

DIABETE ET APOPTOSE

L' APOPTOSE, UN SUICIDE CELLULAIRE AUX EFFETS SALUTAIRES

L'apoptose est une autodestruction cellulaire d'origine endogène. Ce mécanisme prend une grande importance dans l'explication des processus du développement, mais est également impliqué dans de nombreuses pathologies (cancers, SIDA et, comme nous allons le voir, diabète) ainsi que dans des processus évolutifs.

Généralement, les cellules subissant une attaque exogène sont nécrosées: elles éclatent, provoquent la destruction de leurs voisines et déclenchent un processus inflammatoire suivi d'une cicatrisation impliquant une fibrose. Dans le cas de l'apoptose, la cellule se suicide: il n'y a ni inflammation, ni lésion des tissus. La cellule apoptotique se sépare de ses voisines puis se désintègre de façon ordonnée: condensation puis fragmentation du noyau, cassure régulière des chromosomes puis bourgeonnement du cytoplasme sous forme de petits ballonnets rapidement ingérés par les cellules voisines.

Détection de l'apoptose

L'apoptose est caractérisée par des modifications du métabolisme cellulaire causant la destruction de la cellule. Elle peut donc être détectée par des modifications de la morphologie cellulaire ou de l'activité biochimique de la cellule:

Modifications morphologiques	Modifications biochimiques
<ul style="list-style-type: none">- Digitations cellulaires- Corps apoptotiques- Accumulation de grains de zymogène- Condensations cytoplasmiques- Présence de macrophages- Chromatine condensée- Pycnose nucléaire	<ul style="list-style-type: none">- Fragmentation caractéristique de l'ADN mise en évidence par électrophorèse- Augmentation de l'expression des ARNm de la glycoprotéine 2 sulfate- Activité de la desoxynucleotidyl transferase terminale- Expression des gènes TRPM2 & TGFb1- Marquage de l'extrémité 3' de l'HO-DNA avec de la dUTP-fluoresceine et quantification par cytométrie de flux- Désorganisation du réticulum endoplasmique granuleux

UN PHENOMENE COURANT INDUIT PAR DE NOMBREUSES MOLECULES

Ces dernières années, il est apparu que dans l'organisme **toute cellule est en état de mort imminente**: elle ne survit que si elle reçoit de son environnement des signaux moléculaires qui inhibent son suicide. Ces signaux peuvent être de nature variés: outre des facteurs de croissance, des hormones sexuelles ou d'autres molécules peuvent inhiber ou déclencher le suicide cellulaire:

- une diminution de la quantité de signaux de survie reçus déclenche l'apoptose
- la multiplication cellulaire nécessite non seulement l'activation de proto-oncogènes engageant la division mais aussi une augmentation des signaux de survie qui déclenchent l'expression de gènes protecteurs de l'apoptose (type Bcl-2). Sans ces signaux, une cellule en division se suicide (ce mécanisme jouant un rôle dans la protection contre les cancers).

- les molécules intercellulaires de contact comme le TNF ou le ligand du récepteur FAS déclenchent l'apoptose si ils se lient à une cellule qui n'a pas préalablement exprimé des gènes de protection tels Bcl-2: l'histoire d'une cellule conditionne autant sa survie que les signaux qu'elle reçoit.
- les lymphocytes T cytotoxiques peuvent déclencher directement l'apoptose en injectant à des cellules reconnues anormales (infectées ou transformées) des enzymes qui activeront directement les protéases impliquées dans "l'équarissage" apoptotique de la cellule.

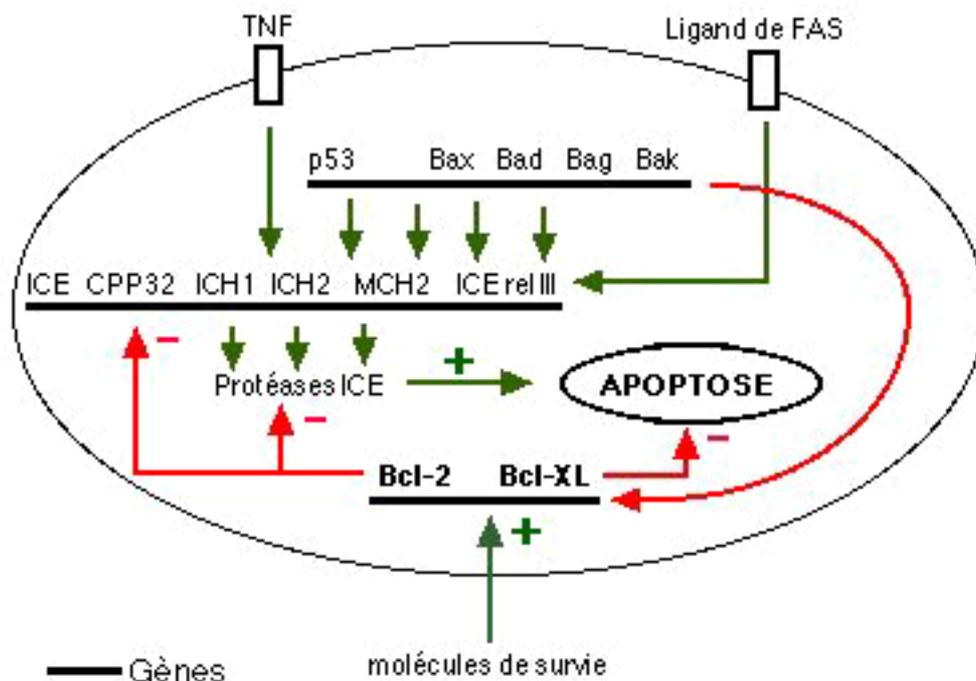
Originellement mis en évidence chez un vers nématode (*Caenorhabditis elegans*), les gènes qui commandent l'apoptose ont été retrouvés chez l'homme. Leur persistance et leur similarité chez des organismes aussi phylogénétiquement éloignés démontrent leur importance. Leur action est schématisée sur le schéma principal: **l'expression des gènes Bcl maintient la cellule en vie. Les protéases de la famille ICE, une fois activées, déclenchent l'apoptose.**

Les gènes impliqués dans l'apoptose sont également mis en jeu dans de nombreuses pathologies: chaque fois qu'une population cellulaire meurt sans phénomène de nécrose ou prolifère exagérément, une implication de l'apoptose peut être envisagée. C'est le cas dans les cancers mais aussi dans les maladies neuro-dégénératives, dans certaines maladies virales et **dans le diabète.**

Gènes impliqués dans les processus apoptotiques

L'expression des gènes Bcl maintient la cellule en vie.

Les protéases de la famille ICE, une fois activées, déclenchent l'apoptose



Le gène Bcl-2 (ou plutôt ses produits) possède une grande importance dans la lutte contre l'apoptose: il a été possible de **protéger des cellules B pancréatiques** d'une apoptose déclenchée normalement par des cytokines diverses (IL-1 bêta, TNF alpha et IFN

gamma) en les transfectant avec ce gène qui exerce également une activité anti-apoptotique protectrice sur les cellules B isolées dans le but de constituer un greffon cellulaire fonctionnel . Ce gène est d'ailleurs stimulé par l'IRS 1, une molécule jouant le rôle d'intermédiaire dans le fonctionnement du récepteur insulinique.

QUAND LE PANCREAS SE SUICIDE...

Apoptose des cellules acineuses pancréatiques

Le suicide des cellules acineuses pancréatiques a été observé dans différents cas de figures mimant une pancréatite. Il peut être consécutif à:

- une réaction à des molécules d'origine bactériennes (lipopolysaccharides) ou endogènes comme par exemple, in vitro, l'interleukine 1
- un régime carencé en cuivre: l'apoptose des cellules acineuses observée dans ce cas est due à des perturbation de l'environnement et à des interactions cellulaires. La disparition des cellules acineuses est compensée par le développement des cellules épithéliales des ductules et des cellules ovaies. Ces cellules se trouvant dans un environnement différent deviennent **des hépatocytes pancréatiques** ayant les mêmes propriétés que ceux du foie.
- **une ligature du canal pancréatique:** après la ligature, un oedème interstitiel inflammatoire augmente le volume du pancréas qui décroît ensuite très vite. Le tissu exocrine s'atrophie à 90% en 7 jours chez la souris. Les cellules acineuses disparaissent par apoptose, et de nombreux macrophages les ingèrent. En même temps, les cellules ductales prolifèrent pendant 2 semaines, alors que le pancréas reprend un volume normal en 8 semaine grâce à un développement de cellules adipeuses.

L'apoptose des cellules acineuses après une stress pancréatique est un phénomène général, qui conduit à de profonds remaniements tissulaires et cellulaires dont le plus remarquable est le développement des cellules ductales et des cellules ovaies. Néanmoins, l'involution du pancréas constatée après ligature du canal pancréatique fait également intervenir, dans des proportions et des prédominances variables selon les espèces, des phénomènes classiques de nécrose. Les cellules acineuses sont cependant particulièrement "sensibles" à l'apoptose car le gène Bax s'exprime davantage que le gène "anti-apoptotique" Bcl2 dans le pancréas exocrine. L'apoptose peut également se révéler bénéfique en limitant l'extension des dommages subis par les cellules acineuses au cour d'une pancréatite .

Les effets de la ligature du canal pancréatique sur les cellules ductales ainsi que leur évolution ont été mis en évidence chez le rat et particulièrement étudiés chez le lapin auquel nous consacrerons un chapitre.

Apoptose des cellules endocrines pancréatiques

Le suicide des cellules endocrines pancréatiques, notamment celles produisant l'insuline, peut s'observer dans des conditions physiologiques normales. Ainsi, chez le rat, après accouchement, la masse des cellules B diminue. Cette diminution est causée par l'apoptose des cellules B pendant 4 à 6 jours après la mise bas . Le gène TRM2 et sa protéine, la clusterine, sont impliqués dans cette apoptose des cellules B ainsi que le gène

TGFb1 dont l'expression augmente 3 jours après l'accouchement (alors que le niveau de TRM2 reste constant).

L'apoptose des cellules B peut également être induite par des facteurs alimentaires: chez le rat GK (modèle animal de DNID), une nourriture composée à 30% de sucrose induit une apoptose des cellules B caractérisée par de nombreuses atteintes oxydatives de l'ADN de ces cellules. Ceci est à relier au phénomène de glucotoxicité observé chez *Psammomys obesus*, un autre modèle de DNID: soumises à de fortes concentrations en glucose, les cellules B de cet animal subissent (in vitro) une phase transitoire de multiplication puis meurent par apoptose. L'existence de deux souches de cet animal réagissant différemment à l'exposition au glucose suggère l'existence de facteurs génétiques à l'origine de cette différence de "glucosensibilité".

Dans des situations pathologiques, l'apoptose des cellules B est impliquée dans le diabète de type I. Dans ce cas, l'atteinte des cellules est due à une vaste famille de molécules (cytokines, acide nitrique, streptozotocine, oxydants...) mais peut également être liée, chez des modèles animaux, à des facteurs alimentaires, en particulier à une alimentation fortement enrichie en protéines.

L'apoptose des cellules B peut également se révéler importante dans le diabète NID. En effet, les fibres amyloïdes qui s'accumulent tardivement dans le pancréas sont capables, au contact de leur membrane cellulaire, de déclencher l'apoptose des cellules B, contribuant ainsi à l'aggravation de l'état diabétique.

La protéine IB1, synthétisée dans les cellules B normales, est impliquée dans certains cas de diabète à forte composante génétique: une mutation du gène IB1 va induire la synthèse d'une protéine inactive, ce qui va à la fois diminuer la production d'insuline et favoriser l'apoptose des cellules B, contribuant ainsi à déclencher ou à aggraver le diabète. D'autres molécules sont capables de déclencher l'apoptose des cellules B, comme par exemple le TNF.

L'accumulation de lipides, en particulier de triglycérides, au niveau des cellules B ainsi que l'accroissement de leur synthèse a été constatée chez plusieurs modèles animaux de diabète NID. Cette accumulation lipidique peut déclencher une apoptose des cellules B à la base du développement d'un diabète "lipotoxique". En effet, **les acides gras à longue chaîne peuvent déclencher l'apoptose des cellules B**: ils réduisent l'activité du gène Bcl2 de 85 % chez un modèle animal d'obésité et de diabète NID (rat Zucker). L'acide gras céramide ainsi que la production d'oxyde nitrique sont également impliqués dans ces phénomènes apoptotiques reproduisant ce qui est observés chez de nombreux humains obèses développant un diabète NID.

Il semble donc bien que **le nombre de cellules B pancréatiques actives résulte en permanence d'un équilibre dynamique entre des mécanismes de réplication (augmentant le nombre de cellules B) et d'apoptose (diminuant ce nombre)**. Cet équilibre a d'ailleurs été mis en évidence chez le rat.

Toute perturbation de cet équilibre dynamique tendrait donc, sinon à déclencher, du moins à aggraver l'état diabétique. Ainsi, chez l'Homme obèse et le rat Zucker,

l'insulinorésistance entraîne tout d'abord une hyperplasie des cellules B dont le nombre est multiplié par 4 afin de contrer la perte d'efficacité de l'insuline, puis on constate que les phénomènes apoptotiques prennent le dessus et aboutissent à la perte de plus de la moitié des cellules B.

De plus, le diabète de type II induit **des phénomènes apoptotiques dans des organes éloignés du pancréas**, par exemple le cerveau. Des neuropathies se retrouvent souvent chez ces diabétiques, et l'on doit remarquer qu'il existe dans le sérum de ces personnes un auto anticorps capable d'induire une apoptose des neurones. Cette apoptose est calcium dépendante (elle est précédée d'une entrée massive de calcium dans la cellule). Cela est intéressant par le fait qu'une molécule déclenchant l'apoptose des cellules B pancréatiques, l'IAPP, est connu pour posséder justement des effets sur le métabolisme du calcium ! L'apoptose des cellules B déclenchée par l'IAPP serait elle calcium dépendante? Comment se forme l'auto-anticorps présent dans le sérum des diabétiques ? Ces questions restent encore sans réponses.

ROLE DE L' APOPTOSE DANS LE DIABETE

Une apoptose des cellules B provoque une insulinopénie. Or, ce phénomène est observé dans le diabète de type II. L'apoptose des cellules B peut être induite, nous l'avons vu, par des dépôts amyloïdes, mais pourrait également découler d'autres facteurs.

Ainsi, des produits de l'expression du gène STM2, impliqué dans une forme familiale de maladie d'Alzheimer, ont été identifiés dans le pancréas, le muscle squelettique et le cœur. L'expression de ce gène est particulièrement élevée dans le pancréas et le muscle (et non dans le cerveau). Ceci est surprenant car seul le cerveau est le siège de processus dégénératifs apoptotiques dans cette maladie. Néanmoins, dans ces deux cas, **une accumulation de fibres extracellulaires** est impliquée dans des processus dégénératifs, de façon encore imparfaitement connue.

L'apoptose des cellules B observée dans le diabète de type I peut être prévenue par les molécules IGF et par la protéine antagoniste au récepteur de l'interleukine 1. Il faudra sans doute à l'avenir rechercher dans quelle mesure les facteurs de croissance pourraient restaurer une population de cellules B fonctionnelles, en s'opposant à leur autodestruction. De même, des molécules comme la glutamine ou des antioxydant comme l'acide 1-pyrolidinedicarbodithioïque ou la thiorédoxine ont montré des effets antiapoptotiques dans ce type de diabète et on peut supposer qu'elles auraient une action similaire sur l'apoptose des cellules B du DNID.

Apoptose et complications du diabète

Ce sont les complications associées au diabète qui font toute la gravité de cette maladie. Les atteintes les plus morbides touchent les vaisseaux sanguins et le système nerveux central. A ces deux niveaux, on constate une exagération des phénomènes apoptotiques induits de façon indirecte par l'état diabétique.

Ainsi, une des complications induite par le diabète NID est la formation de plaques d'athéromes débouchant le plus souvent sur des cardiopathies obstructives aiguës. Il a été démontré qu'à ce niveau aussi des phénomènes apoptotiques sont impliqués.

Un stress oxydatif meurtrier

L'hyperglycémie caractérisant l'état diabétique et le stress oxydatif qu'elle génère sont également connus pour pouvoir provoquer l'apoptose de neurones au niveau cérébral et périphérique, ainsi que des atteintes variées sur les processus de croissance de ces cellules et des structures qui y sont associées. Le facteur de croissance insulinaire 1 (IGF 1) possède d'ailleurs un effet protecteur sur ces neurones. L'effet du stress oxydatif sur l'induction de l'apoptose des neurones a été caractérisé *in vivo* et *in vitro* et peut être relié à une activation de la caspase 3 par le glucose, précédée par une altération des crêtes mitochondriales.

L'apoptose étant sous la dépendance de signaux intercellulaires, comme les interleukines par exemple, il faudra mieux appréhender les relations entre les différentes cellules des îlots de Langerhans, afin de mieux identifier les signaux moléculaires qui maintiennent en vie les cellules B. Plus que jamais, la vie d'un organisme pluricellulaire nous apparaît comme un état transitoire résultant d'un équilibre entre la pérennité des fonctions cellulaires et le nécessaire contrôle de leur croissance et de leur reproduction.

Implication des phénomènes apoptotiques dans le diabète NID.

