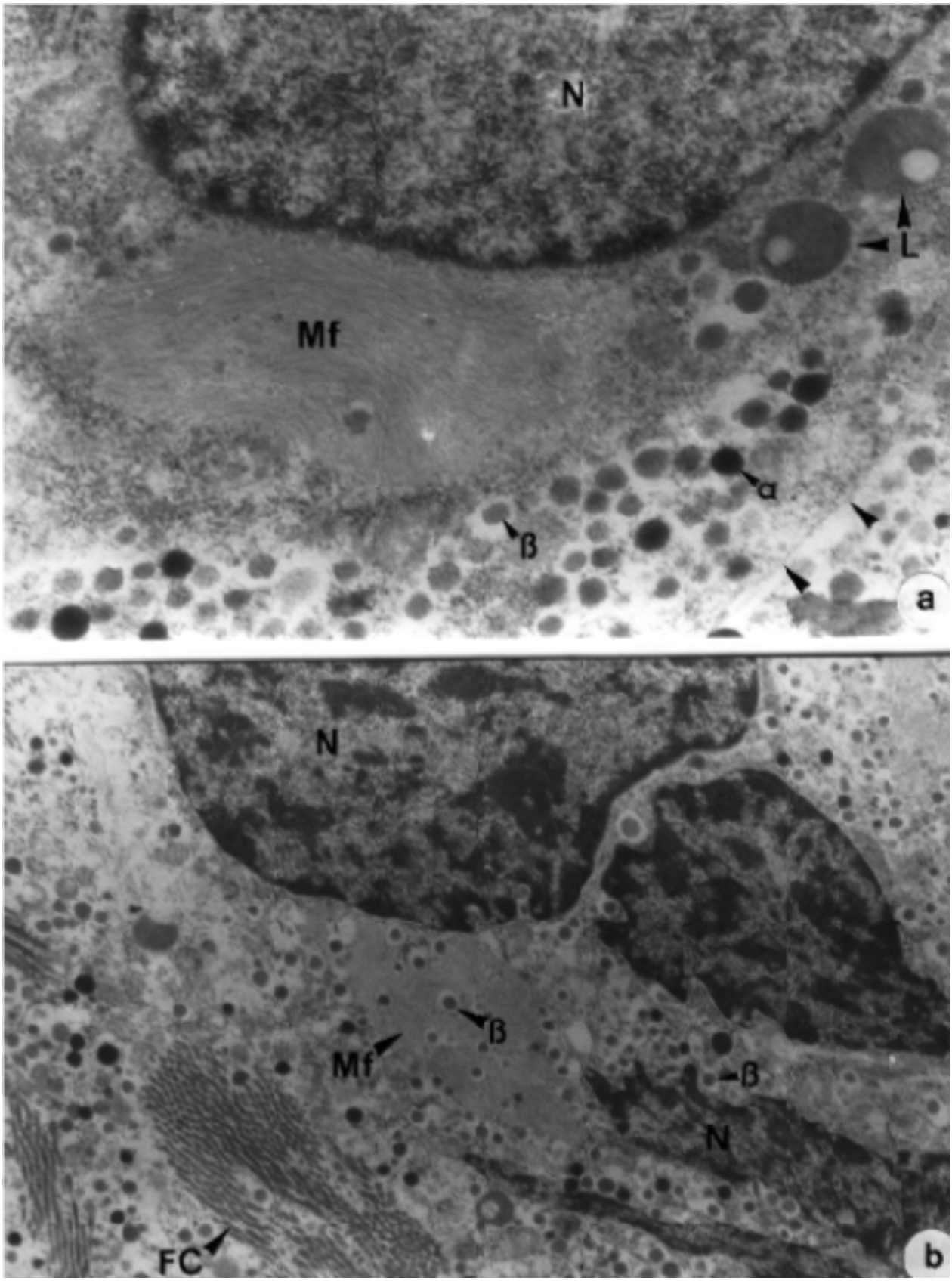
Des observations réalisées par microscope à force atomique ont montré que cette polymérisation est bidirectionnelle et se produit de façon rapide (avec une vitesse voisine de 1nm/mn in vitro). Cependant, l'absence de formation de fibres amyloïdes dans de lignées de cellules B pancréatiques humaines, sécrétant par ailleurs normalement de l'IAPP, semble indiquer que **la polymérisation demande un facteur déclenchant encore inconnu** à ce jour. Des études menées sur les souris transgéniques mettent cependant en évidence un lien entre la polymérisation de l'IAPP et les diverses sécrétions des cellules B.

Nous émettrons cette hypothèse: le glucose ne pourrait il pas jouer un rôle direct dans le changement de conformation à l'origine de la polymérisation de l'IAPP? Aucun mécanisme précis n'a été décrit à ce jour. On sait simplement que le glucose peut réagir directement avec la fonction amine des peptides pour former des bases de Schiff, puis des produit d'Amadori (l'hémoglobine glycosylée en est un bon exemple) aboutissant à un produit de glycosylation pouvant créer des liaisons croisées entre acides aminés, et donc modifier la structure secondaire de ceux-ci. Pourquoi ce même processus ne se produirait-il pas au niveau du pancréas ?

IAPP et apoptose des cellules B

Chez les diabétiques, **l'IAPP est capable d'induire la mort des cellules B** notamment lorsque les dépôts amyloïdes sont importants. L'élimination de ces cellules se fait non pas par nécrose mais par **apoptose**, "la mort cellulaire programmée". Ce phénomène se caractérise par des condensations cellulaires qui se dirigent vers la surface de la cellule par des bourgeonnements qui vont se lier à la membrane plasmique. La plupart de ces corps denses sont dégradés par des phagocytes mononucléaires qui résident dans l'épithélium.
Dans le cas du diabète de type 2, la formation de dépôts amyloïdes peut être associée à une hypersécrétion de proinsuline. **Cette surproduction entraîne la sécrétion accrue d'IAPP, déclenchant ainsi l'apoptose des cellules B par voie intracellulaire**. En retour, les dysfonctionnements de la cellule B provoquent la production de dépôts amyloïdes, insulaires qui peuvent augmenter le volume des îlots de Langerhans et détruire les membranes plasmiques des cellules B, aggravant ainsi l'état diabétique.

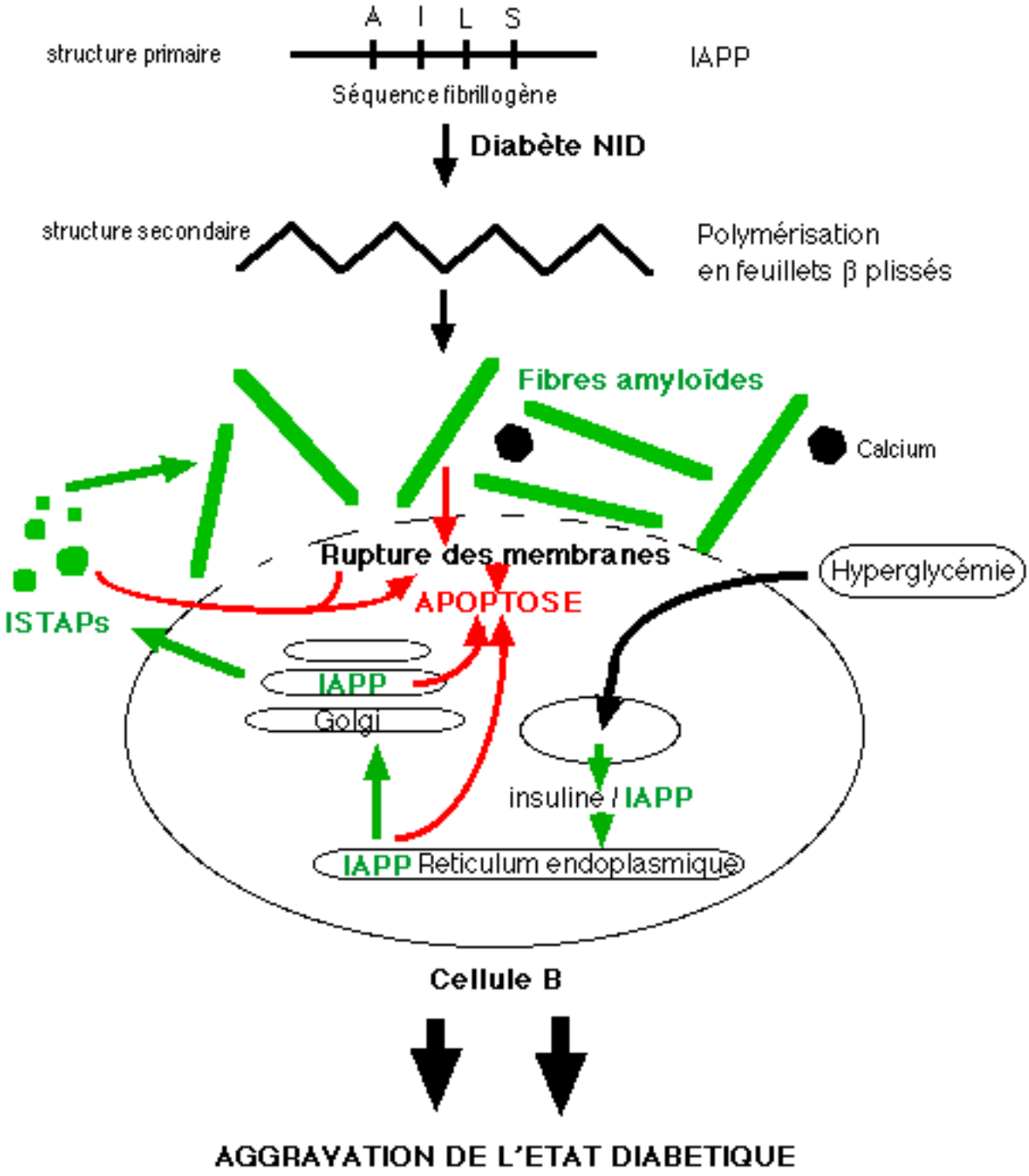
Ce sont les fibres amyloïdes qui déclenchent l'apoptose des cellules B au contact de la membrane cellulaire. Elles induisent un effet toxique pour les cellules B. La rupture des membranes plasmiques est provoquée par des particules d'IAPP de faible taille, précurseurs des fibres, les ISTAPs (Intermediate-Sized Toxic Amyloid ParticleS). Ces derniers sont capables de déclencher précocement (en 1 à 2 jours) in vitro la destruction des cellules B par une voie extracellulaire. Ils sont en effet directement capables de déstabiliser les membranes phospholipidiques. Cet effet apoptotique de l'IAPP est liée chez l'homme à l'expression des gènes p53 et p21 et toucherait préférentiellement les cellules à prolifération rapide.



Ultrastructure d'une zone endocrine d'un pancréas diabétique :

a - inclusion intracytoplasmique composée de microfibrilles (**Mf**) contiguë au noyau (**N**) d'une cellule B reconnaissable aux granulations β (β) avec parfois quelques granulations α (α). Présence de gros lysosomes. Les membranes cellulaires sont apparentes uniquement dans certaines régions (**>**). (x 18000).

b - une inclusion microfibrillaire (**Mf**) contenant quelques granulations β (β) est proche de fibres de collagène (**FC**) et d'un noyau (**N**) dont certains apparaissent distordus avec des invaginations où sont logées parfois des granulations β. Aucune membrane plasmique n'est visible. (x 12000).



Les dépôts amyloïdes sont liés à des destructions cellulaires