

Préparation à l'agrégation interne

Physiopathologie des diabètes sucrés

Patricia SERRADAS

patricia.serradas@crc.jussieu.fr

Centre de Recherche des Cordeliers
Equipe 9 – Physiopathologie du transport et de la détection des sucres

1^{ère} partie

La régulation de la glycémie – homéostasie glucidique

2^{ème} partie

Les phénotypes diabétiques - DT1 et DT2

Bibliographie

Physiologie humaine – L. Sherwood – Traduction de la 3^{ème} édition américaine DeBoeck Université-2006

Traité de Diabétologie – coordonné par André Grimaldi – Médecine Sciences - 2005

Physiologie humaine - une approche intégrée - U. Silverthorn, 4^{ème} édition, Pearson Education, 2007

Sciences du Vivant – Raven, Johnson, Losos et Singer – 1^{ère} édition, De boeck, 2009

1^{ère} partie

La glycémie

Concentration plasmatique de glucose

Détermination de la glycémie

Dosage enzymatique colorimétrique (glucose oxydase)

Bandelettes réactives

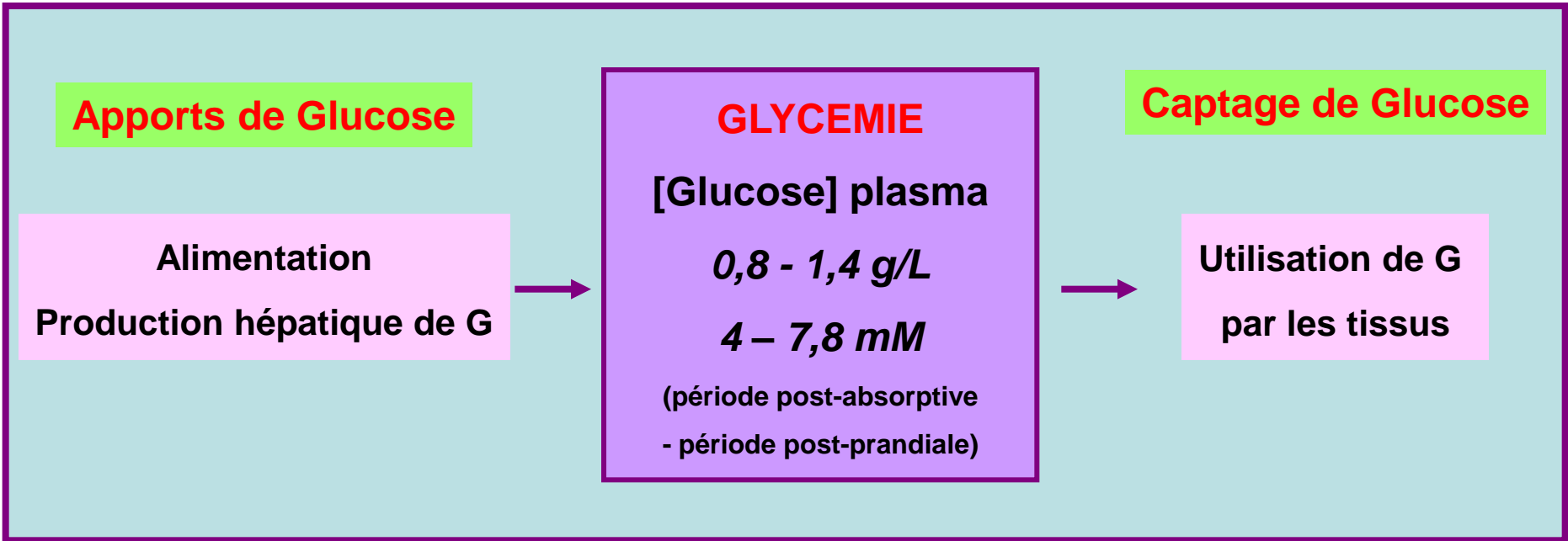
Lecteur de glycémie électronique



Glycémie à jeun 0,8 g/L

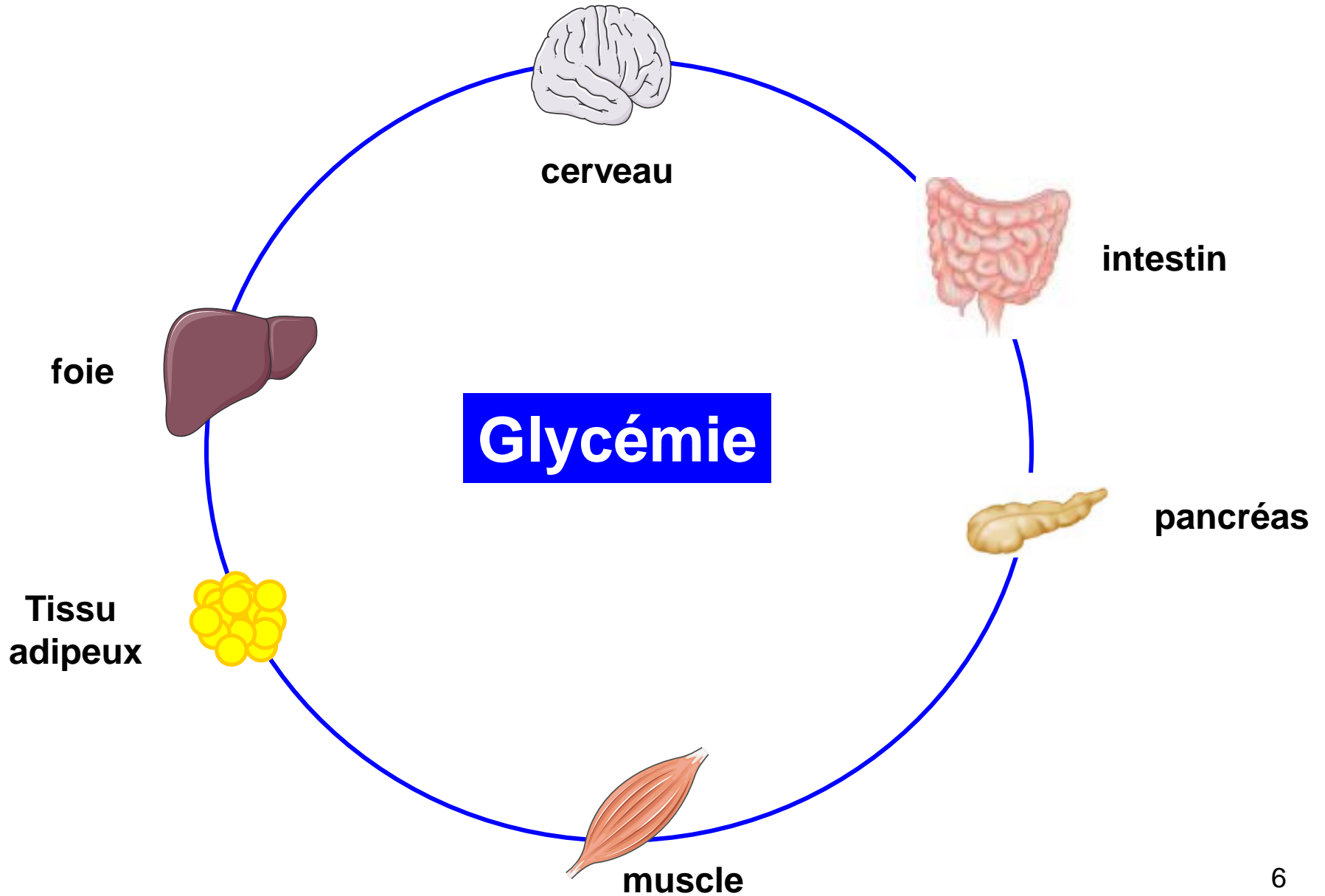
Glycémie après un repas 1,4 g/L

Homéostasie glucidique



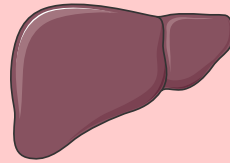
Equilibre dynamique

Homéostasie glucidique

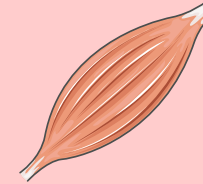


Métabolisme à l'état post-prandial → utilisation et stockage → anabolisme

Glycogène



100g

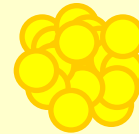


200g

→ Énergie nécessaire 10-15h

→ Le cerveau consomme 120g de glucose/jour

Graisse (triglycérides)



1g = 9 Kcal

Beaucoup d'énergie stockée dans un faible volume!



Métabolisme à l'état de jeûne → utilisation des réserves → catabolisme

en période de jeûne...

Production de Glucose

2 mg/min/Kg

Glycogénolyse 50%
Néoglucogénèse 50%



GLYCEMIE
0,8 g/L



Utilisation de Glucose

2 mg/min/Kg

Cerveau 50%
Muscles 15%
Intestin 15%
Tissu adipeux 5%
Autres 15%

Le jeûne: des situations très différentes

La nuit de jeûne chez l'homme (jeûne court)

Jeûne de 3j à 3 semaines chez l'homme (jeûne intermédiaire)

Le jeûne des grévistes irlandais en 1981 (60 à 70j)

Modèles animaux:

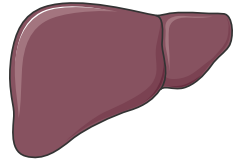
le manchot empereur, un jeûne de longue durée (2 mois pour le mâle, pendant la couvée de l'œuf),

les oiseaux migrateurs,

...

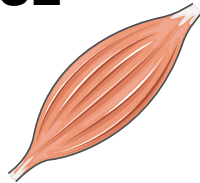


L'état de jeûne



**Glycogénolyse (4 à 5h)
(Glucose-6-phosphatase)**

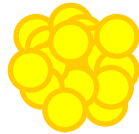
GLYCOGENOLYSE



**Glycogène → glucose 6 phosphate → pyruvate
ou lactate**

NEOGLUCOGENESE HEPATIQUE

LIPOLYSE

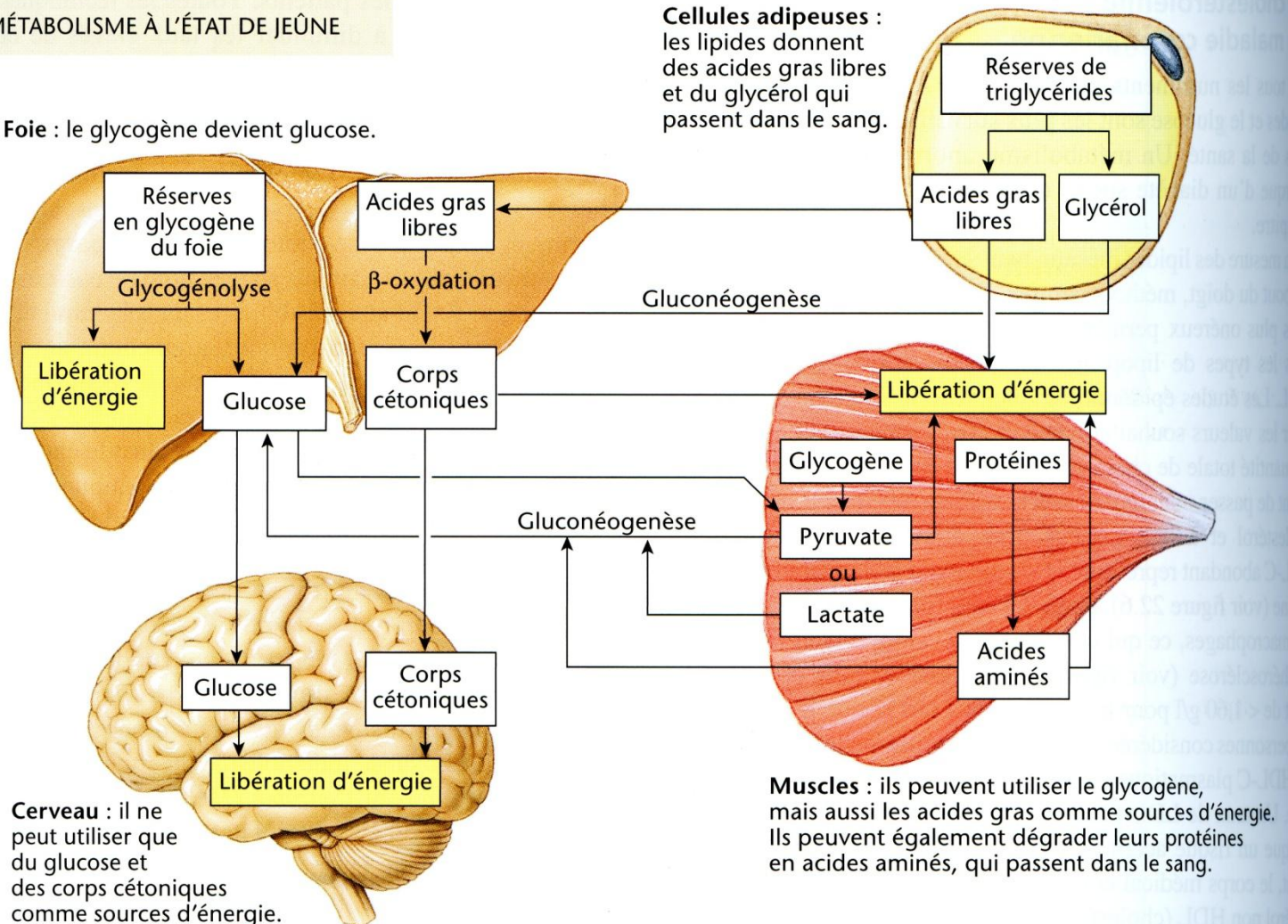


β-OXYDATION DES ACIDES GRAS

Métabolisme à l'état de jeûne

MÉTABOLISME À L'ÉTAT DE JEÛNE

Foie : le glycogène devient glucose.



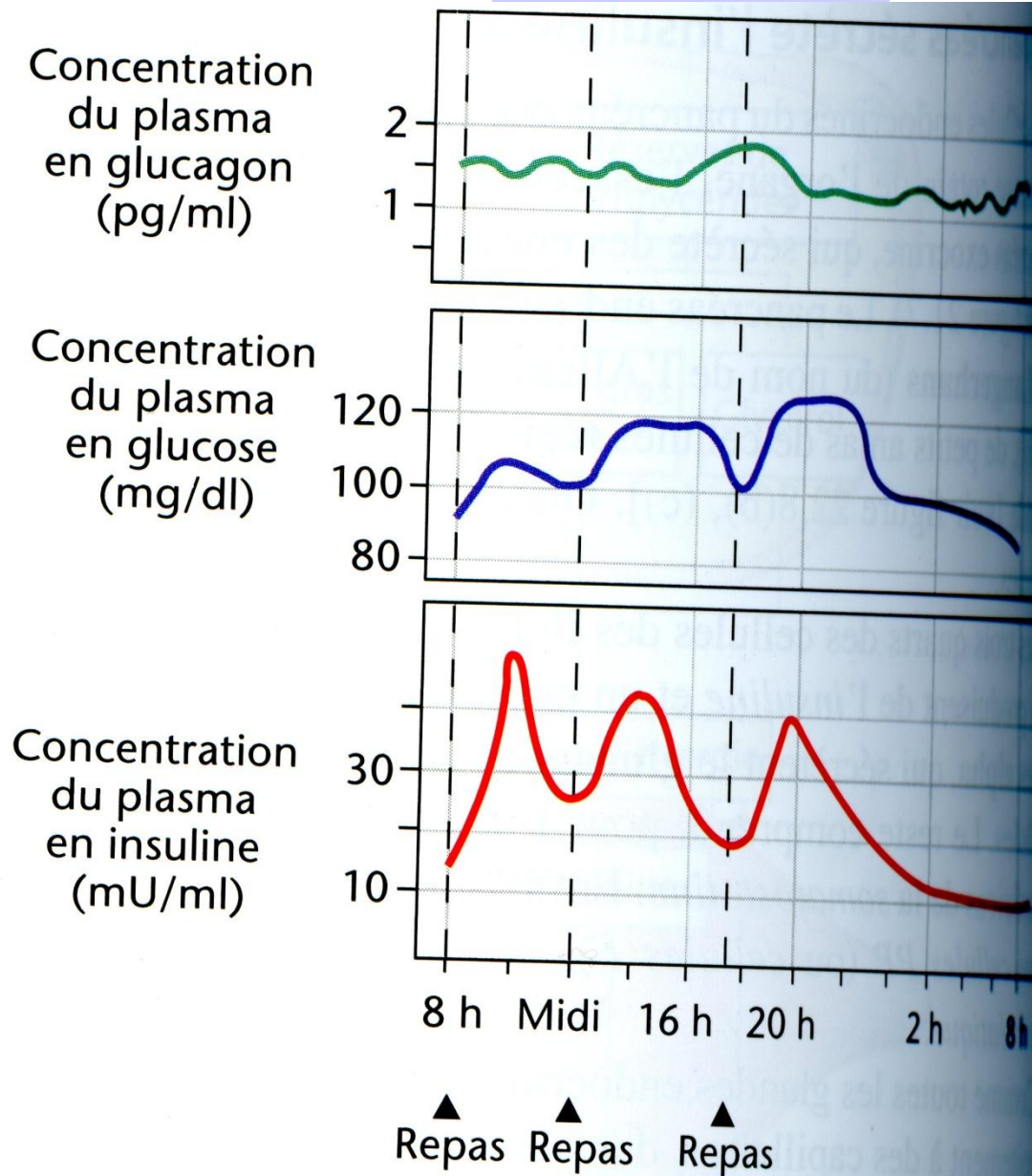
Cellules adipeuses :
les lipides donnent
des acides gras libres
et du glycérol qui
passent dans le sang.

Muscles : ils peuvent utiliser le glycogène,
mais aussi les acides gras comme sources d'énergie.
Ils peuvent également dégrader leurs protéines
en acides aminés, qui passent dans le sang.

Cerveau : il ne
peut utiliser que
du glucose et
des corps cétoniques
comme sources d'énergie.

Contrôle hormonal du métabolisme énergétique

Cycle nyctéméral



L'insuline et le glucagon, des hormones pancréatiques - immunofluorescence

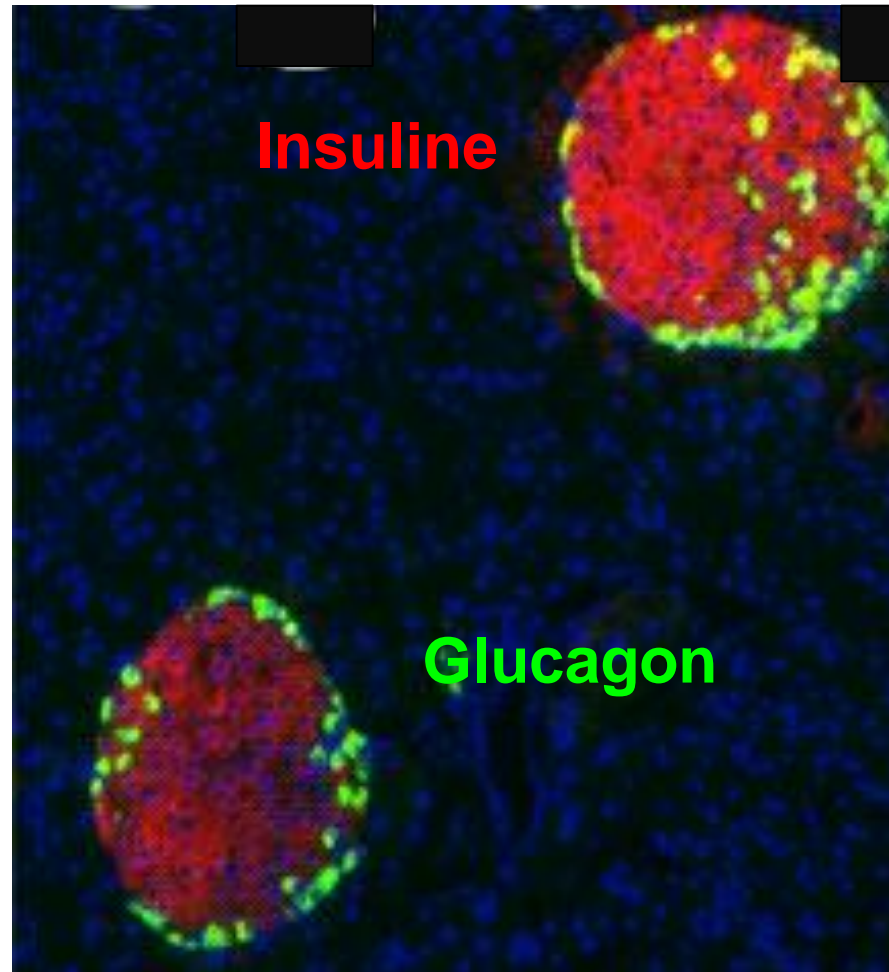


Image: Elisa Ciruolo, University of Torino, Italy, Science, 2008

Le pancréas – immunohistochimie

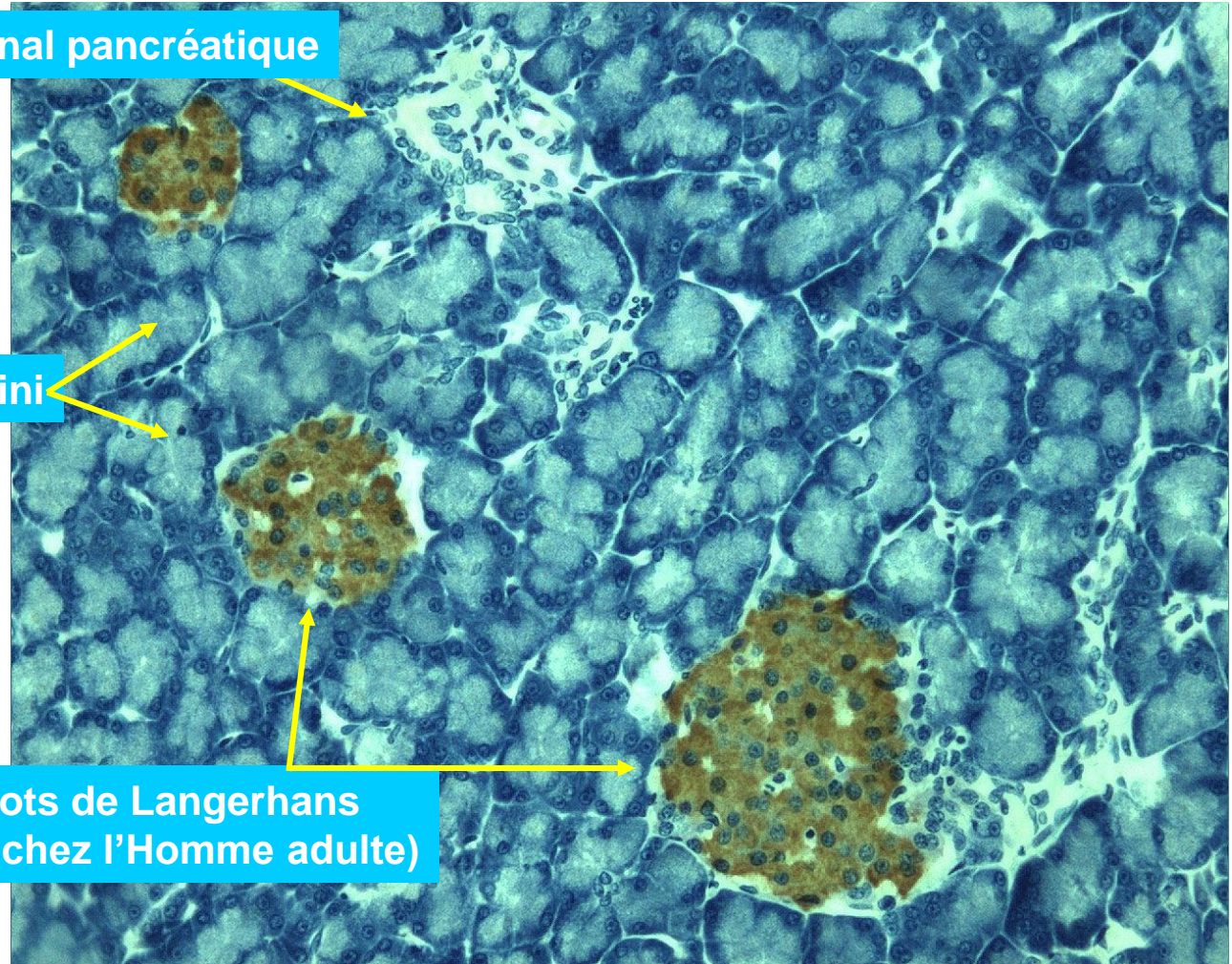
EXOCRINE
(98-99%)

Canal pancréatique

Acini

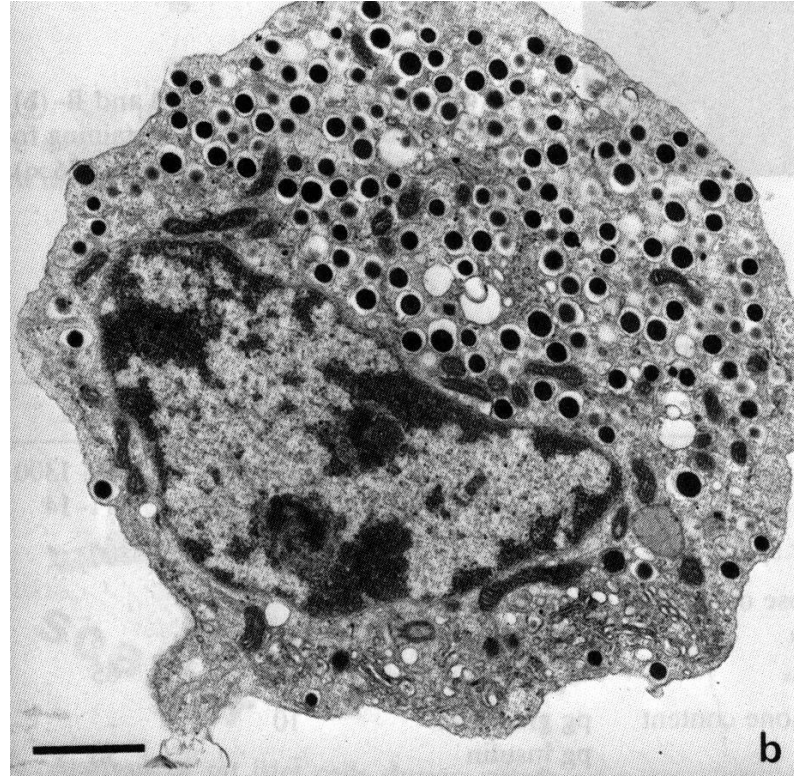
ENDOCRINE
(1-2%)

Îlots de Langerhans
(10^6 chez l'Homme adulte)



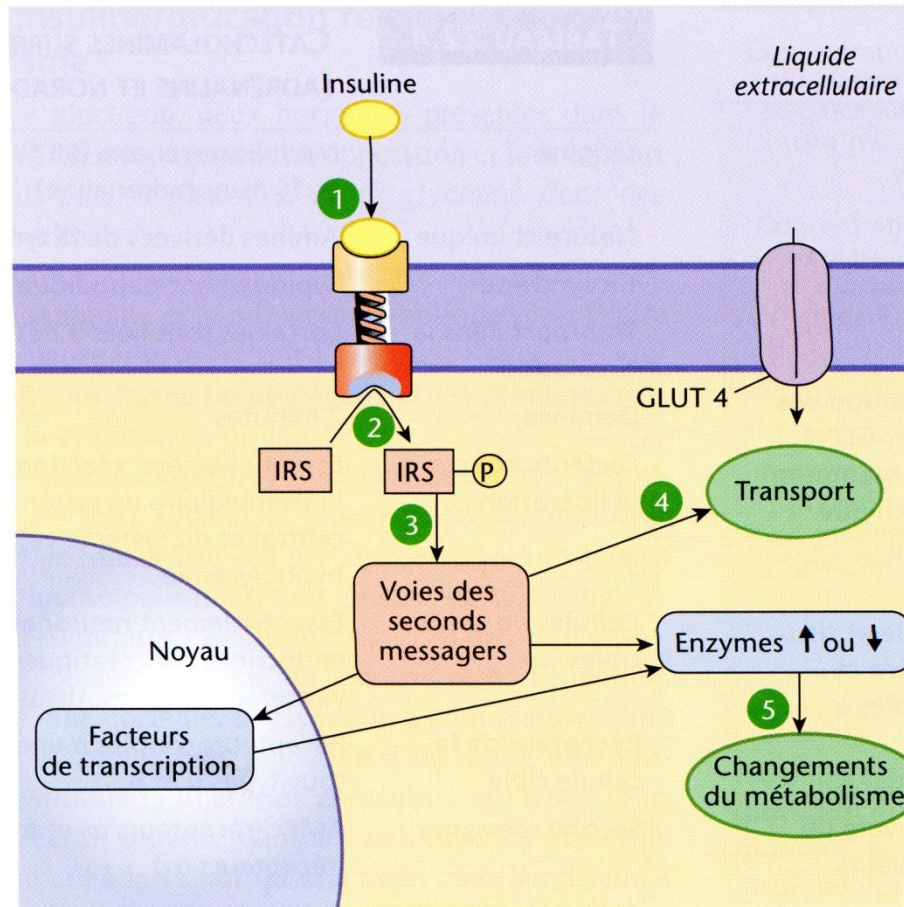
Les cellules endocrines – microscopie électronique

Préparation cellulaire triée et purifiée obtenue avec le FACS.



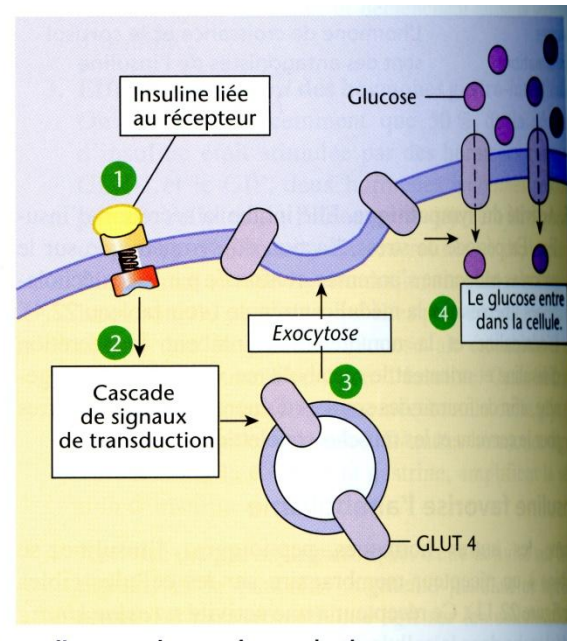
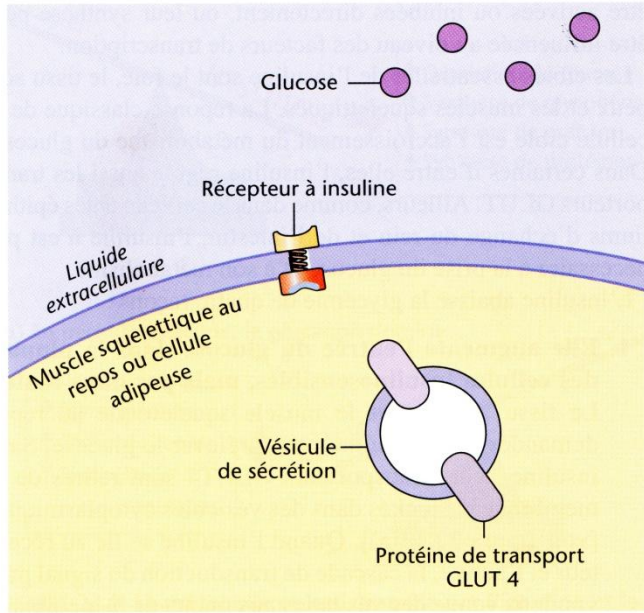
Cellule bêta pancréatique

Mécanismes d'action de l'insuline au niveau des cellules cibles

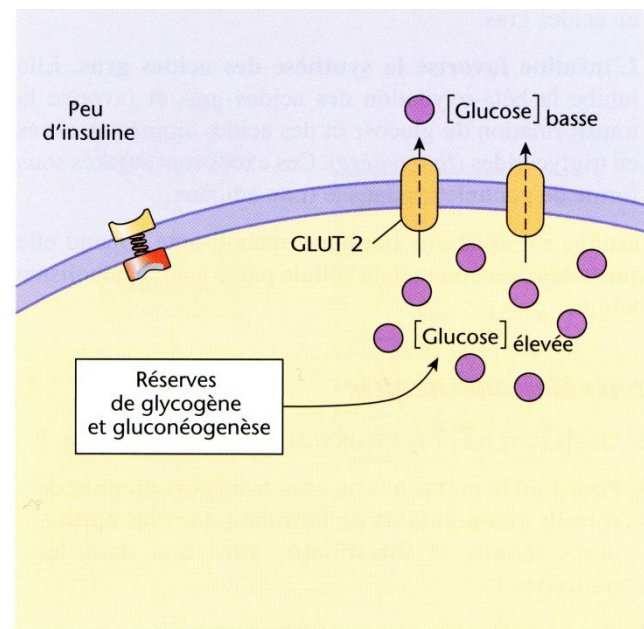
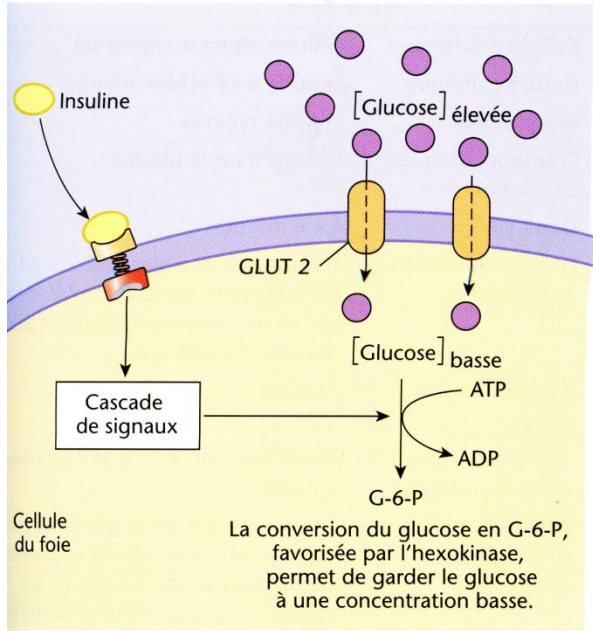


Tissu adipeux et muscle


Tissu adipeux



Foie



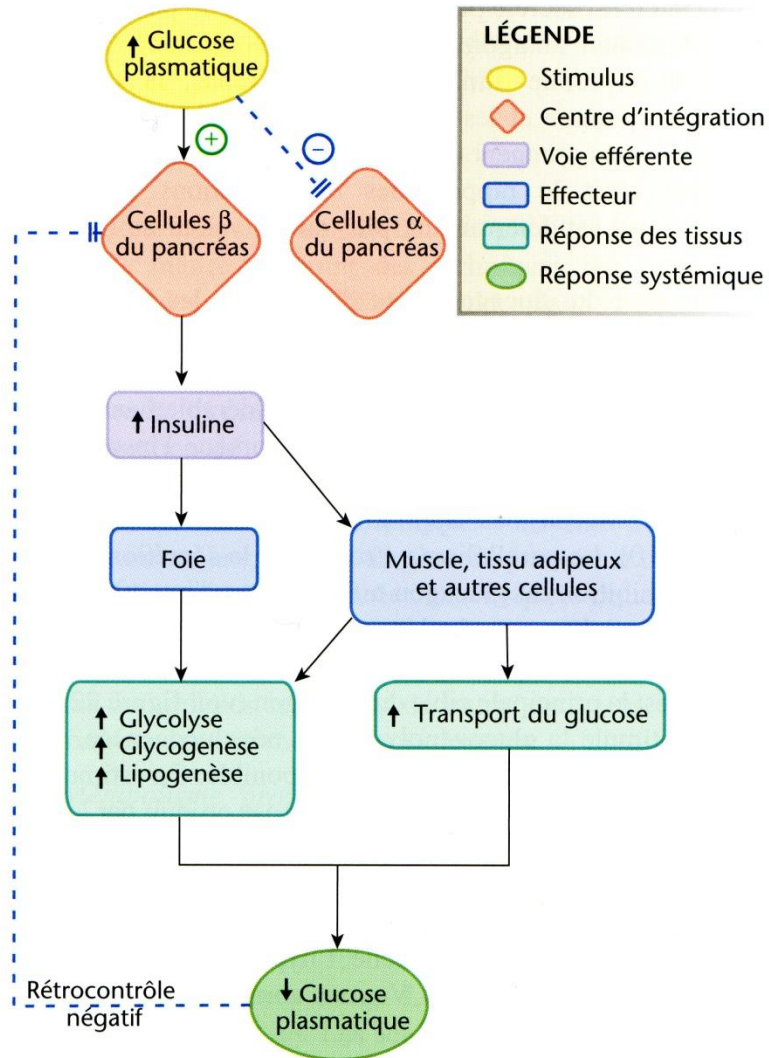
Effets de l'insuline sur le métabolisme

- Glucides:  Utilisation de glucose par les cellules insulinosensibles – GLUT 4
Stimule la glycogenogenèse (hépatique et musculaire)
Inhibe la glycogénolyse et la néoglucogenèse hépatique
- Lipides: Stimule la lipoprotéine lipase
Stimule la lipogenèse (tissu adipeux et foie -lorsque tout le glucose a été mis sous réserve en glycogène du foie)
Inhibe la lipolyse (lipase hormonosensible inhibée) antilipolytique
- Protéines: Stimule le transport actif des acides aminés vers cellules musculaires
Stimule la synthèse de protéines à partir des acides aminés
Inhibe la protéolyse

Secrétée à l'état post-prandial

Insuline = hormone de l'anabolisme

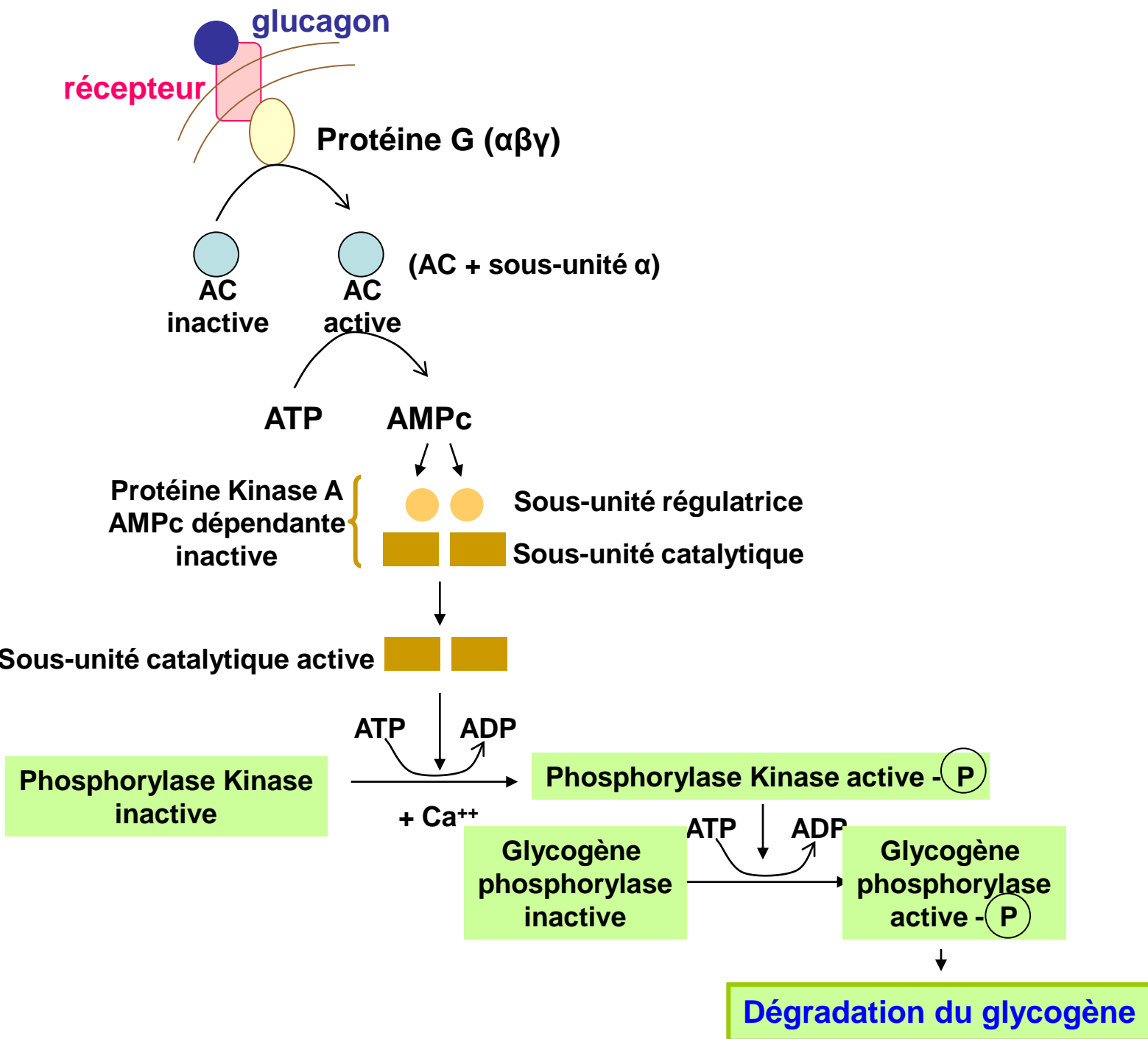
Réponse hormonale à l'hyperglycémie

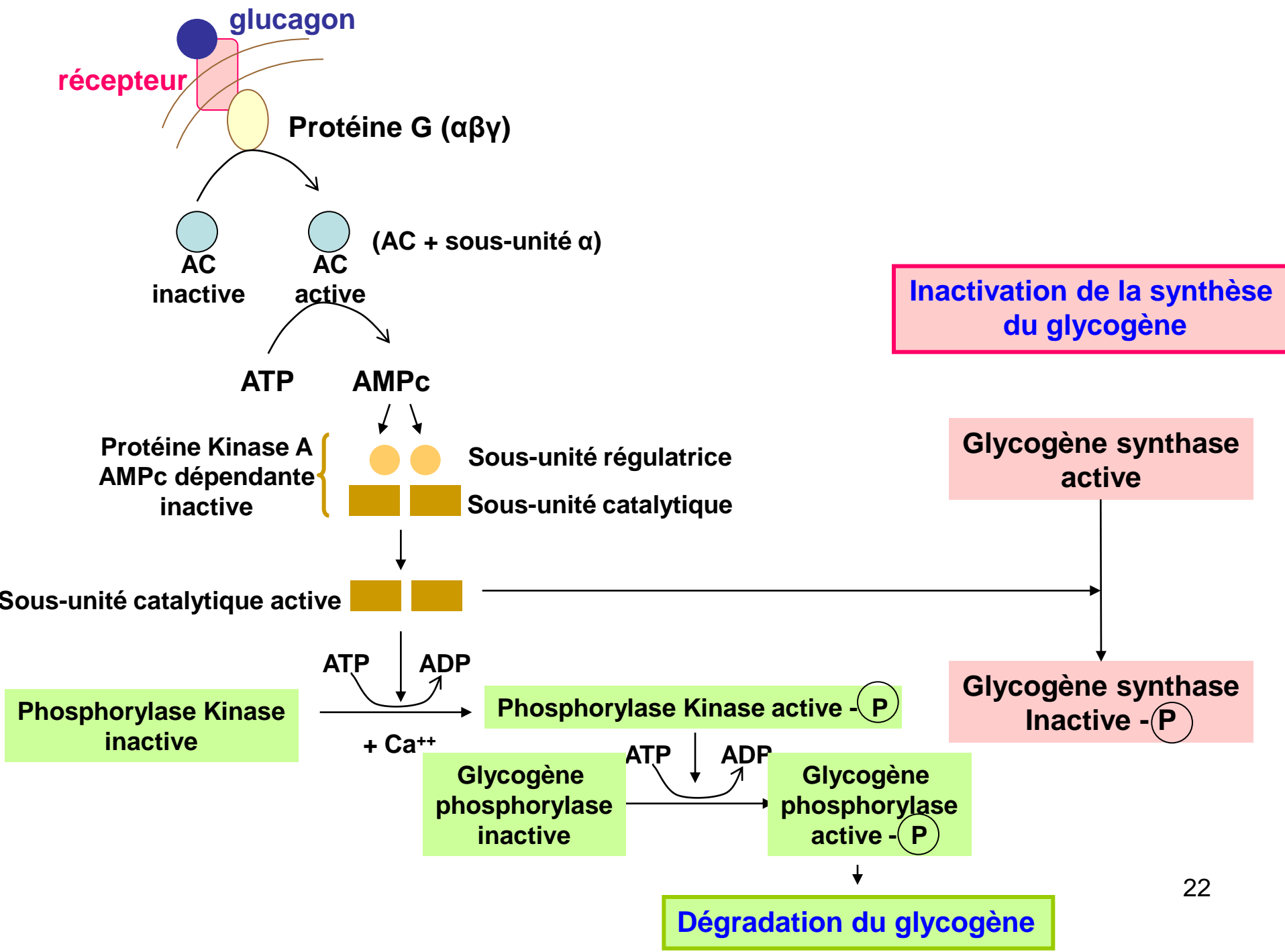


Voie de signalisation du glucagon

Les seules cellules qui possèdent beaucoup de récepteurs du glucagon sont les hépatocytes.

→ Voie de signalisation pour la glycogénolyse





Effets du glucagon sur le métabolisme

Glucides: ↗ *Production hépatique de glucose (glycogénolyse et néoglucogenèse)*

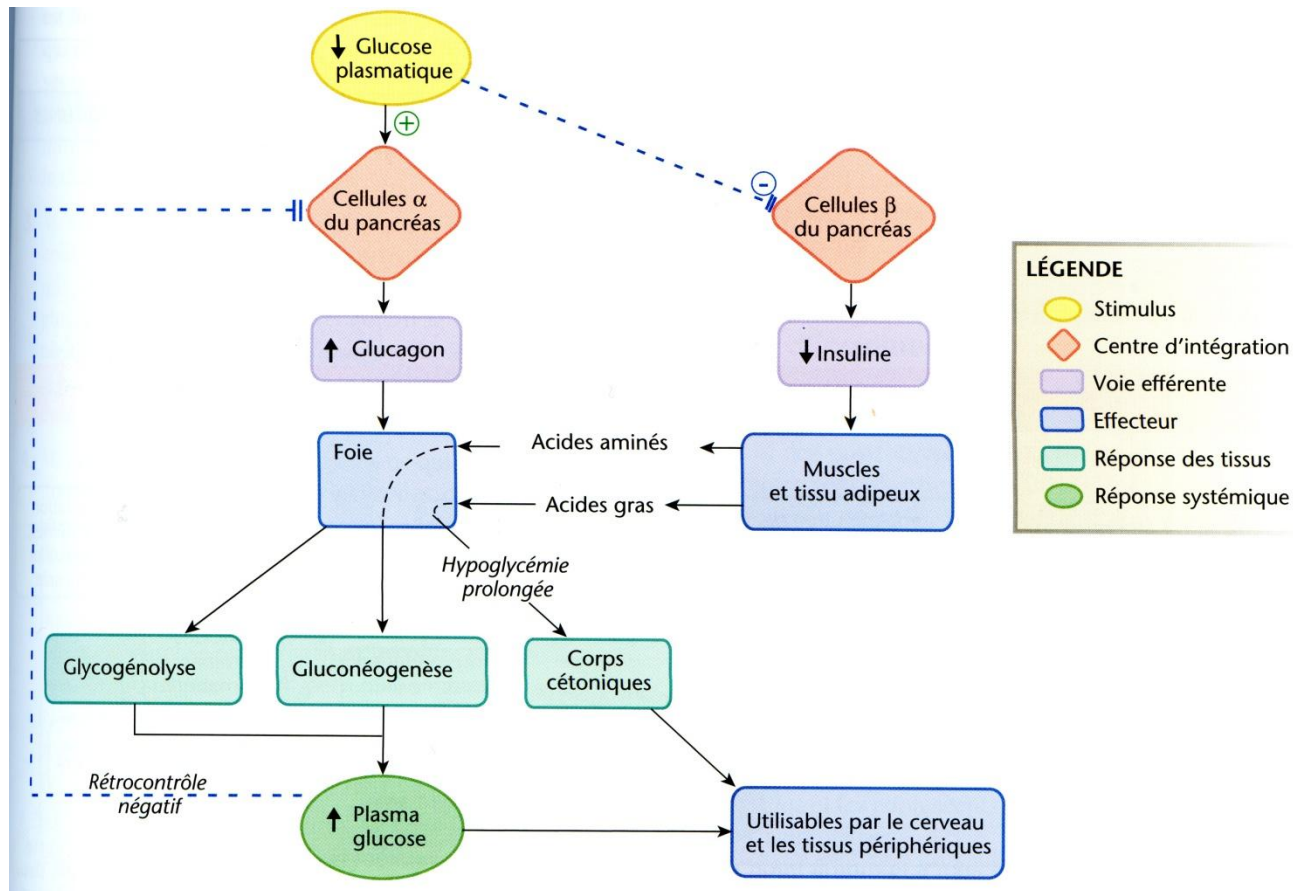
Lipides: *Stimule la lipolyse (frein exercé par l'insuline levé)
inhibe la lipogenèse*

Protéines: *Stimule le catabolisme des protéines au niveau hépatique*

Sécrété à jeun

glucagon = hormone du catabolisme

Réponse hormonale à l'hypoglycémie



2^{ème} partie

Les phénotypes diabétiques – DT1 et DT2

- 1- Généralités
- 2- Dépistage, diagnostic, surveillance des diabètes
- 3- Classification étiologique des diabètes
- 4- Diabète de type 1
 - Principales caractéristiques cliniques
 - Les différents stades de développement de la maladie
 - Pathogénie
 - Epidémiologie
 - Les modèles animaux
- 5- Diabète de type 2
 - Obésité, insulino-résistance et DT2
 - Les anomalies de la sécrétion d'insuline par les cellules bêta pancréatiques
 - Etiologie des anomalies de l'insulinosécrétion au cours des DT2
 - Les modèles animaux

Diabète – hyperglycémie chronique

Diabète de type 1

Destruction auto-immune des cellules β pancréatiques

Diabète de type 2

*Cellules cibles moins sensibles à l'action de l'insuline
Epuisement fonctionnel des cellules β résiduelles
Masse de cellules β diminuée de 50%*

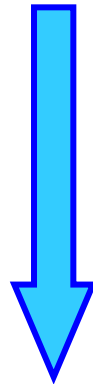
**Hyperglycémie
 $\geq 1,26$ g/L (7 mM) à jeun**

Dépistage de la maladie

SIGNES CLINIQUES

polyurie
glycosurie
polydipsie
polyphagie
asthénie
amaigrissement

LES METHODES



1- Recherche de la glycosurie

2- Détermination de la glycémie à jeun

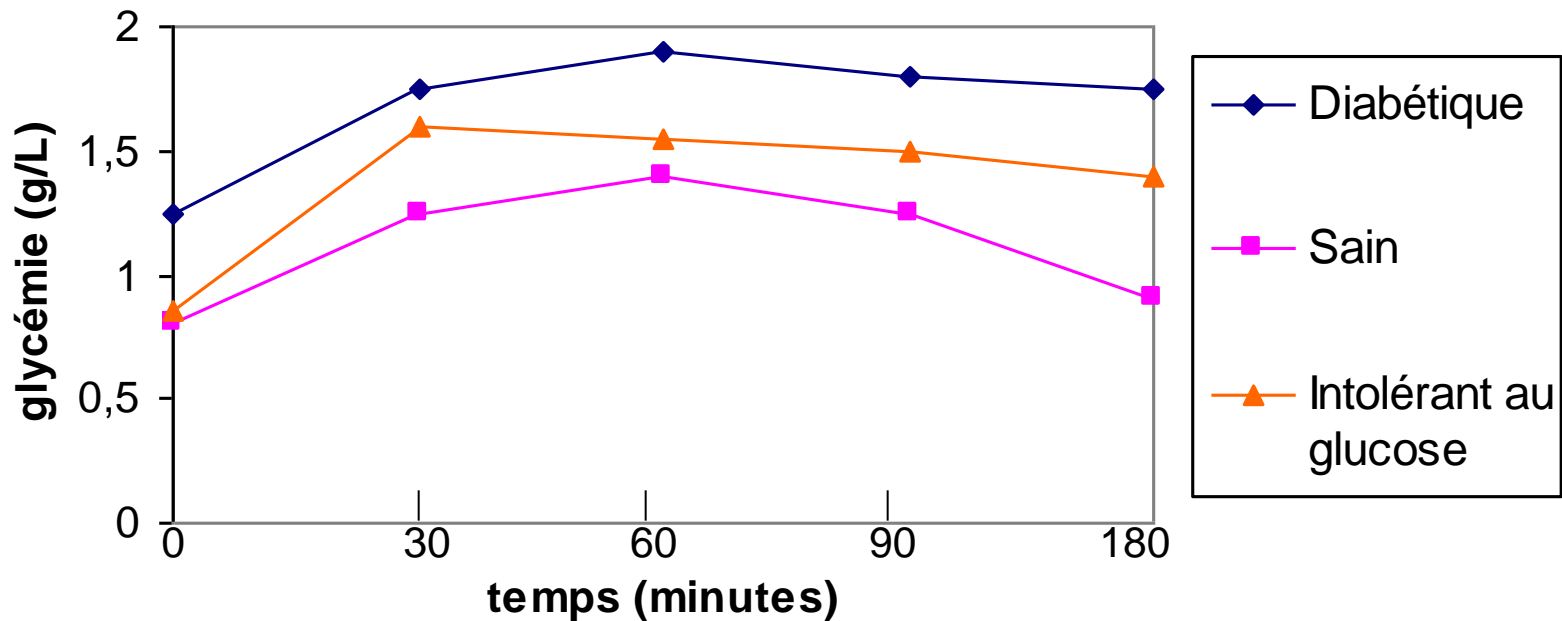
3- Epreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale (notion de tolérance au glucose)

4- Mesure de l'hémoglobine glyquée

Hyperglycémie provoquée par voie orale HGPO

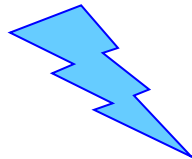
Hyperglycémie provoquée par voie orale ou HGPO (75g glucose)

Notion de tolérance au glucose



Surveillance des diabètes – hémoglobine glyquée

Glycation non enzymatique post-traductionnelle sur la valine N-terminale de la chaîne bêta de l'hémoglobine A



- Durée d'exposition au glucose
- Durée de vie des hématies



| % HB Glyquée | Homme | rat |
|-------------------|-------|-----|
| témoin | 4-6 | 2-3 |
| Contrôle souhaité | 7 | |
| Mauvais contrôle | >8 | >5 |

Critères diagnostiques du diabète et des troubles de glucorégulation

Concentration de glucose dans plasma veineux

Diabète

Glycémie à jeun
ou à 2h de l'HGPO $\geq 1,26$ g/L (7,0 mM) ou
 $\geq 2,00$ g/L (11,1 mM)

Intolérance au glucose

Glycémie à jeun (si mesurée)
et à 2h de l'HGPO $< 1,26$ g/L (7,0 mM) et
1,40-1,99 (7,8-11,0 mM)

Hyperglycémie modérée à jeun

Glycémie à jeun
et à 2h de l'HGPO (si mesurée) 1,10-1,25 g/L (6,1-6,9mM) et
 $< 1,40$ (7,8mM)

DIABETE DE TYPE 1

Principales caractéristiques cliniques du diabète auto-immun (DT1)

- **Le DT1 représente actuellement 10% de l'ensemble des cas de diabète.**
- **C'est (encore) la forme de diabète la plus courante chez l'enfant et l'adolescent: environ 40 % des patients développent la maladie avant l'âge de 20 ans. Le DT1 est la maladie chronique la plus sévère chez l'enfant.**
- **Chez l'adulte, la maladie est aussi fréquente, mais présente un début moins dramatique, parfois diagnostiqué comme un DT2 .**
- **Le DT1 est la principale cause de complications rénales majeures, de cécité et d'amputation ainsi que de maladies cardiovasculaires et de mort prématurée.**

Acidocétose diabétique : complication métabolique

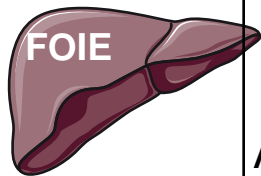
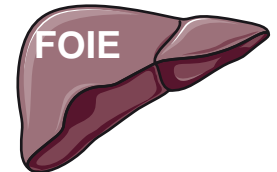
Incidence 4‰

Carence insulinique



↑ Lipolyse
↑ Acides gras

↑ Glycogénolyse et
Néoglucogénèse



Acides gras
↓
Acétyl-CoA
↓
Acétoacétyl-CoA

HYPERGLYCEMIE

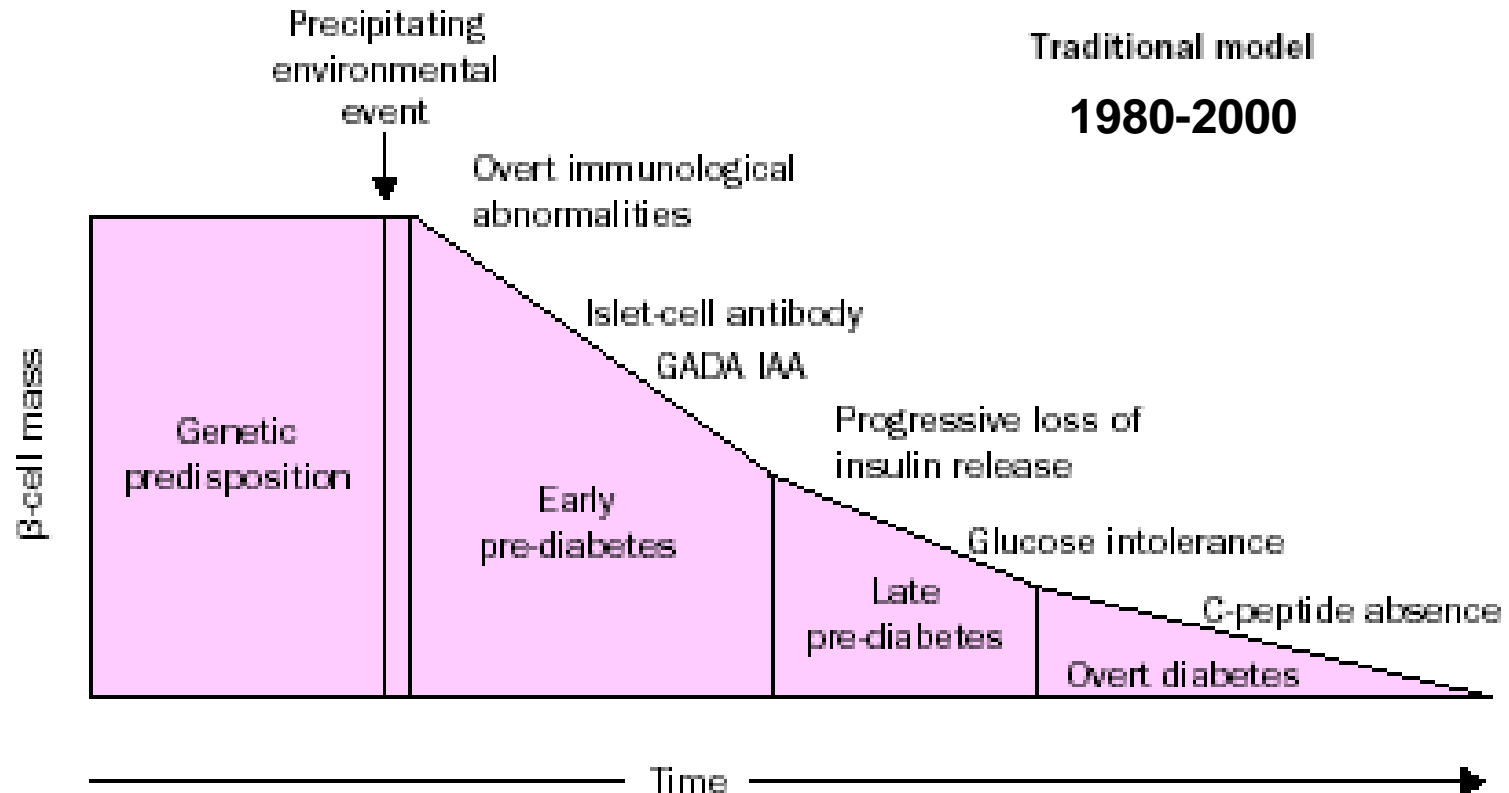
Diurèse osmotique

↑ Cétogénèse
(corps cétoniques)

déshydratation

Acidose (métabolique) sévère
Respiration rapide et profonde
Urine acide
Perte d'eau et d'électrolytes
Hypovolémie
hypotension

Différents stades du développement du DT1



A l'apparition des signes cliniques, lorsqu'il ne reste plus que 10 à 20% de la masse β initiale, la maladie a déjà évolué à bas bruit, depuis plus ou moins longtemps, au niveau du pancréas (insulite).

L'insulite, cause de la destruction des cellules β insulino-sécrétrices dans le DT1

Immunohistochimie

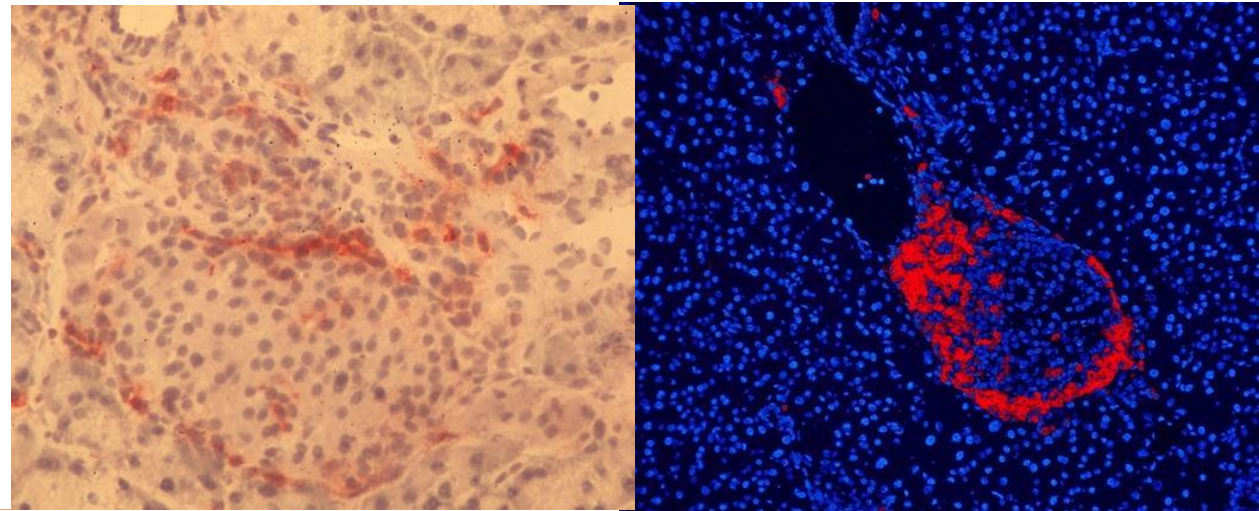
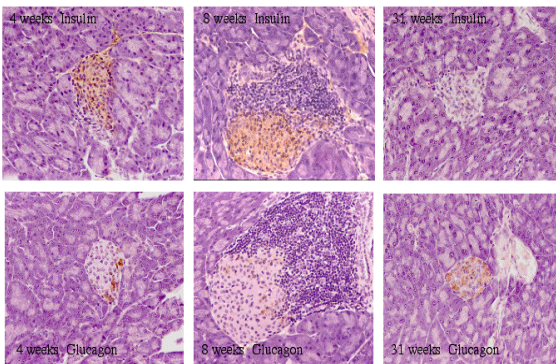
Insuline et glucagon

Macrophages

Lymphocytes T

(Cellules β versus α)

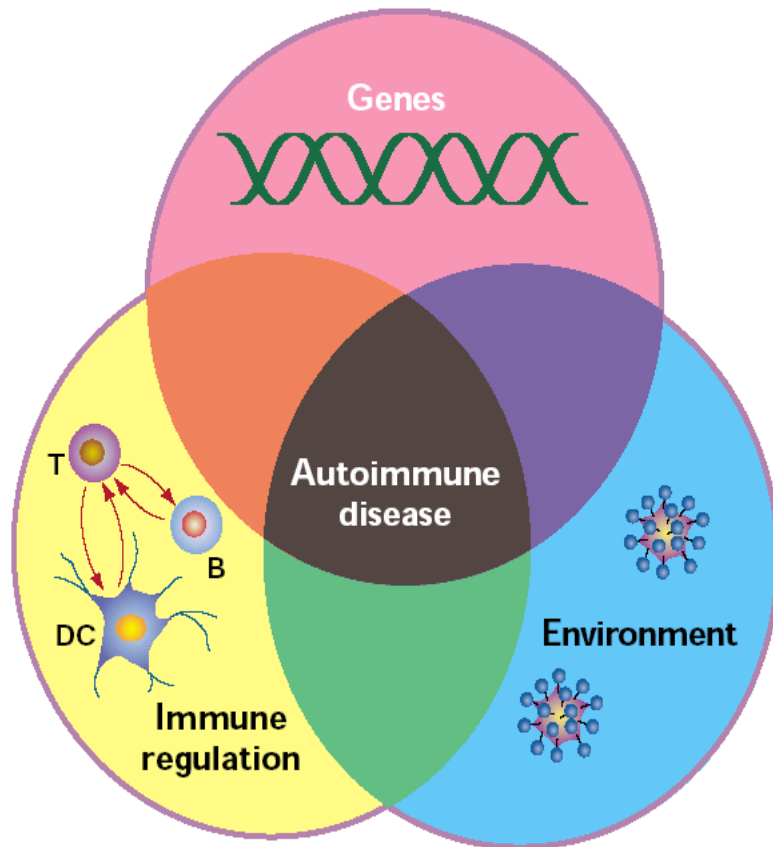
Figure 1. Progression of diabetes in the NOD mouse



L'insulite :

- correspond à l'accumulation progressive de macrophages et de lymphocytes T et B au niveau des îlots de Langerhans;
- entraîne la destruction des cellules β insulino-sécrétrices.

Pathogénie du diabète auto-immun (DT1)



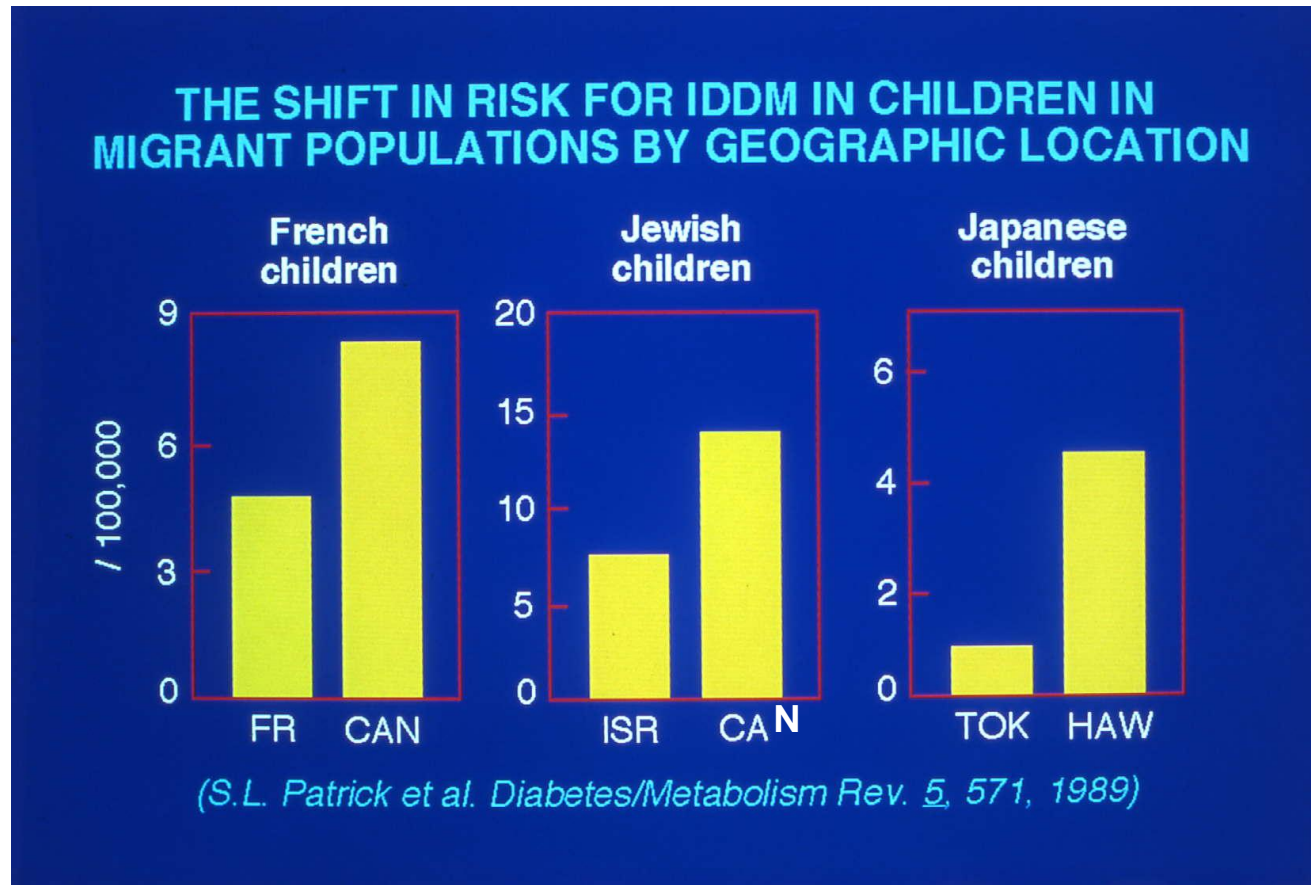
**Fathman G Nature Immunology
2001 (9): 759-761**

- La pathogénie du DT1A est extrêmement complexe et encore partiellement incomprise.
- Différents facteurs interviennent dans la pathogénie de la maladie chez l'homme et/ou l'animal:
 - des anomalies de la réponse immunitaire (cellules dendritiques, macrophages, lymphocytes);
 - des facteurs génétiques, mais:
 - * pas plus de 50% de concordance du DT1A chez les jumeaux homozygotes;
 - * augmentation drastique de l'incidence depuis 1945.
 - des facteurs de l'environnement.

Epidémiologie du diabète auto-immun (DT1)

- **Variation géographique de l'incidence**
- **Gradient Nord-Sud et points-chauds (high spots)**
- **Variation de l'incidence chez les populations migrantes**
- **Race, âge, puberté, sexe**
- **Variation saisonnière**
- **Augmentation séculaire de l'incidence**

Epidémiologie: variation de l'incidence chez les populations migrantes



Augmentation de l'incidence chez certains migrants

→ Rôle de facteurs de l'environnement: climatiques et/ou diététiques

Les modèles animaux spontanés de DT1

- **Le rat Bio-Breeding (BB) rat**
- **Le rat Long-EvansTokushima**
- **La souris nonobese diabetic (NOD) mouse**

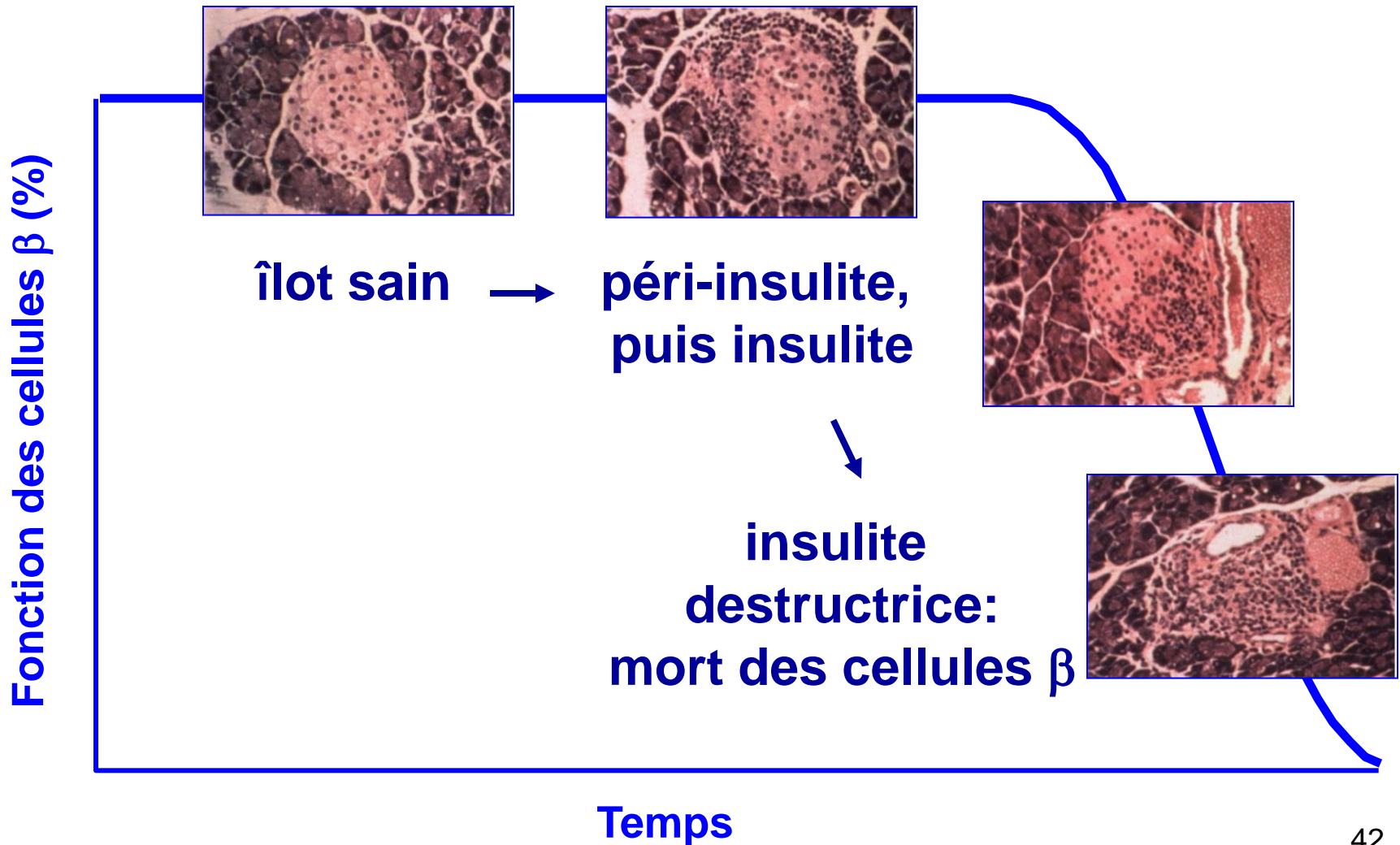
Souris nonobese diabetic (NOD):

caractéristiques du développement de la maladie



- Développent spontanément la maladie
- Début de l'infiltration en périphérie des îlots de Langerhans par les cellules dendritiques et les macrophages à l'âge de 3 semaines (sevrage), puis péri-insulite et insulite (lymphocytes)
- Apparition du diabète à partir de 12 semaines d'âge
- Les femelles davantage et plus vite affectées que les mâles
- Incidence cumulée en milieu SPF (specific pathogen-free):
 - 80% des femelles
 - 40% des mâles
- **Sont consanguines et donc identiques au niveau de tous les loci**

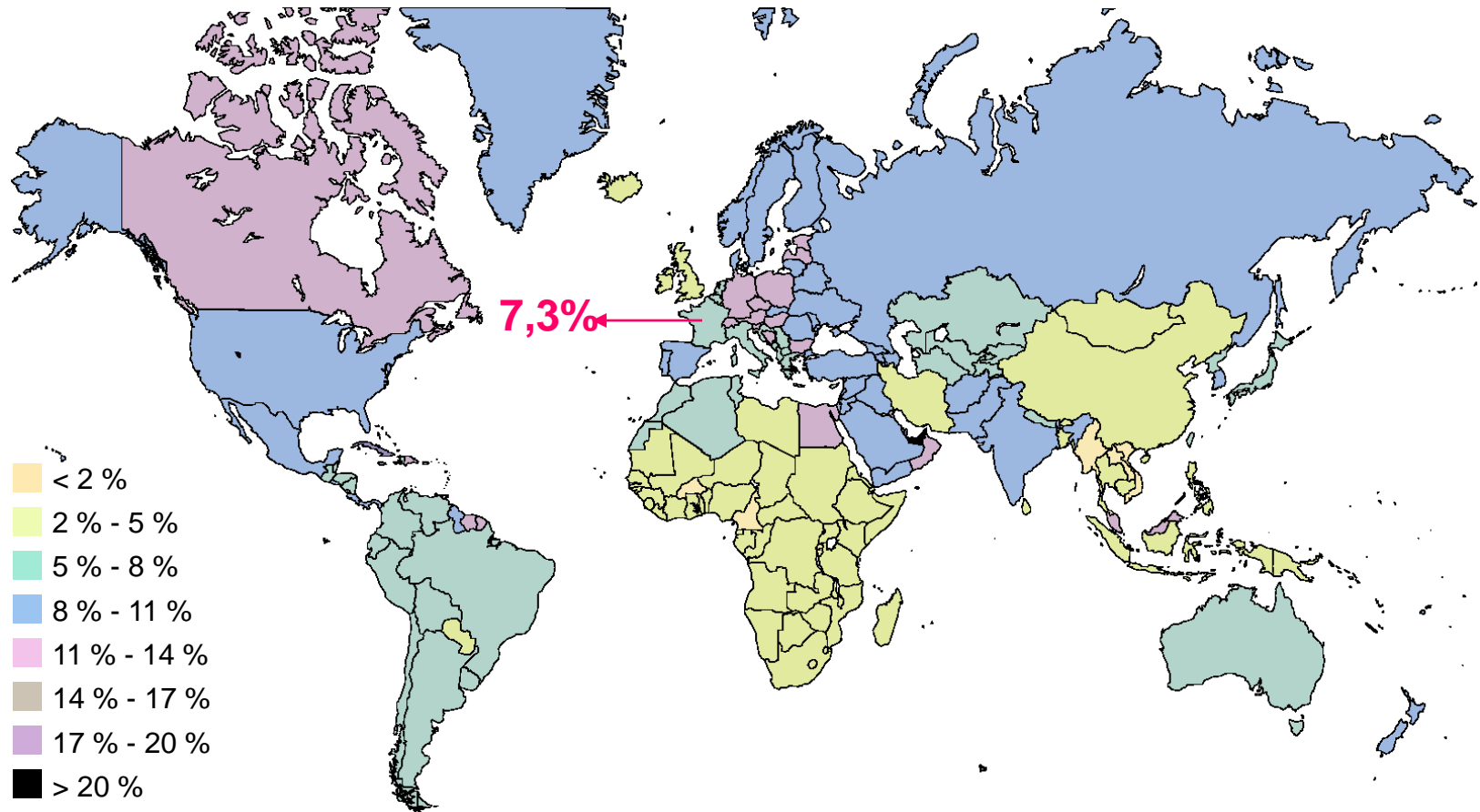
Histoire naturelle du DT1 de la souris NOD: l'insulite



DIABETE DE TYPE 2

Épidémie de Diabète

Estimation de la prévalence du diabète dans le monde en 2025



Diabetes Atlas Seconde Édition Résumé (<http://www.eatlas.idf.org>)

Groupes ethniques particuliers

- Indiens Pima en Arizona Central
- Habitants des îles Nauru du Pacifique Ouest
 - Plus forte prévalence de DT2 au monde (35%)
 - Prévalence d'obésité = 75% (insulinorésistance)
 - Génotype économe ou d'épargne (Neel, 1962)
 - ✓ *Les individus qui survivent à des famines sont plus richement dotés en allèles économes de gènes participant à la mise en réserve d'énergie. Mais les mêmes individus, lorsqu'ils se retrouvent en situation de surabondance alimentaire, ne peuvent pas s'adapter et développent une obésité.*
- Comparaison facteurs environnement/fond génétique
 - Prédisposition génétique
 - Affections polygéniques

Le Diabète de Type 2 - Physiopathologie

Facteurs génétiques

Facteurs environnementaux



Le Diabète de Type 2 - Physiopathologie

Anomalie de la réponse
insulino-sécrétoire au glucose

↘ sensibilité tissulaire aux effets de
l'insuline au niveau des muscles,
du tissu adipeux et du foie



Hyperglycémie chronique

↘ **congénitale et/ou acquise
de la masse des cellules β**

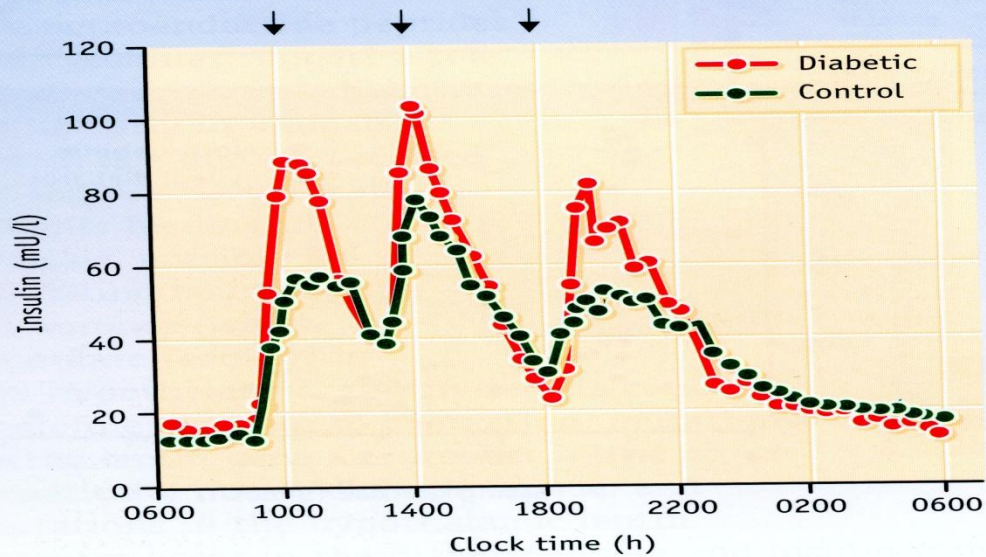
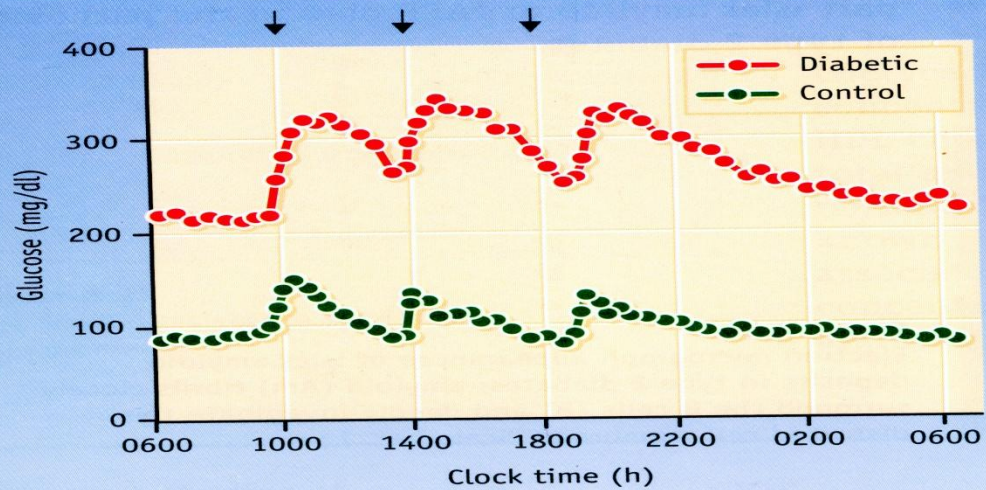


Figure 8.18
 Concentrations of glucose and insulin in diabetic and control subjects.
 Times at which meals were served are indicated by arrows.

Le Diabète de Type 2 - Insulinorésistance

FOIE

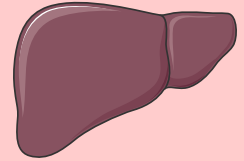
À jeun:

Production hépatique de glucose augmentée (+0,5mg/min/Kg)

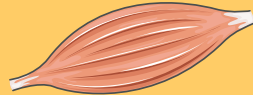
Post-prandiale:

Production hépatique de glucose moins bien freinée par l'hyperinsulinisme

Pas de modification de l'utilisation du glucose



MUSCLES



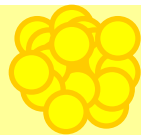
À jeun:

Utilisation de glucose plus élevée (hyperglycémie)

Post-prandiale

L'utilisation du glucose est diminuée de 50%

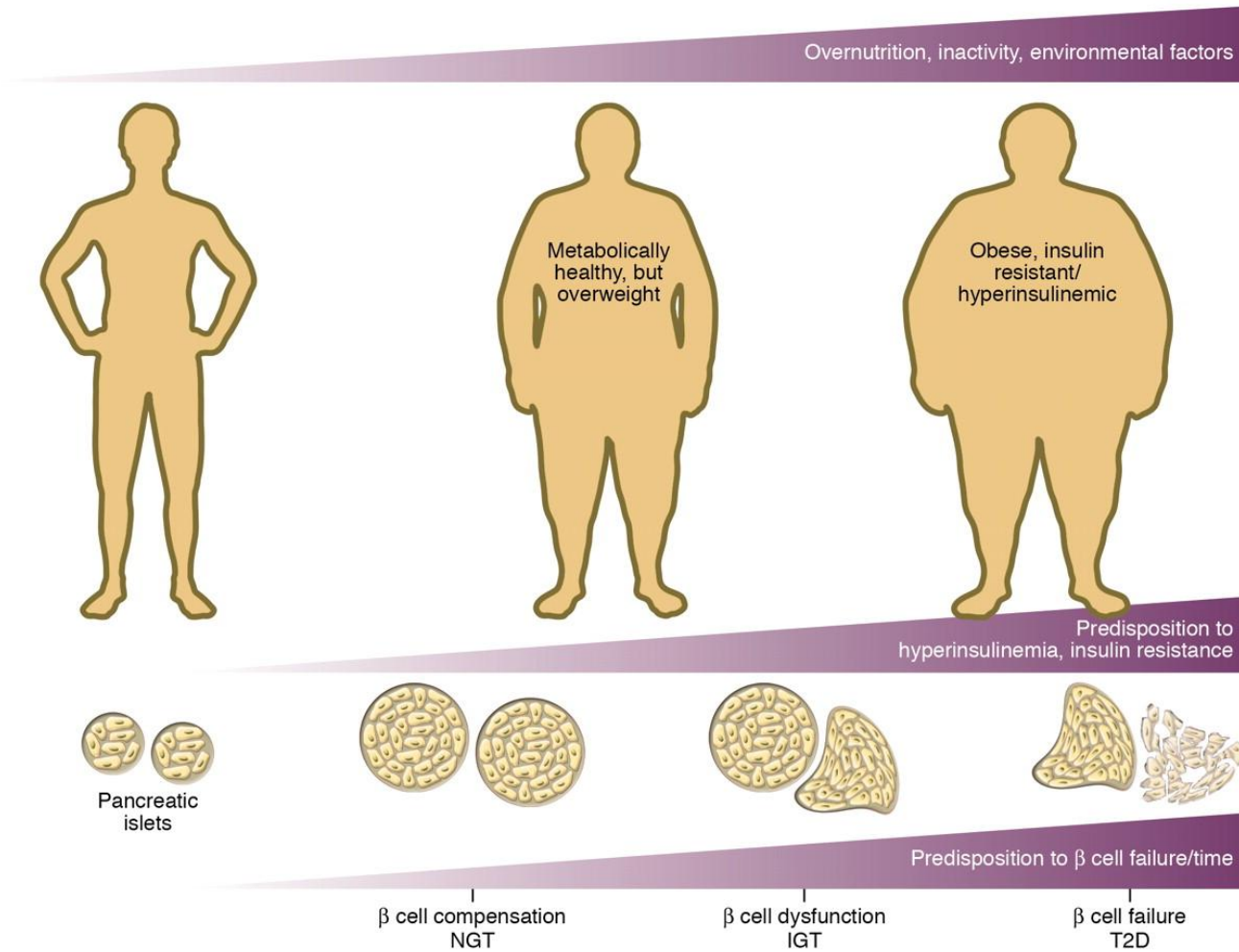
TISSU ADIPEUX



Post-prandial:

Lipolyse moins bien freinée par l'hyperinsulinisme

Obésité, insulino-résistance et DT2



Prentki, M. et al. J. Clin. Invest. 2006;116:1802-1812



Anomalies de la sécrétion d'insuline dans le DT2

1- Sécrétion d'insuline à l'état basal

- ✓ insulinopénie relative
- ✓ perte du caractère pulsatile de la sécrétion d'insuline
- ✓ quantité importante de proinsuline sécrétée

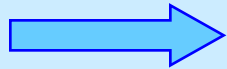
2- Sécrétion d'insuline en réponse au glucose

- ✓ disparition totale ou partielle de la 1^{ère} phase
- ✓ disparition de l'effet potentialisateur du glucose
- ✓ défaut spécifique au glucose
- ✓ anomalie réversible

3- Sécrétion d'insuline en réponse au sécrétagogues non glucosés

Etiologie de la perte de la fonction bêta cellulaire dans le DT2

FACTEURS GENETIQUES



FORMES MONOGÉNIQUES DE TYPE 2 = RARES

Glucokinase,
HNF-4 α , HNF-1 α , HNF-1 β , IPF-1, NeuroD1/b2

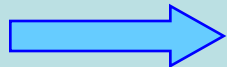
MODY (5%)

ADNmt

Diabète mitochondrial transmis par la mère associé à une surdité (<1%)

Gène de l'insuline

Hyperproinsulinémie et diabète



ETIOLOGIE COMPLEXE

GENES DE SUSCEPTIBILITE DU DT2 NON CONNUS A L'HEURE ACTUELLE

MALADIE POLYGENIQUE

FACTEURS GENETIQUES EN INTERACTION AVEC FACTEURS ENVIRONNEMENTAUX

Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY)

Diabète ayant globalement les caractéristiques d'un DT2

Chez des sujets jeunes ou très jeunes

Transmis sur le mode autosomal dominant

Forme monogénique de diabète

Défaut génétique de la fonction de la cellule bêta

5% des DT2

Les modèles animaux de DT2

1- Obtenus expérimentalement par:

administration de drogue diabétoène

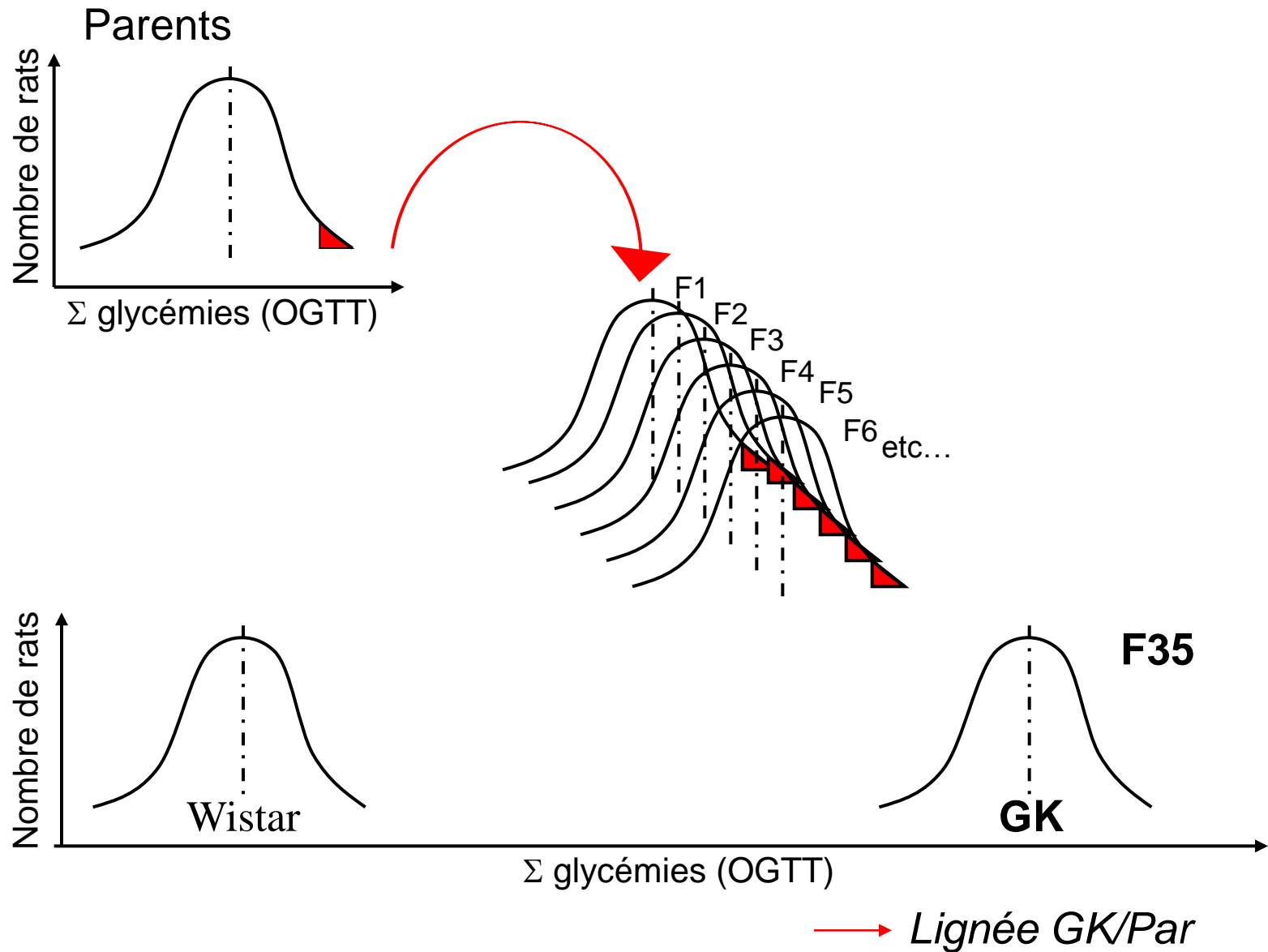
techniques de transgène et d'invalidation de gènes

techniques chirurgicales (pancréatectomie)

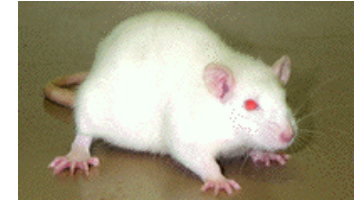
administration de régimes spéciaux

2- Spontanément diabétiques

Le rat GK, un modèle de diabète spontané de type 2



Le rat GK – Modèle génétique de DT2



Prédiabète

Diabète

- Normoglycémie
- ↗ action insuline

- Insulinorésistance
- Hyperglycémie basale
- Intolérance au glucose
- Défaut d'insulinosécrétion

• ↘ **masse des cellules β pancréatiques**

Embryon

Jeune

Adulte

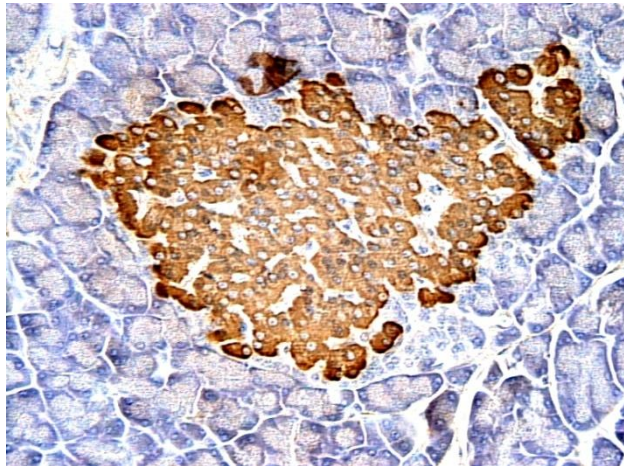
0
22 0
Naissance

28
Sevrage

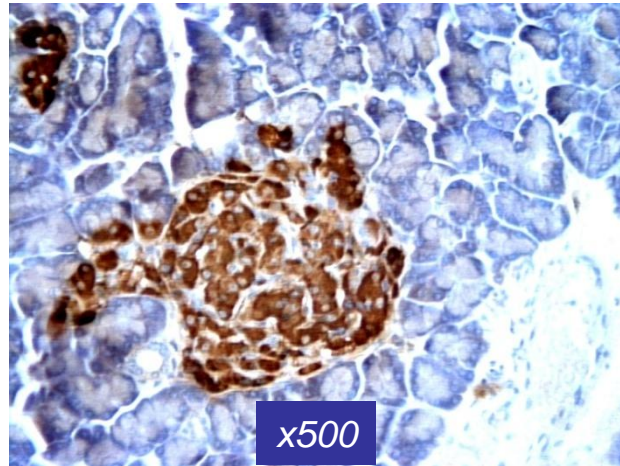
Âge
(jours)

Le modèle de DT2 du rat GK : fibrose de l'îlot

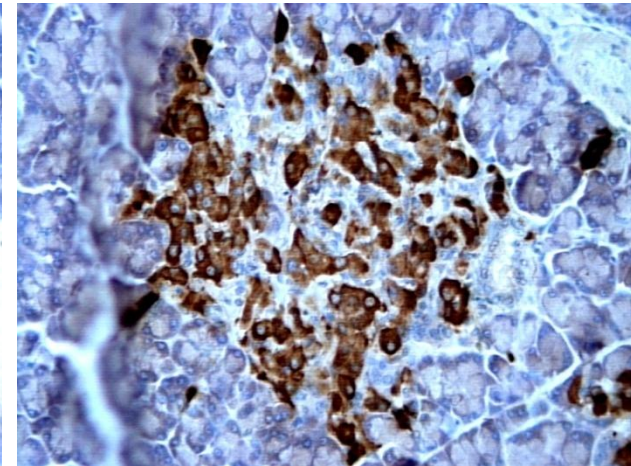
Marquage immunohistochimique de l'insuline



Wistar témoin
Gros îlot



GK
Petit îlot



GK
Gros îlots infiltré
de tissus fibreux
(fibrose)

La transcriptomique.....

Etude du transcriptome

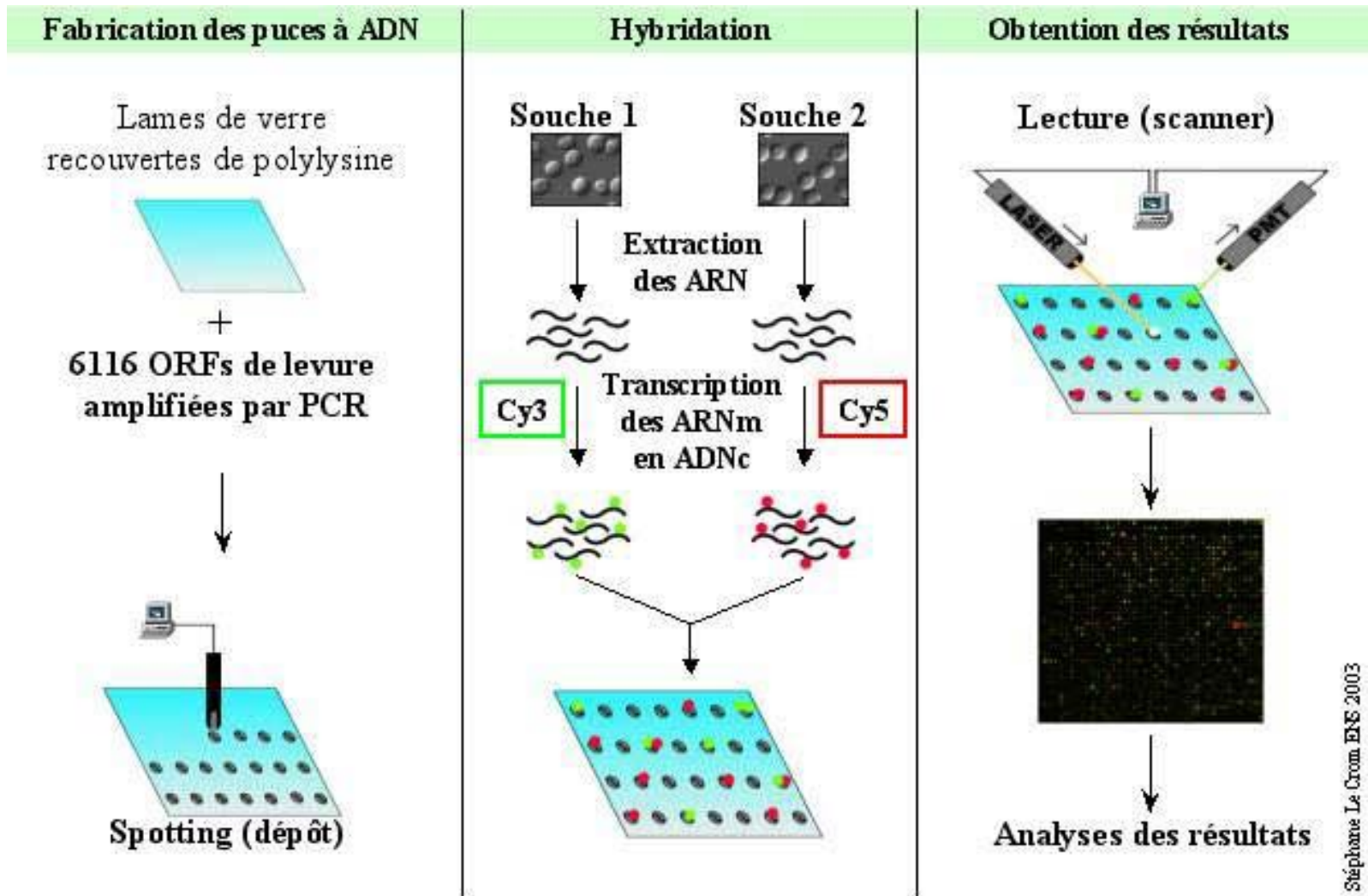
Ensemble des ARNm issu d'une partie du génome d'un tissu ou d'un type cellulaire → niveau d'expression des gènes à un temps t

La caractérisation et la quantification du transcriptome permet:

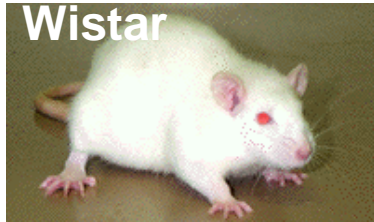
- d'identifier des gènes actifs**
- de définir des réseaux d'expression de gènes**
- mieux comprendre le fonctionnement cellulaire**

Puces à ADN

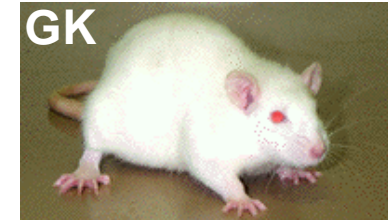
Repose sur le principe de la complémentarité des brins d'ADN



Expression différentielle des gènes GK adulte (après 3 mois d'hyperglycémie)



20 rats, 300 îlots/rat



50 rats, 70 îlots/rat

Rats 4 mois



Îlots isolés



ARN total

cRNA



Expression différentielle des gènes

Puces à ADN Affymetrix
Rat genome U34A
(7000 gènes)

Validation des résultats de puce

PCR en temps réel

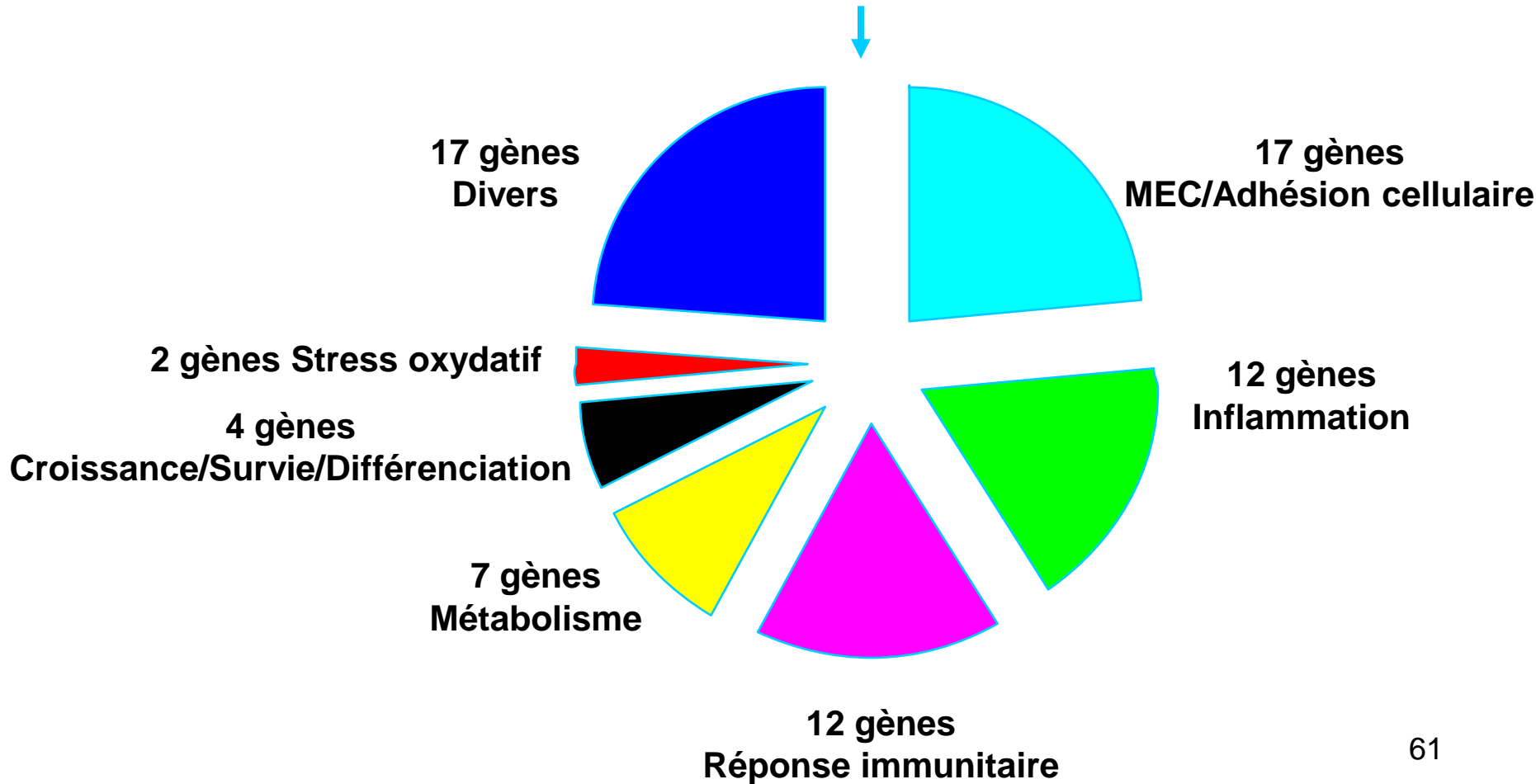
Facteur ≥ 2



Expression différentielle des gènes GK - Résultats

Sous-expression GK
19 gènes

Sur-expression GK
71 gènes



Chez le rat GK adulte:

- Une réaction inflammatoire insulaire accompagne la fibrose des îlots
- Dérégulation de gènes de la vascularisation, de l'inflammation et de la régénération dans les îlots.

→ Cause ou conséquence du diabète ?

Islet Inflammation and Fibrosis in a Spontaneous Model of Type 2 Diabetes, the GK Rat

Françoise Homo-Delarche,¹ Sophie Calderari,¹ Jean-Claude Irminger,² Marie-Noëlle Gangnerau,¹ Josiane Coulaud,¹ Katharina Rickenbach,² Manuel Dolz,¹ Philippe Halban,² Bernard Portha,¹ and Patricia Serradas¹

DIABETES, VOL. 55, JUNE 2006

Merci de votre attention !