

APOPTOSE ET DIABETE: EXEMPLE DES IMPLICATIONS DE CE PHENOMENE AU NIVEAU DU PANCREAS EXOCRINE ET ENDOCRINE CHEZ LE LAPIN

Le modèle expérimental de diabète non insulino-dépendant caractérisé chez le lapin (cf. Chap. 32) montre un remaniement total du tissu exocrine qui disparaît au profit d'une invasion progressive par du tissu fibro-conjonctif puis adipeux. Ces phénomènes entraînent secondairement des modifications endocrines importantes à la fois en terme de dissociation / disparition et de renouvellement des cellules B, A et D.

Evolution des ductules et de leurs processus prolifératifs chez le lapin

Les premiers signes de dégénérescence observés consécutivement à la ligature du canal pancréatique chez le lapin concerne la destruction graduelle des acini exocrines. La ligature permet, comme chez le rat atteint de pancréatite chronique, de corréler à la fois le dépôt de collagène synthétisé à partir des fibroblastes et constituant essentiel de la fibrose et le processus de destruction des cellules acineuses. Ces deux phénomènes sont concomitants de proliférations cellulaires. Il faut noter que la biosynthèse du collagène se développe au cours de processus inflammatoires (d'où la présence de lymphocytes et de polynucléaires).

Ainsi, dans les premiers stades post ligature chez le lapin, lorsque les cellules des acini ont involué, des corps denses apparaissent, ce qui semblerait traduire une dégénérescence acineuse particulière de type apoptotique. En effet, il a été montré que l'élimination de ces cellules se fait non pas par nécrose mais le plus souvent par **apoptose**, cette forme de mort cellulaire caractérisée par des condensations cytoplasmiques qui migrent vers la surface de la cellule et se lient à la membrane. La plupart des corps apoptotiques sont dégradés par des phagocytes mononucléaires qui résident entre les cellules épithéliales. Le mode de destruction de ces cellules acineuses peut être corrélé à la prolifération de cellules spécifiques. Ceci se fait normalement sans rupture de la membrane basale et est accompagné simultanément par la **prolifération des cellules centroacineuses**. Ce même processus de prolifération a été rapporté chez le lapin, dès le 5^{ème} jour post ligature, et pourrait expliquer la variation d'épaisseur de l'épithélium des ductules observée nettement dès le 15^{ème} jour sous forme de **pseudostratification**. Des travaux antérieurs ont signalé chez ces animaux, au 30^{ème} jour, une intensification des processus prolifératifs au niveau de l'épithélium ductal par une activité enzymatique élevée en particulier de la phosphatase acide (critère d'activité cellulaire).

Cependant, à partir du 180^{ème} jour et de façon de plus en plus marquée au 450^{ème} jour après la ligature, pour un certain nombre de ductules, l'épithélium régresse et devient monocouche laissant supposer au contraire que les proliférations ont cessé, ce qui est nettement démontré par la dégénérescence de la plupart des ductules dont il ne reste que la membrane collapsée. Ceci est en accord avec les résultats décrits chez le rat après ligature où les phénomènes extensifs de prolifération de cellules ductales ne durent que quelques semaines. Dans ce cas, l'épithélium ductal serait constitué non pas de cellules acineuses

différenciées, mais de cellules centroacineuses protodifférenciées. Chez le lapin, au 15^{ème} jour post ligature notamment, des **cellules claires** dont le cytoplasme contient peu d'organites se trouvent intercalées dans l'épithélium pseudostratifié. Ces cellules claires pourraient correspondre soit à des cellules précurseurs soit à des **cellules souches** (oligopotentes) décrites par ailleurs chez le hamster diabétique au cours de processus de nésioblastose et déjà visualisées en microscopie électronique chez le lapin.

Au niveau de la différenciation des cellules pancréatiques, l'existence et l'origine de la cellule souche canalaire est sujette à nombreuses controverses. Néanmoins, c'est après la pose de la ligature que nous avons pu constater que chaque cellule claire était située au pôle basal des ductules, contre la membrane constituée de collagène de type IV. En effet, lors de la prolifération, la potentialité d'être une cellule souche n'existe que pour les cellules qui sont en contact avec la membrane basale (comme cela a été démontré pour les cellules de l'épiderme et des cryptes intestinales). Cette position cellule/membrane basale est le facteur déterminant car la perte de contact déclenche la différenciation terminale .

Chez le lapin, nous pouvons suggérer que lorsque ces cellules ont proliféré, elles vont se grouper en amas car il a déjà été rapporté au 15^{ème} et au 30^{ème} jour des amas de cellules endocrines à la périphérie des ductules après coloration au PAF. Le fait que la membrane basale englobe à la fois le ductule et les cellules endocrines prolifératives, nous permet de dire que dans un amas les cellules proviennent d'un même ductule mais pas forcément d'une même cellule souche. Ces amas qui ont migré après séparation de l'épithélium ductal par poussée du tissu conjonctif, se constituent, au 90^{ème} jour post ligature, en structures globulaires. En effet, ces cellules souches vont évoluer après mitose en cellules endocrines essentiellement A et surtout B qui ne sont pas encore biologiquement actives à ces périodes puisqu'elles ne sont pas révélées en immunohistochimie par un anticorps anti-insuline monoclonal. Ce phénomène est à rapprocher de la formation de cellules endocrines à partir du système ductal lors de la différenciation pancréatique embryonnaire.

Plus tardivement (180 jours), ces structures globulaires endocrines se regroupent pour former des **clusters** de différentes tailles dans lesquels persistent des cloisonnements constitués par des fibres de collagène. Ceci nous permet de dire que chez le lapin, se développent des processus de **nésioblastose** sans toutefois préciser si cela aboutit à de véritables îlots, comme il est souvent signalé dans des pathologies semblables. En effet, chez le hamster, après avoir engendré une fibrose pancréatique par enveloppement de la tête du pancréas avec un ruban de cellophane, certains auteurs constatent également, à la deuxième semaine, l'induction d'une nésioblastose, c'est-à-dire la formation de "nouveaux" îlots constitués de cellules A et B. Ce même phénomène de nésioblastose a également été signalé chez la souris 5 jours après injection de streptozotocine. Les îlots qui apparaissent alors proviennent de la différenciation de l'épithélium ductulaire, deviennent hyperplasiques et envoient des interdigitations dans le parenchyme acineux adjacent.

Par ailleurs à long terme, chez les lapins ligaturés depuis 450 jours, ont été visualisées en ultrastructure des cellules endocrines néoformées que nous avons appelées **cellules mixtes**, du fait de la présence dans leur cytoplasme de granulations et β côte-à-côte. Chez l'Homme, il a été rapporté que la nésioblastose et l'adénomatose focale s'accompagnaient

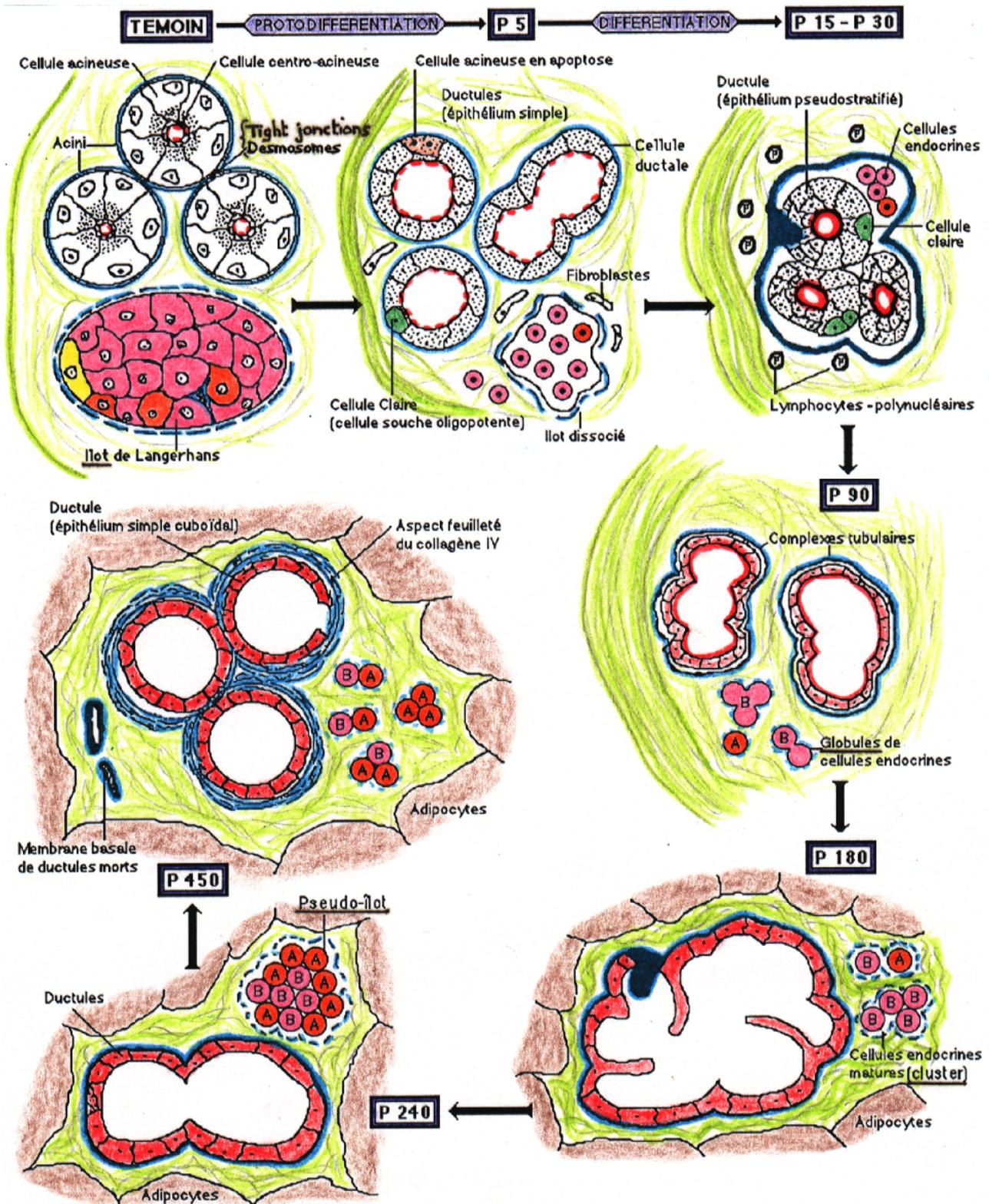
de la formation de cellules mixtes dites de type polycrine car elles étaient équipées des deux sortes de granules de sécrétion matures typiques α et β . Ce même type de cellules apparaît également dans 77 % des adénocarcinomes pancréatiques ductulaires. Par contre, chez les lapins ligaturés, on ne rencontre pas de cellules mixtes de type amphicrine, avec différenciation exocrine-endocrine, comme signalées dans des cas de nésioblastose aussi bien que de nésiodyplasie chez l'Homme ou que de carcinogenèse induite chez le hamster. Au niveau de ces cellules mixtes, on est obligé de s'interroger sur la présence "dans leur cytoplasme" de fibres de collagène organisées en faisceaux, disposés aussi bien longitudinalement que transversalement, fait dont on ne connaît pas de précédent. Ainsi, il nous faut rester réservé quant à une interprétation biologique par rapport à une possibilité de souffrance des tissus, impliquant une intrication cellules-fibres, et ceci selon un plan de coupe de cet enchevêtrement bien particulier. Cependant, une autre hypothèse peut être suggérée, elle repose sur une observation détaillée des images ultrastructurales. En effet, deux points importants sont apparus:

- des interruptions discontinues de la membrane plasmique, aussi bien entre deux cellules mixtes qu'entre une cellule mixte et le tissu interstitiel
- la présence de granulations, essentiellement β , intrafaisceaux collagéniques.

Ces interruptions ne pourraient-elles pas être soit la cause soit la conséquence de la pénétration des fibres de collagène dans ces cellules? Un même processus a déjà été décrit concernant l'infiltration de microfibrilles amyloïdes entraînant la rupture de la membrane plasmique de cellules B. Rien ne nous interdit de suggérer que, dans ces conditions, des échanges de granulations α - β puissent également se produire consécutivement à ce phénomène.

L'apoptose brève mais intense des cellules acineuses pancréatiques est donc suivie de phénomènes de proliférations et de différenciations pouvant aboutir à **la formation par nésioblastose de nouvelles cellules endocrines**. On peut donc assimiler la pancréas de lapin post ligature à un pancréas embryonnaire, mais il est également possible de la rapprocher d'un état de **cancer**. En effet, dans le cas d'une induction de cancer chez le hamster syrien, les mêmes processus de prolifération des cellules centroacineuses sont observées après destruction des cellules acineuses. Les cellules centroacineuses forment alors des structures tubulaires ou pseudoductales. Lorsqu'elles sont hyperplasiques ou hypertrophiques elles présentent des granulations endocrines immunoréactives vis-à-vis des hormones pancréatiques.

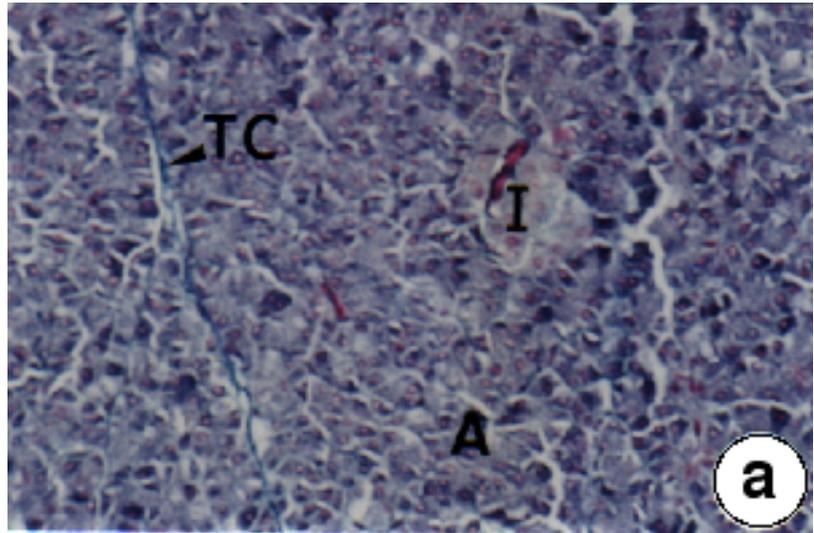
Les phénomènes induits chez le lapin par la ligature du canal pancréatique illustre bien le fait que lorsque des cellules, même de type exocrine, disparaissent par apoptose, un syndrome diabétique non insulino-dépendant se développe de manière rapide (en 5 jours), progresse et s'aggrave graduellement.



Devenir post ligature du pancréas de lapin

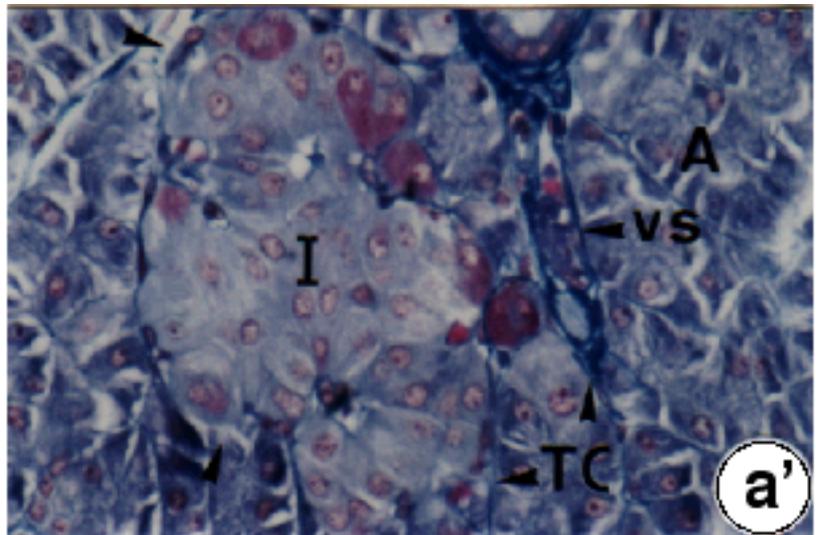
Pancréas témoin.

Travées de tissu conjonctif (TC) en bleu franc qui segmentent le parenchyme exocrine (acini: A). Cette coloration est peu visible au niveau de l'îlot de Langerhans (I). (x 120).



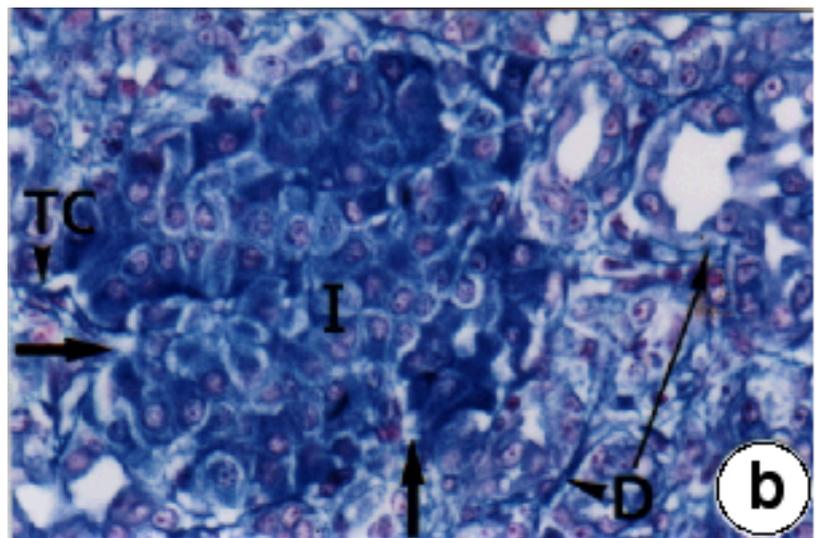
Pancréas témoin.

Un fin liseré de TC discontinu entoure l'îlot de Langerhans (I) et continu se situe en bordure d'un vaisseau sanguin (vs). (x 480).



5 jours post ligature.

Envahissement d'un îlot (I) par du tissu conjonctif (-->). Le tissu exocrine s'organise en ductules entourés d'un liseré de TC dense (D). (x 480).



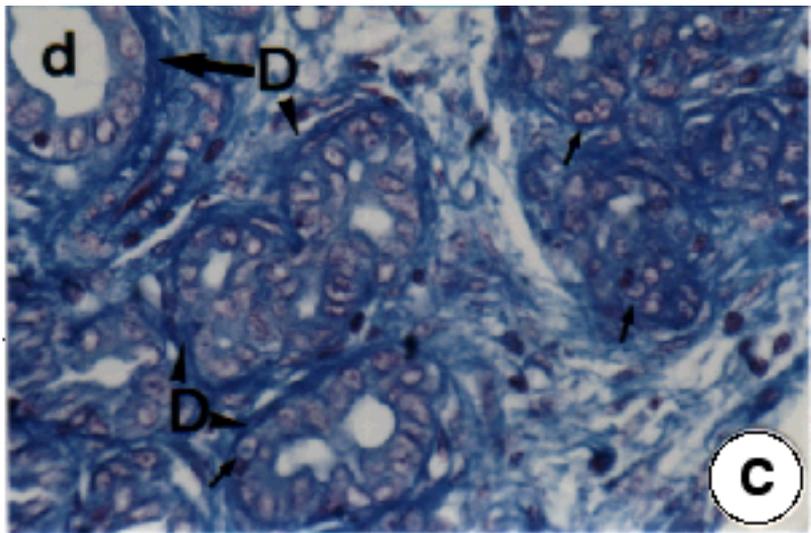
15 jours post ligature.

Des travées de TC lâche s'intensifient en réseau, s'enroulant autour des lobules pancréatiques.

Liseré de TC dense (**D**) qui s'épaissit, regroupant plusieurs ductules (**d**) à épithélium souvent pluristratifié.

On peut noter la présence de cellules claires isolées ou regroupées par deux, le plus souvent à la base de cet épithélium (-->).

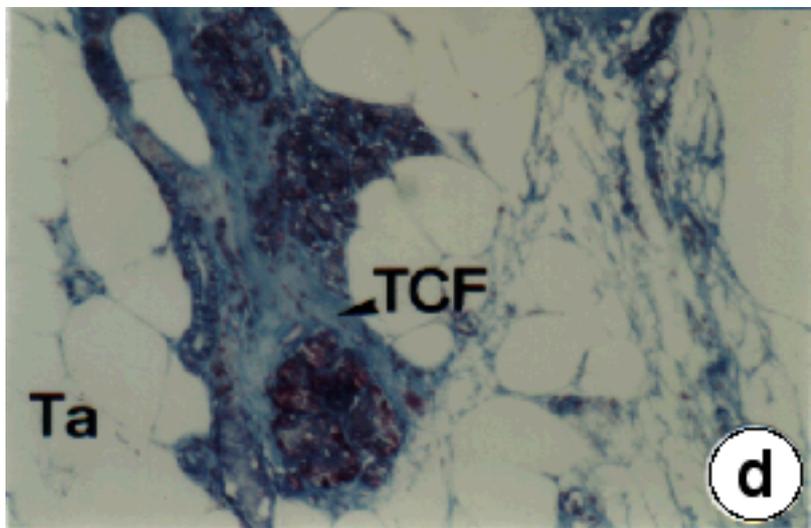
(x 480).



450 jours post ligature.

Les néoparenchymes pancréatiques sont constitués par du tissu conjonctif fibreux (**TCF**) et des agrégats de cellules endocrines dans un tissu adipeux (**Ta**) abondant.

(x 120).



450 jours post ligature.

Du collagène dense (**D**) borde des ductules (**d**) à lumière extrêmement dilatée et ayant un épithélium monocouche avec des cellules cuboïdales. Des clusters (**Cl**) de cellules endocrines sont dispersés dans le TCF.

(x 480).

