

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA – Bejaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique
Spécialité Pharmaco-Toxicologie



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Le traitement du diabète de type 1 par
thérapie génique et cellulaire**

Présenté par :

SAHEB Zahra

OURTIRANE Thamila

Devant le jury composé de :

Mme ADRAR.S

MAA

Présidente

Mr BRIBI. N

MCA

Promoteur

Mr AMIROUCHE.A

MCB

Examineur

Année universitaire : 2021 / 2022

Remerciements

Nous remercions en premier lieu ALLAH le tous puissant de nous avoir illuminé et ouvert les portes de savoir, et de nous avoir donné la volonté et le courage d'élaborer ce travail.

Nous tenons à remercier spécialement notre promoteur Mr BRIBI.N pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide, ses encouragements, ses précieux conseils, sa confiance, sa patience, tout au long de la réalisation de ce mémoire. Pour tout cela, nous tenons à vous exprimer nos sentiments de profonde gratitude.

Nous remercions également Mme ADRARS d'avoir accepté de présider le jury et Mr AMIROUCHE.A d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous tenons à témoigner toutes notre reconnaissance à nos parents et à toutes personnes qui ont contribué au succès de ce modeste travail.

Merci à tous les enseignants artisans de notre formation universitaire.

Merci

Dédicace

Avant tout, je remercie le Dieu tout puissant, qui m'a donné la volonté, le courage et la patience et qui a guidé mes pas vers le droit chemin durant mes années d'études.

Je dédie ce travail

A mes très chers parents eux qui ont été la source de ma réussite grâce à leurs prières et leurs encouragements, qui m'ont offert leur amour indéfectible et qui n'ont cessé de me donner le nécessaire à ma réussite.

Toute ma gratitude pour leurs soutient tout au long de mes études, que dieu les garde pour moi.

A mon très cher frère Ouaghliis et sa femme Hinouche

A ma très chère soeur Yamina

A ma très chère soeur Kenza et son mari Younes et sans oublier ma nièce Aya.

A mon mari Yacine et toute sa famille.

Mes spéciales dédicaces à mes autres chères sœurs : Fatima, Houa et Cylia.

A toi ma binôme thamila et ta famille.

Mes chaleureux dédicaces à vous mes amis : Yamina, Dyhia et Rezika.

A tout les professeurs spécialement notre promoteur Mr BRIBI.N et les étudiants de la promotion de « pharmaco-toxicologie 2022 ».

A ceux qui me sont chers, que j'aime et qui m'aime et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

Zahra.S

Dédicace

Avant tout, je remercie le Dieu tout puissant, qui m'a donné la volonté, le courage et la patience et qui a guidé mes pas vers le droit chemin durant mes années d'études.

Je dédie ce travail

A mes très chers parents eux qui ont été la source de ma réussite grâce à leurs prières et leurs encouragements, qui m'ont offert leur amour indéfectible et qui n'ont cessé de me donner le nécessaire à ma réussite.

Toute ma gratitude pour leurs soutient tout au long de mes études, que dieu les garde pour moi.

*A mes très chères sœurs : ma dixième maman **Ninouh, Zouina, Didouche** et **Iva** sans oublier mon chat ninette.*

*A ma très chère soeur **Louiza** et son mari **Lahlou** et sans oublier ma nièce **Marikate**.*

*A ma très chère sœur **Hanifa** et son mari **Massi** et ses enfants : **Khokha, Yasmine, Mayssa** et mon unique **Islam**.*

A mes tantes et à mes oncles.

*A toi ma binôme **Zahra** et ta famille.*

*A mon très chère ami **Amine**.*

*Mes chaleureux dédicaces à vous mes amis : **Roza, Nouha, Tina, Cylia, Sarah**.*

*A tout les professeurs spécialement notre promoteur **Mr BRIBI.N** et les étudiants de la promotion de « pharmacotoxicologie 2022 ».*

A ceux qui me sont chers, que j'aime et qui m'aime et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

Thamila.O

Liste des abréviations

- **AAb:** auto-anticorps anti-cellules bêta .
- **AAI:** auto-anticoprs anti insuline .
- **AAV:** Adéno-associés virus.
- **ADN:** Acide Désoxyribonucléique.
- **ADP :** l'adénosine diphosphate.
- **AdV:** Adénovirus.
- **AGCC:** acides gras à chaîne courte.
- **AMPc:** adénosine monophosphate cyclique.
- **ARN:** acide ribonucléique.
- **Arx :** aristaless-related homeobox.
- **ATP :** l'adénosine triphosphate.
- **Ca²⁺ :** Ion de calcium.
- **CMH1:** complexe majeur d'histocompatibilité 1.
- **COA :** l'acétyl-coenzyme A.
- **CPA:** cellules présentatrices d'antigène.
- **CPI:** cellules productrices d'insuline.
- **CSEh:** Cellules souches embryonnaires humaines.
- **CSM:** cellule souche mésenchymateuse.
- **CSPi:** Cellules souches pluripotentes induites.
- **DG:** Le diabète gestationnel.
- **DID:** diabète insulino-dépendant.
- **DNID:** diabète non insulino-dépendant.
- **DS:** diabète sucré
- **DT1:** diabète de type 1.
- **DT2:** diabète type 2.
- **EGFP:** protéine fluorescente verte améliorée.
- **GADA:** auto anticoprs anti-dicarboxylase de l'acide glutamique .
- **Gal-9:** galectine 9.
- **GSIS:** sécrétion de l'insuline stimulée par le glucose.
- **HLA:** antigèn des leucocytes humain.

- **hUC- MSC:** cellules souches mésenchymateuses de cordon ombilical humain.
- **IA-2:** anti insuline 2.
- **ICA:** anticellules des ilots.
- **IFN γ :** interféron gamma.
- **IL-1 β :** interleukine 1 β .
- **IL-17:** Interleukine17.
- **IL-22:** Interleukine22.
- **K⁺ :** Ion de potassium.
- **LTC4⁺:** Lymphocyte Cluster de Différenciation 4.
- **LTC8⁺:** Lymphocyte Cluster de Différenciation 8.
- **MAP :** mitogen-activated protein.
- **MCI:** masse cellulaire interne.
- **MMAP:** motifs moléculaires associés aux pathogènes.
- **MMP :** métalloprotéinases matricielles.
- **MODY:** Maturity-Onset Diabetes of the Young.
- **Mo-MLV:** virus de la leucémie murine de Moloney.
- **MRDM:** malnutrition-related diabetes mellitus.
- **NF-K β :** facteur nucléaire kappa B.
- **Ngn3:** neurogenine 3.
- **NOD:** diabétique non obèse.
- **Nos 2:** oxyde nitrique synthase 2.
- **NPH :** Neutral Protamine Hagedorn.
- **OMS :** L'organisation mondiale de la santé.
- **Pax4:** Paired Box gene 4.
- **Pdx1:** Patient-driven xenograft 1.
- **RE :** réticulum endoplasmique.
- **RER :** réticulum endoplasmique rugueux.
- **RV :** Retrovirus.
- **STZ:** streptozotocine.
- **Th1:** Cellule T helper type 1.
- **TIMP-1:** inhibiteurs tissulaires de la métalloprotéinase 1.
- **Tim-3:** Immunoglobuline des lymphocytes T et protéine-3 contenant de la mucine.
- **TNF α :** Tumor Necrosis Factor alpha.

Liste des figures

Figure 1: Anatomie du pancréas.	2
Figure 2: Représentation schématisée des îlots de Langerhans.	3
Figure 3: Structure du gène de l'insuline.	5
Figure 4: Biosynthèse de l'insuline.	5
Figure 5: Mécanismes cellulaires de la sécrétion de l'insuline stimulée par le glucose dans les cellules β Pancréatiques.	6
Figure 6: Diagnostic biologique du diabète sucré.	7
Figure 7: Classification du diabète selon l'OMS.	10
Figure 8: Histoire naturelle du diabète de type 1.	11
Figure 9: Physiopathologie du diabète de type 1.	12
Figure 10: Altérations du microbiote et de l'intestin dans le diabète de type 1.	13
Figure 11: Structure moléculaire des analogues d'action rapide.	15
Figure 12: Structure moléculaire des analogues d'action lente de l'insuline.	16
Figure 13: Structure de l'adénovirus.	19
Figure 14: Structure de Rétrovirus.	20
Figure 15: Diverses cellules souches candidates ayant le potentiel de se transformer en cellules sécrétant de l'insuline.	22
Figure 16: Génération des CPIs à partir des CSEs et/ou CSPis.	25
Figure 17: Différenciation et transplantation in vitro de cellules souches pluripotente pour le traitement du diabète.	26
Figure 18: Mécanismes d'action de Pax4 sur le pancréas endocrine, offrant une éventuelle piste thérapeutique dans le traitement du diabète de type 1.	28
Figure 19: Conversion de cellules α pancréatiques en cellules β sécrétrices d'insuline.	29
Figure 20: Reprogrammation des cellules souches mésenchymateuses.	30
Figure 21: Transplantation de CUh-CSM chez les souris diabétiques.	31

Liste des tableaux

Tableau I: Classification étiologique du diabète sucré.	8
Tableau II: Propriétés des différents types de vecteurs utilisés en thérapie génique.	21

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	1
I. Le diabète	2
I.1 Le pancréas	2
I.1.1 Cellules acineuses	3
I.1.2 Cellules du canal pancréatique.....	3
I.1.3 Les îlots de Langerhans	3
I.2 L'insuline.....	4
I.3 Les critères biologiques de diagnostic du diabète sucré.....	6
I.4 Epidémiologie.....	7
I.5 Classification du diabète sucré	8
I.6 Diabète de type 1	10
I.6.1 La physiopathologie du diabète de type 1.....	10
I.6.2 Facteurs de risque génétique	11
I.6.3 Déroulement de la réaction auto-immune.....	11
I.6.4 Microbiote et diabète de type 1.....	12
I.7 Insulinothérapie	14
II. La thérapie génique et cellulaire du diabète de type 1	18
II.1 La thérapie génique	18
II.1.1 Les vecteurs utilisés en thérapie génique	18
II.2 La thérapie cellulaire	22
II.2.1 Cellules souches comme source de CPI.....	22
II.3 Différenciation des cellules souches pluripotentes humaines en cellules β	24
II.3.1 Génération des CPI à partir des CSEhs et CSPis	24
II.4 La surexpression de Pax4 par thérapie génique.....	26
II.4.1 L'effet protecteur de PAX4 sur les cellules β	27
II.4.2 La transdifférenciation des cellules α pancréatiques.....	28
II.5 La surexpression de hTIMP-1 dans les cellules souches mésenchymateuses de cordon ombilical humain	29
II.5.1 La transplantation de cellules transfectées chez les souris diabétique	31
Conclusion.....	32
Références bibliographiques	33

Introduction

Le diabète sucré (DS) est une maladie diagnostiquée chez plus de 451 millions de patients dans le monde (Maxwell et Millman, 2021). Le DS est un groupe de troubles métaboliques chroniques caractérisé par une hyperglycémie due à une sécrétion insuffisante d'insuline ou à une résistance à l'insuline. Il se divise principalement en trois catégories: le diabète sucré de type 1, le diabète sucré de type 2 et le diabète gestationnel (Chen *et al*, 2020).

Le diabète de type 1 (DT1) est une maladie auto-immune issue de la destruction progressive des cellules β du pancréas, ce qui entraîne une perte de la sécrétion d'insuline favorisant ainsi une hyperglycémie qui affecte généralement les jeunes personnes (Vanikar *et al*, 2016). Les patients atteints du DT1 ont besoin d'injections quotidiennes d'insuline exogène, mais cela ne peut pas imiter l'insuline endogène sécrétée par un pancréas sain. Par conséquent, la recherche de nouvelles méthodes de traitement du DT1 est cruciale (Chen *et al*, 2020).

Alternativement, il existe d'autres approches basées sur le remplacement des cellules β endommagées chez les patients atteints de DT1 (Espona *et al*, 2019). À cet égard, la greffe de pancréas entier ou les îlots de Langerhans ont montré une restauration immédiate des niveaux de glucose dans le sang. Cependant, cette procédure présente encore de nombreux inconvénients tels que son coût trop élevé et l'insuffisance des sources de dons (Espona *et al*, 2019).

Plusieurs recherches s'orientent vers une autre approche pour mettre au point une thérapie par cellules souches pour le diabète, à savoir différencier des cellules semblables aux îlots β à partir de différentes sources de cellules souches capables de sécréter l'insuline après une stimulation par le glucose (Sun *et al*, 2021).

La présente synthèse consiste, à mettre au point de nouvelles stratégies à base de la thérapie génique et cellulaire pour restaurer le fonctionnement physiologique des cellules β afin de guérir le DT1.

I. Le diabète

La plus ancienne description du diabète remonte à l'époque des pharaons égyptiens (plus de 1500 ans avant J-C). Près de mille ans plus tard, les grecs ont donné le nom diabaino qui signifie «passe à travers», par la suite Aretée de Cappadoce, un des plus remarquables médecins au premier siècle, donne la description initiale et la plus précise du diabète (Schlienger, 2021). Le diabète sucré est une maladie chronique qui entraîne de nombreuses contraintes dans la vie quotidienne de ceux qui en sont atteints (Monnier et Schlienger, 2018). Cette pathologie regroupe les maladies métaboliques caractérisées par l'élévation chronique de la concentration du glucose dans le sang (hyperglycémie) ou sa diminution (hypoglycémie). L'hyperglycémie résulte soit d'une déficience de la sécrétion d'insuline, soit d'une résistance à l'insuline ou des deux (Rodier, 2001; Goldenberg *et al*, 2013). La personne diabétique souffre d'une polydipsie, d'une polyphagie, d'une polyurie, d'une perte de poids et d'une grande lassitude (Godeau *et al*, 1987).

I.1 Le pancréas

Le pancréas est un organe aplati et allongé situé au niveau de la face postérieure de l'estomac, dont la tête est insérée dans le cadre duodénal. Sa partie allongée comprend anatomiquement la tête, le col, le corps et la queue (Bessaguet et Desmoulière, 2021; Bazira et Mahadevan, 2022). Il pèse entre 60 et 80 g, et mesure 12 à 15 cm de long et 2 à 4 cm de large (figure 1) (Bessaguet et Desmoulière, 2021). Le pancréas est composé de deux éléments morphologiquement et fonctionnellement distincts: le pancréas exocrine (cellules acineuses et cellules canaliculaires) et le pancréas endocrine (îlots de Langerhans) (Zhou et Melton, 2018).

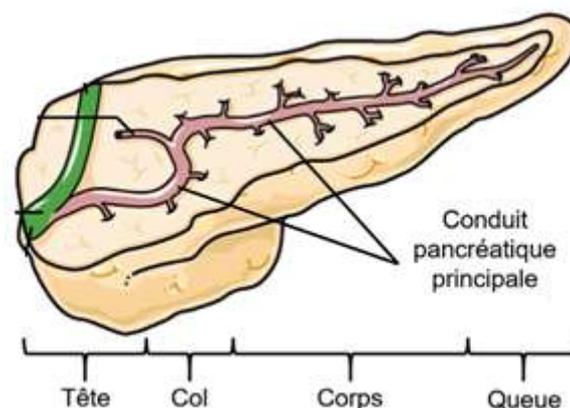


Figure 1: Anatomie du pancréas (Bessaguet et Desmoulière, 2021).

I.1.1 Cellules acineuses

Les cellules acineuses appartiennent à la partie exocrine du pancréas qui est de forme pyramidale. La cellule acineuse séreuse est le type cellulaire dominant du pancréas, constituant 82% du volume total. Sa principale fonction est de produire, stocker et sécréter trois grandes catégories d'enzymes digestives: l' α amylase, la lipase et la protéase, qui sont responsables de la digestion des glucides, des graisses et des protéines respectivement (Leung, 2010).

I.1.2 Cellules du canal pancréatique

Les cellules du canal pancréatique représentent une minorité de la portion exocrine du pancréas. Néanmoins, ces cellules sont indispensables au fonctionnement normal des enzymes digestives sécrétées par les cellules acineuses et sont responsables de la sécrétion d'un liquide alcalin riche en bicarbonate de sodium qui neutralise le chyme gastrique déversé dans le duodénum (Leung, 2010).

I.1.3 Les îlots de Langerhans

Contrairement à la partie exocrine massive du pancréas, la partie endocrine ne représente que 1 à 2% de la masse totale de l'organe (Leung, 2010). Les îlots de Langerhans sont des agrégations discrètes de différents types de cellules sécrétoires, qui se localisent entre les acini et distinguables par coloration histochimique. Les cellules alpha (α) des îlots sécrètent du glucagon ; les cellules bêta (β) sécrètent de l'insuline et les cellules delta (δ) sécrètent la somatostatine (figure 2) (Bazira et Mahadevan, 2022).

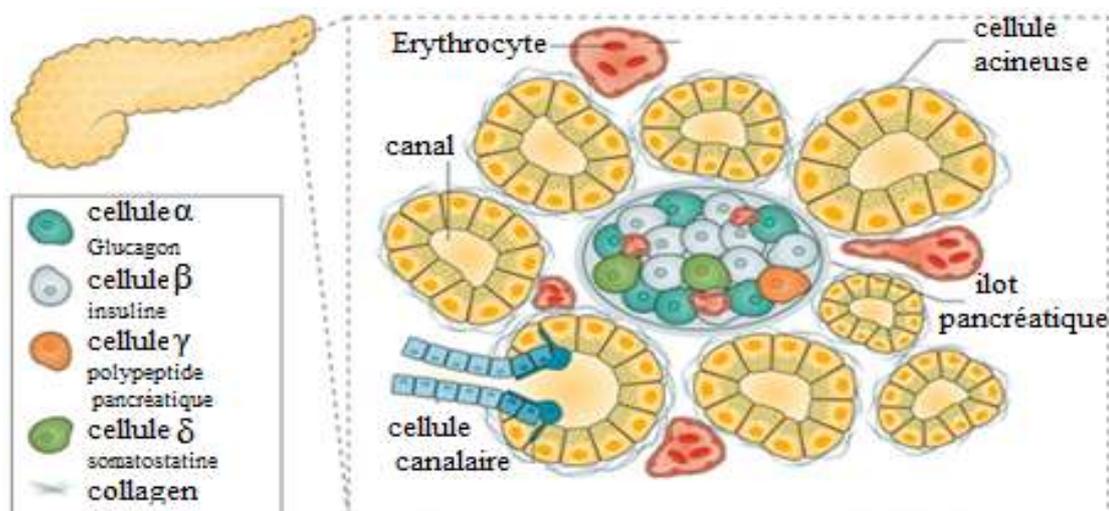


Figure 2: Représentation schématisée des îlots de Langerhans (Ellis *et al*, 2017).

I.2 L'insuline

L'insuline a été découverte en 1921 par une équipe de chercheurs de l'Université de Toronto – Canada par F. Banting, C. Best et J. MacLeod. Elle est synthétisée par les cellules β des ilots de Langerhans dans le pancréas pour contrôler le niveau de glucose dans le sang. Cette petite protéine composée de deux chaînes polypeptidiques chaîne A et chaîne B reliées entre elles par des liaisons disulfures (Chakraborty et Mungantiwar, 2003; Mayer, 2007).

Les humains ont un seul gène qui code pour l'insuline, situé sur le bras court du chromosome 11 et sa région codante comporte trois exons séparés de deux introns : le premier exon contrôle la synthèse du peptide signal, le deuxième exon code pour la chaîne B et une partie du peptide connecteur, le troisième exon code pour la chaîne A et le reste du peptide connecteur (Magnan et Ktorza, 2005; Tokarz *et al*, 2018). Ce gène contrôle la synthèse d'un précurseur de haut poids moléculaire, la pré-pro-insuline qui contient quatre segments: (1) une séquence signal N-terminal de 16 acides aminés, (2) une chaîne B de 30 acides aminés, (3) une chaîne C de 30 acides aminés et (4) une chaîne A de 21 acides aminés (figure 3). Au cours de la modification post-tradictionnelle, le peptide N-terminal et le peptide C sont clivés pour donner une protéine mature de poids moléculaire 6000 Da (Chakraborty et Mungantiwar, 2003).

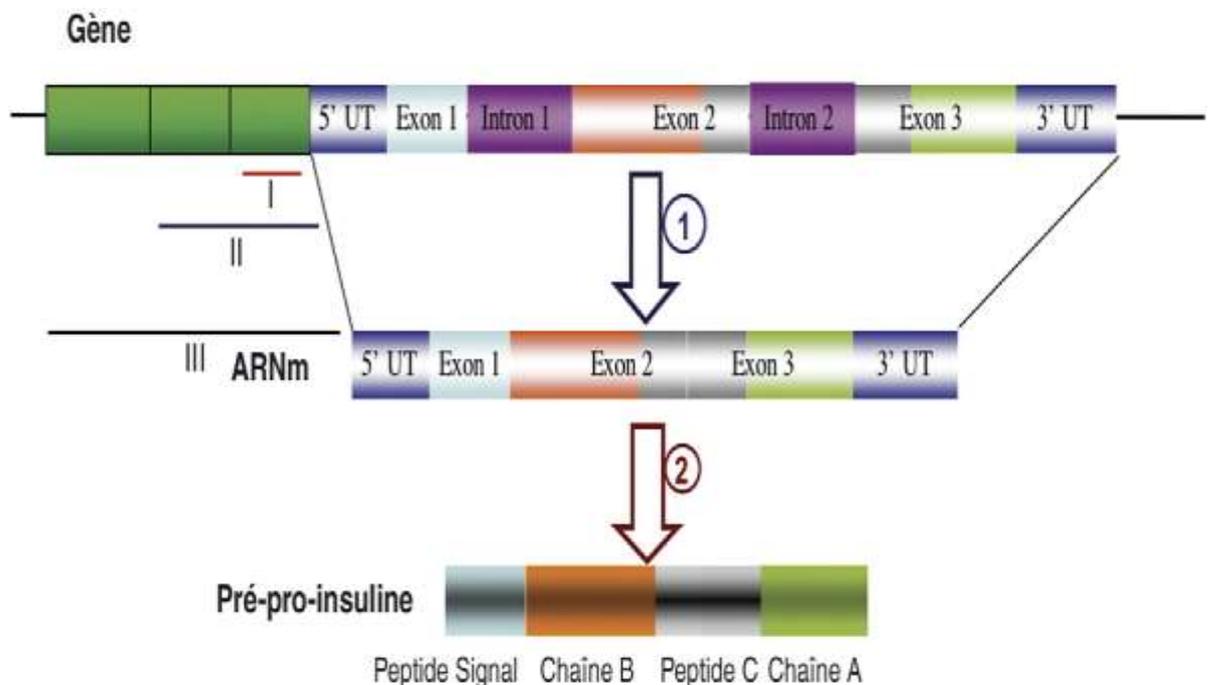


Figure 3: Structure du gène de l'insuline (Magnan et Ktorza, 2005).

La voie de biosynthèse de l'insuline comprend de nombreuses étapes, elle commence par la préparation de la pré-pro-insuline qui contient la pro-insuline et un peptide signal (Thevis *et al*, 2010). Au niveau du réticulum endoplasmique rugueux (RER), une peptidase clive la partie N-terminale pour former la pro-insuline composée de chaîne A, chaîne B et peptide C, et se dirige ensuite vers l'appareil de Golgi dans des vésicules. C'est au cours de cette étape que les ponts disulfures se forment et qu'un peptide de connexion (peptide C) relie les chaînes A et B entre elles. Après acidification des vésicules, des enzymes trypsiques et carboxy-peptidasiques clivent le peptide C pour donner l'insuline. Les vésicules sont ensuite stockées dans les cellules β pancréatiques en attendant d'être libérées (figure 4) (Tokarz *et al*, 2018).

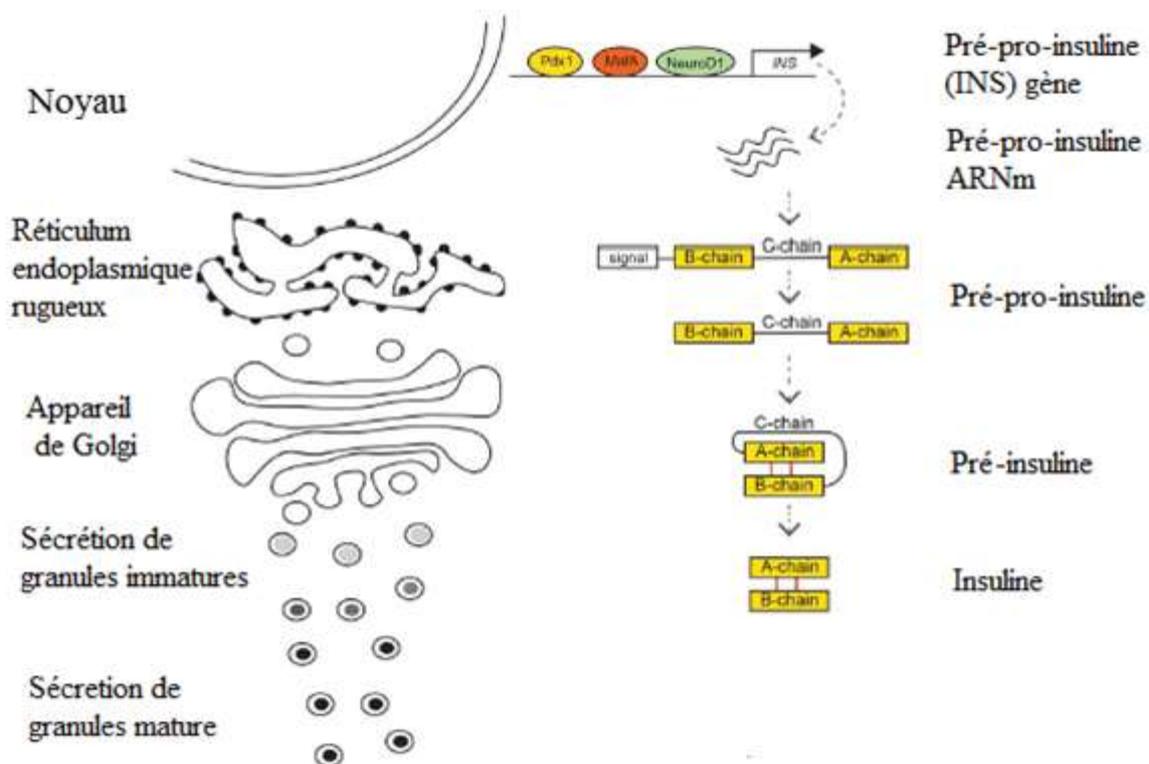


Figure 4: Biosynthèse de l'insuline (Tokarz *et al*, 2018).

Chez une personne normale, l'insuline est produite lors de la sécrétion d'un taux élevé du glucose dans le sang afin d'équilibrer la glycémie. Selon ce concept, le glucose pénètre dans la cellule β par le biais d'un transporteur de glucose lié à la membrane (GLUT2), puis il est phosphorylé par une enzyme appelée glucokinase, et une réaction de glycolyse s'ensuit, conduisant ainsi à la production de l'acétyl-coenzyme A (COA) et l'adénosine triphosphate

(ATP). L'augmentation du rapport ATP/ADP inhibe le canal K^+ sensible à l'ATP. La dépolarisation du canal K^+ active un canal Ca^{2+} dépendant du voltage et l'augmentation des niveaux intracellulaire de Ca^{2+} conduit finalement à l'exocytose et à la libération d'insuline dans le sang (figure 5) (Chakraborty et Mungantiwar, 2003; Leung, 2010).

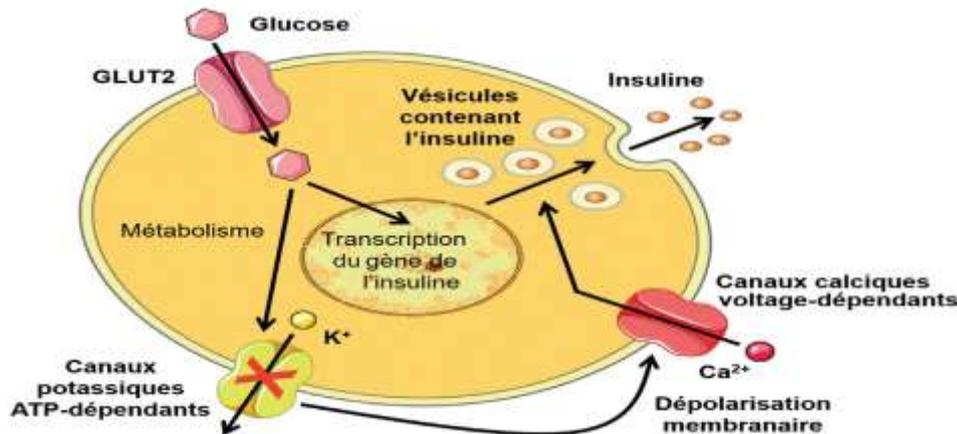


Figure 5: Mécanismes cellulaires de la sécrétion de l'insuline stimulée par le glucose dans les cellules β Pancréatiques (Leung, 2010). GLUT2 : Glucose Transporter 2; ATP : l'adénosine triphosphate; K^+ : Ion de potassium; Ca^{2+} : Ion de calcium.

L'insuline agit comme une molécule de signalisation en se liant aux récepteurs membranaires spécifiques des cellules cibles tel que les hépatocytes et les cellules musculaires (Chakraborty et Mungantiwar, 2003). Ses principales voies de signalisation sont celles de la phosphatidylinositol-3 kinase, activant la protéine kinase B et impliquée en priorité dans les effets métaboliques, et la voie des MAP (protéine activée par un mitogène)-kinase, impliquée en priorité dans les effets nucléaires, la croissance et la différenciation (Capeau, 2003). Après la formation du complexe récepteurs-hormone, le signal se traduit en un second messager adénosine monophosphate cyclique (AMPc) pour augmenter la pénétration du glucose, ensuite inhiber la glycogénolyse et la néoglucogenèse et stimuler la glycogénogenèse et la glycolyse. Le stockage du glucose sous forme de glycogène est ainsi facilité (Bessaguet et Desmoulière, 2021).

I.3 Les critères biologiques de diagnostic du diabète sucré

Il est essentiel pour les personnes diabétiques de disposer de tests de diagnostic précoces et précis afin de gérer les modes de vie et les interventions pharmacologiques attendus, de prévenir davantage la dysglycémie ou même l'apparition de la maladie et de retarder de nombreuses complications liées à la maladie (Wang *et al*, 2021).

Il existe trois façons pour diagnostiquer le diabète (figure 6) :

- Symptômes de diabète (polyurie, polydipsie, amaigrissement inexpliqué, somnolence voire coma) et la glycémie quelle que soit l'heure $\geq 2,00$ g/L (11,1 mmol/L),
- Glycémie à jeun $\geq 1,26$ g/L (7,00 mmol/L),
- Glycémie 2 h après une charge de 75 g de glucose lors d'une hyperglycémie provoquée par voie orale $\geq 2,00$ g/L (11,1 mmol/L) (Drouin *et al*, 1999).

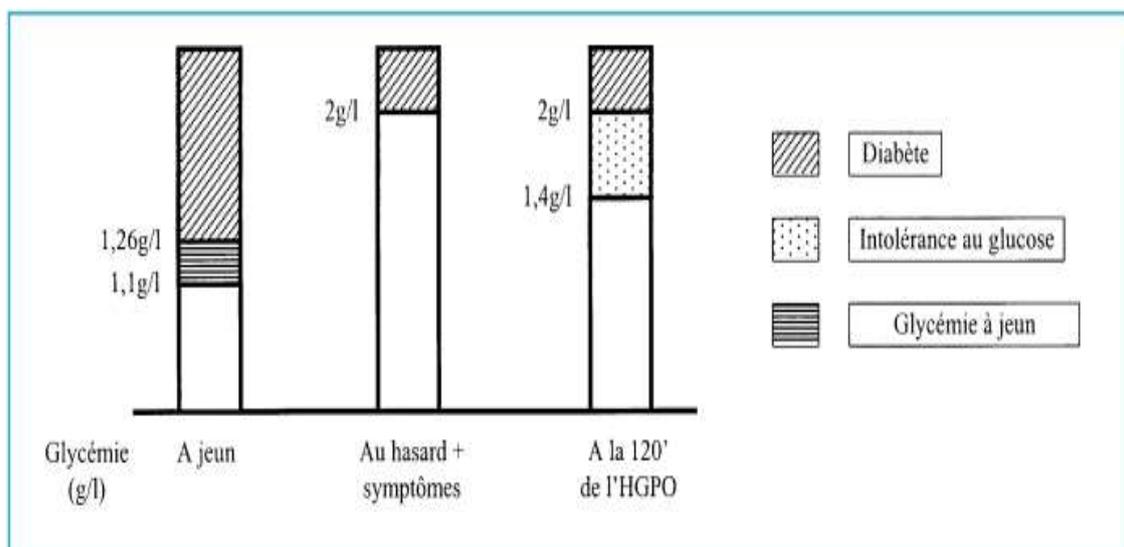


Figure 6: Diagnostic biologique du diabète sucré (Rodier, 2001).

I.4 Epidémiologie

Le diabète est une maladie très répandue dans le monde, dont la prévalence est importante. L'étude montre, qu'entre 1980 et 2014, la prévalence du diabète ajustée sur l'âge est passée de 4,3 % à 9 % chez les hommes et de 5 % à 7,9 % chez les femmes. L'accroissement de la population mondiale signifie que 108 millions d'adultes étaient diabétiques en 1980 et que ce nombre était passé à 422 millions en 2014 (Fontbonne, 2019).

L'augmentation régulière de la prévalence du diabète en Algérie est de nature épidémique et liée au nombre important de cas de diabétiques, du fait des modifications profondes de l'environnement, mais aussi du vieillissement de la population (Zaoui *et al*, 2007).

Dans la région de Tlemcen (Ouest algérien), la prévalence du diabète type 2 (DT2) est de 10,5 % et celle du diabète de type 1 (DT1) de 3,7 %, soit un total de 15,3 % en milieu

urbain et de 12,9 % en milieu rural, cette répartition est un peu plus élevée en milieu urbain (Malek, 2011). L'organisation mondiale de la santé (OMS) a estimé qu'en 1994 le nombre de diabétiques était de 110,4 millions. Ce chiffre passera en l'an 2010 à 221 millions et à 552 millions en 2030 (Espona *et al*, 2019).

I.5 Classification du diabète sucré

En 1999, l'OMS a recommandé que la classification englobe non seulement les différents types étiologiques de diabète, mais également les stades cliniques de la maladie. Elle a réintroduit les termes de diabète de type 1 et de type 2 et elle a abandonné le diabète sucré lié à la malnutrition (MRDM). Un système de classification unique pour le diabète faciliterait trois objectifs principaux : les soins cliniques, l'étiopathologie et l'épidémiologie. Dans cette optique, un groupe d'experts a estimé qu'il convenait de définir un système de classification qui priorise les soins cliniques et aide les professionnels de santé à choisir les traitements appropriés et à entamer ou non un traitement par insuline, notamment au moment du diagnostic. Le seul système de classification qui pourrait actuellement contribuer à atteindre cet objectif est un système basé sur des paramètres cliniques pour identifier les sous-types de diabète (Adler *et al*, 2021).

Tableau I: Classification étiologique du diabète sucré (Altman *et al*, 2012).

Le diabète de type 1
A. Auto-immun= type 1A
B. Idiopathique= type 1B (aujourd'hui étiqueté diabète de type 2)
Le diabète de type 2
Les autres types de diabète spécifique
A. Défaut génétique de la fonction de la cellule bêta (Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY), mitochondrial ...)
B. Défaut génétique de l'action de l'insuline
C. Diabète pancréatique
d. Endocrinopathies
e. Diabète induits par les médicaments
f. Infections
g. Formes rares de diabète liées une pathologie du système immunitaire
h. Autres syndromes génétiques parfois associés à un diabète

Le diabète gestationnel

Le diabète de type 1 (DT1) ou diabète insulino-dépendant (DID) représente moins de 10 % des diabètes répertoriés, c'est une maladie auto-immune multifactorielle caractérisée par la destruction des cellules Bêta (β) pancréatiques productrices d'insuline. En conséquence, la sécrétion d'insuline n'est plus possible et le mécanisme naturel de régulation de la glycémie n'est plus assuré, en effet il est traité par l'administration de l'insuline d'où son nom provient (Tenenbaum *et al*, 2018; Rouland *et al*, 2022).

Le diabète de type 2 ou diabète non insulino-dépendant (DNID) est la forme la plus répandue, représentant près de 90 % des formes diagnostiquées de diabètes (figure 7) (Tenenbaum *et al*, 2018). Le DNID se caractérise par une déplétion héréditaire et/ou acquise des lymphocytes B qui ne peut pas répondre à la demande, notamment en présence d'une résistance à l'insuline. Une fois le diabète installé, la fonction des cellules β s'effondre inévitablement, entraînant une progression de la maladie nécessitant des traitements médicamenteux de plus en plus complexes, y compris le passage à l'insulinothérapie (Scheen *et al*, 2007).

Le diabète gestationnel (DG) définis comme des troubles d'intolérance aux glucides de gravité variable apparaissant pour la première fois ou diagnostiqués pendant la grossesse (Mimouni, 2009). Le DG apparaît entre la 24^{ème} et la 28^{ème} semaine de grossesse et disparaît après l'accouchement (Rodier, 2001). Les descendants de femmes atteintes de DG sont également à risque de macrosomie et de développement du diabète type 2 (Tenenbaum *et al*, 2018).

Il existe par ailleurs d'autres types de diabètes dits « spécifiques » dus à une maladie pancréatique, à une endocrinopathie, à une cause iatrogène, à une grossesse ou encore à des anomalies génétique. Ces différents types de diabètes ont des traductions cliniques et biologiques différentes (Rodier, 2001).

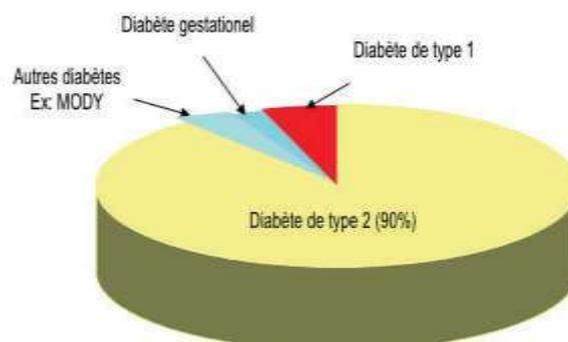


Figure 7: Classification du diabète selon l'OMS (Tenenbaum *et al*, 2018).

I.6 Diabète de type 1

La glycémie peut fluctuer largement au cours de la journée et de la nuit en raison de l'absence d'autorégulation dans le DT1 et des lacunes de l'insulinothérapie (Griggs *et al*, 2022). L'étiologie de cette maladie complexe dépend de l'interaction de plusieurs types de cellules hétérogènes dans l'environnement pancréatique. Cette maladie se caractérise par des interactions atypiques entre les cellules β et les cellules immunitaires, notamment la production d'auto-anticorps anti-cellules bêta (AAb) et l'attaque immunologique des cellules β par les lymphocytes TCD8 (Fasolino *et al*, 2022). L'incidence du DT1 a augmenté au cours des 50 dernières années. La variation géographique varie 400 fois d'un faible taux en Chine à une incidence très élevée en Finlande, en Sardaigne et chez les Juifs yéménites en Israël (knip et Siljander, 2008). Cette maladie peut se manifester à tout âge, même chez les personnes âgées, mais elle est plus fréquente et considérablement augmenté chez les enfants de moins de 15 ans et les adolescents dans la plus part des pays développés après la seconde guerre mondiale (kukko *et al*, 2003).

I.6.1 La physiopathologie du diabète de type 1

Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune chronique caractérisée par la destruction des cellules β qui produisent l'insuline dans le cadre d'une susceptibilité génétique, mais un déclencheur de l'environnement tel que l'accouchement par césarienne, l'alimentation, la réponse virale en particulier, les entérovirus comme le Cocksackie B4 est généralement nécessaire (Rewers et Ludvigsson, 2016; Marchand et Thivolet, 2016). La pathogenèse peut être divisée en trois phases (figure 8):

1. Une phase de latence: apparition de l'auto-immunité des cellules β , normoglycémie et absence de symptômes.
2. Une phase préclinique silencieuse: l'auto-immunité des cellules β , dysglycémie et absence de symptômes.
3. Une phase clinique: l'auto-immunité des cellules β , dysglycémie et présence de symptômes du diabète (Dubois, 2010).

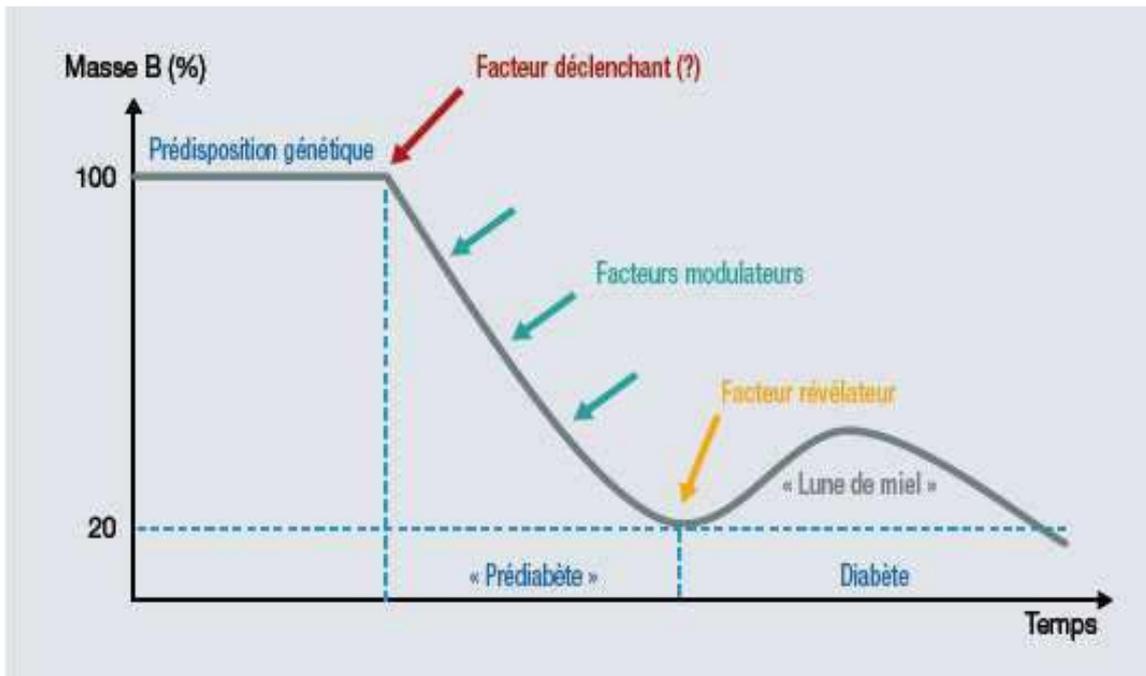


Figure 8: Histoire naturelle du diabète de type 1 (Dubois, 2010).

I.6.2 Facteurs de risque génétiques x

Les gènes les plus importants contribuant à la susceptibilité de la maladie sont situés dans le locus HLA de classe 2 sur le bras court du chromosome 6 (knip et Siljander, 2008). Le principal facteur de risque de l'auto-immunité des cellules β est génétique, se produisant principalement chez les personnes présentant des haplotypes HLA-DR3-DQ2 ou HLA-DR4-DQ8 ou les deux (Pociot et Lernmark, 2016). Le diagnostic clinique du diabète de type 1 se fait par l'association entre les haplotypes HLA et le développement du premier auto-anticorps d'îlot (Rewers et Ludvigsson, 2016). Les personnes présentant l'haplotype HLA-DR3-DQ2 avaient des auto-anticorps anti-dicarboxylase de l'acide glutamique (GADA) comme premier auto-anticorps, tandis que les personnes avec l'haplotype HLA-DR4-DQ8 avaient tendance à avoir des auto-anticorps anti insuline (AAI) comme premier auto-anticorps (Pociot et Lernmark, 2016).

I.6.3 Déroulement de la réaction auto-immune

Dans l'histoire de la maladie, les modifications du comportement alimentaire peuvent provoquer des hyperperméabilités intestinales qui seront augmentés et pourraient favoriser des infections (Tenenbaum *et al*, 2018). Ces dernières détruisent les cellules β pancréatiques puis libèrent des antigènes qui seront reconnus par les cellules présentatrices d'antigène

(CPA) au niveau des nœuds lymphatiques pancréatiques (Dimeglio *et al*, 2018). Les CPA portant les auto-antigènes interagissent avec les lymphocytes TCD4⁺ auto-réactifs qui vont relâchés les chimiokines au niveau des cellules β (Tenenbaum *et al*, 2018). Ces molécules stimulent les lymphocytes T CD8⁺ cytotoxiques pour produire des cytokines afin de lyser les cellules β exprimant des auto-antigènes sur les molécules du CMH1 et stimuler les LB pour produire les auto-anticorps contre les auto-antigènes des cellules β (Dimeglio *et al*, 2018). Actuellement, il existe quatre anticorps utilisés comme marqueurs de l'auto-immunité des cellules β : les anticorps anti-cellules des îlots de Langerhans (ICA), les auto-anticorps anti-insuline (AAI), les anticorps contre l'isoforme 65KD de l'acide glutamique décarboxylase (GADA) et les anticorps contre la molécule (IA-2) liée à la tyrosine phosphatase (IA-2A) (figure 9) (kukko *et al*, 2003).

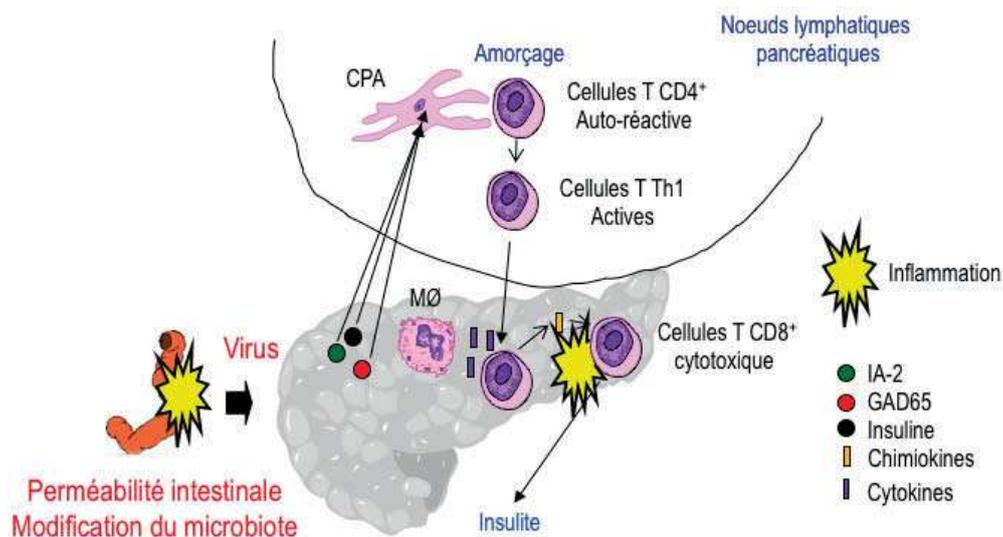


Figure 9: Physiopathologie du diabète de type 1 (Tenenbaum *et al*, 2018).

CPA : cellules présentatrices d'antigènes ; M ϕ : macrophage ; GADA : auto anticorps anti-dicarboxylase de l'acide glutamique ; IA-2 : anti-insuline.

I.6.4 Microbiote et diabète de type 1

L'ensemble des études cliniques chez les patients ayant un DT1 et chez les nouveau-nés à risques montrent que le DT1 est associé à des modifications du microbiote dans les phases très précoces du développement de la maladie et au moment du diagnostic (Kostic *et al*, 2015). Dans le cas normal (l'homéostasie), les cellules caliciformes sécrètent le mucus qui sépare les entérocytes du microbiote. Les composés microbiens qui atteignent le système immunitaire sont principalement des métabolites tels que les acides gras à chaîne courte

(AGCC), qui induisent un phénotype anti-inflammatoire et tolérogène des cellules présentatrices d'antigènes (CPA). Ces CPA tolérogènes induisent des lymphocytes T-régulateurs qui vont réprimer les réponses agressives contre le microbiote. De plus, les CPA de la muqueuse intestinale stimulent les lymphocytes productrices d'IL-17 et d'IL-22, qui renforcent la barrière intestinale (augmentation des jonctions serrées, stimulation de la production de peptides anti-microbiens). (Ivanov *et al.* 2009).

Chez les patients DT1, l'altération du microbiote par certains facteurs favorise une perte de la production de ces métabolites immunorégulateurs (AGCC) induisant une réduction de la couche de mucus et l'affaiblissement de la barrière intestinale. Et cela permet l'entrée des composés bactériens pro-inflammatoires dont les motifs moléculaires associés aux pathogènes (MMAp) et antigènes qui vont induire des CPA très inflammatoires. Ces dernières vont favoriser des réponses immunitaires Th1, entraînant encore plus de dommages vis-à-vis de la barrière intestinale par la production de TNF- α et d'IFN- γ . La translocation bactérienne peut également se propager dans d'autres tissus dont les ganglions pancréatiques et augmenter les réponses auto-immunes délétères contre le pancréas (figure10) (Rouland *et al.*, 2022).

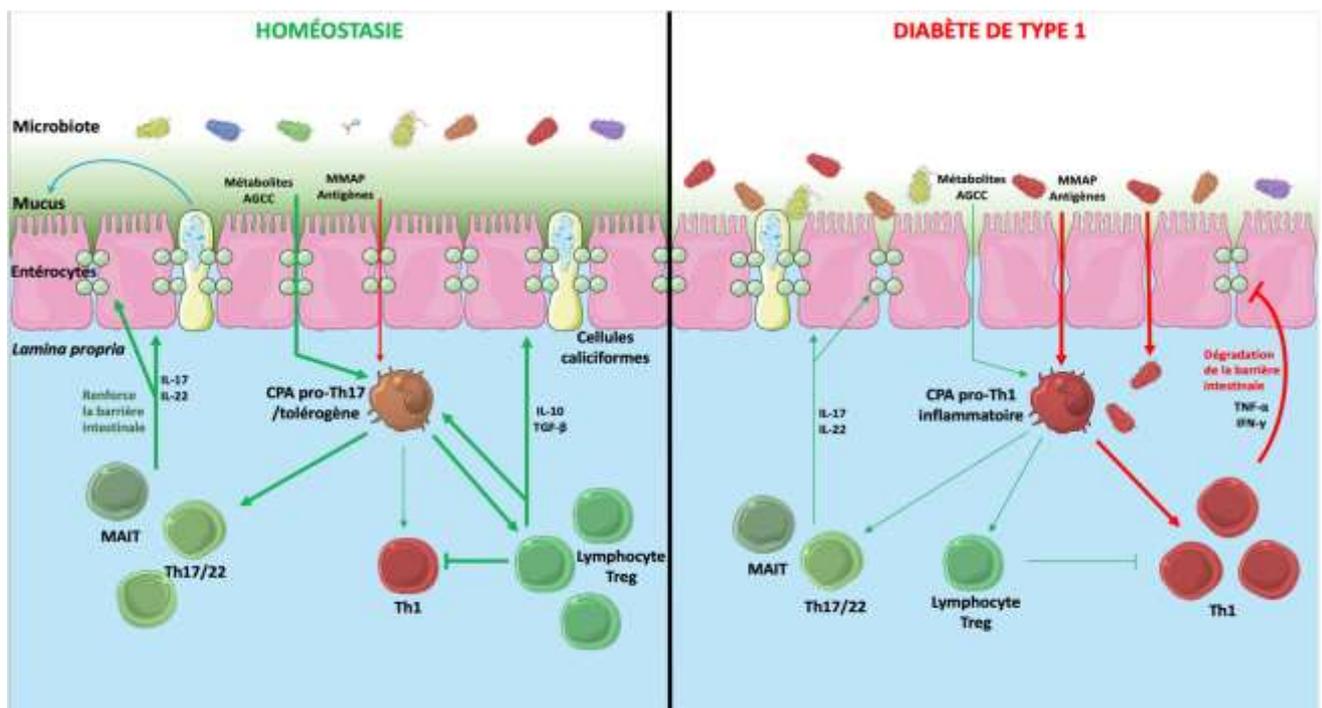


Figure 10: Altérations du microbiote et de l'intestin dans le diabète de type 1 (Rouland *et al.*, 2022).

I.7 Insulinothérapie

Les premiers cas de diabète de type 1 sont traités pour la première fois après la découverte de l'insuline par Frederick G. Banting et Charles H. Best en 1921-1922, ils ont transformé le DT1 d'une maladie mortelle à une maladie chronique (Slama, 2012; Hanaire, 2015). Le but de l'insulinothérapie sera un remplacement aussi physiologique que possible de l'insuline et un équilibre glycémique optimal (Beltrand et Robert, 2013). Les insulines ont d'abord été purifiées, humanisées puis obtenues par génie génétique (de La Haye Saint Hilaire *et al*, 2010). Les patients diabétiques sont traités par 1 à 4 injections par jour d'insuline ordinaire (avec une cinquième injection éventuelle, à 3 heures du matin), quête d'une amélioration des contraintes imposées par ce traitement (Slama, 2012).

Il existe une grande variété d'insulines, permettant d'adapter la prescription à chaque patient selon sa physiologie, son mode de vie, ou encore son état clinique (Battu, 2013). Les insulines humaines obtenues par la technique du génie génétique au début des années 80 ont encore permis de réduire davantage les effets indésirables de la maladie tels que les réactions allergiques, voire pharmacocinétiques aberrantes (éventuellement liées à la présence d'anticorps) (Philips et Radermecker, 2005).

Il existe trois types classiques de préparation de l'insuline :

- Les insulines à action rapide ;
- Les insulines à action intermédiaire (adjonction de protamine ou de zinc) ;
- Les insulines à action longue (adjonction de zinc) (Sola *et al*, 2006).

Les insulines humaines rapides fabriquées en laboratoire, sont identiques à l'insuline produite naturellement par le corps humain. Elles agissent assez lentement, l'insuline doit cheminer jusqu'aux vaisseaux sanguins, d'où la nécessité de réaliser l'injection 15 à 30 minutes avant les repas, pour une durée d'action de 6 heures (Battu, 2013).

L'insuline intermédiaire Neutral Protamine Hagedorn (NPH) est associée à des cristaux de protamine. Elle agit de façon importante vers la 6^{ème} heure post-injection et son action décroît progressivement entre la 6^{ème} et la 12^{ème} heure. Il s'agit donc d'une insuline d'action intermédiaire. Elle est injectée le soir au coucher et éventuellement le matin (Battu, 2013).

Analogues de l'insuline

Plusieurs analogues de l'insuline ont été développés avec des substitutions d'acides aminés dans des régions qui n'affectent pas l'activité biologique mais accélérant la

dissociation de l'hexamère vers la forme monomérique afin de se rapprocher de l'action physiologique de l'insuline (Sola *et al*, 2006). On distingue deux types d'analogues :

Analogues rapides: Les analogues rapides de l'insuline (insuline Aspart ou Novorapid®, insuline Lispro ou Humalog® et Glulisine Apidra®) sont dérivés de l'insuline humaine. Les deux premiers analogues sont produits, respectivement, par inversion de l'acide aminé B29-Lysine pour la Lispro et par remplacement de l'acide aminé B28-Proline par l'Aspartate pour l'insuline Aspart (Philips et Radermecker, 2005). L'analogue Glulisine comporte quant à lui deux remplacements d'acides aminés : Lysine B29 par Glutamate (changeant une charge positive par une charge négative) Asparagine B3 par Lysine (figure 11) (Sola *et al*, 2006). Ces analogues peuvent être injectés juste avant ou juste après un repas avec le même effet sur le contrôle glycémique. Ils maîtrisent mieux l'hyperglycémie postprandiale (Dorchy, 2006).

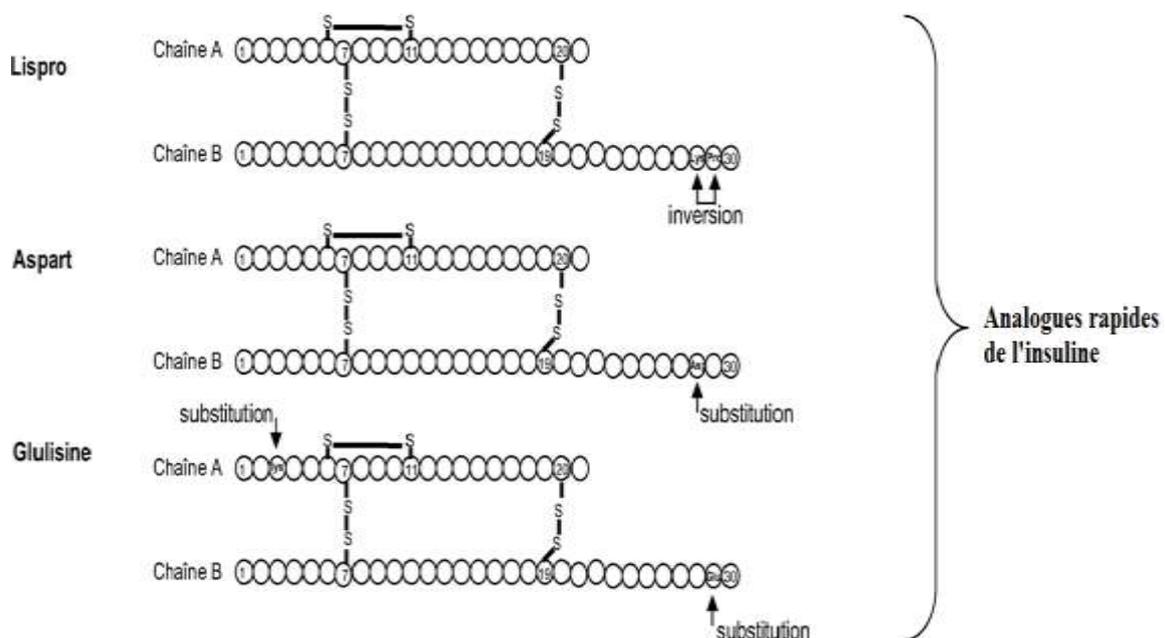


Figure 11: Structure moléculaire des analogues d'action rapide (insulines Lispro, Aspart, Glulisine) (Sola *et al*, 2006).

Analogues lents: sont proches de l'insulinosécrétion basale, avec une durée d'action comprise entre 16 et 24 heures. Ils peuvent être associés à des insulines rapides ou employés seuls (Battu, 2013). Deux analogues déjà commercialisés : l'insuline Glargine (Lantus®) et la Détémir (Levemir®) se présentant en solutions transparentes, ne nécessitant pas d'agitation avant injection, à l'inverse des insulines NPH et Zinc. Le temps d'éducation et surtout le

risque d'erreur s'en trouvent réduits. Glargine est formé par addition de deux Arginines en C-terminal de la chaîne B et remplacement de l'Asparagine en C-terminal de la chaîne A par une Glycine (Gly [A21] Arg [B31] Arg [B32]-insuline). La Détémir a été formé par adjonction d'un acide gras C14 (acide myristique) à la Lysine B29 et retrait de la Thréonine en B30 (figure 12) (Sola *et al*, 2006).

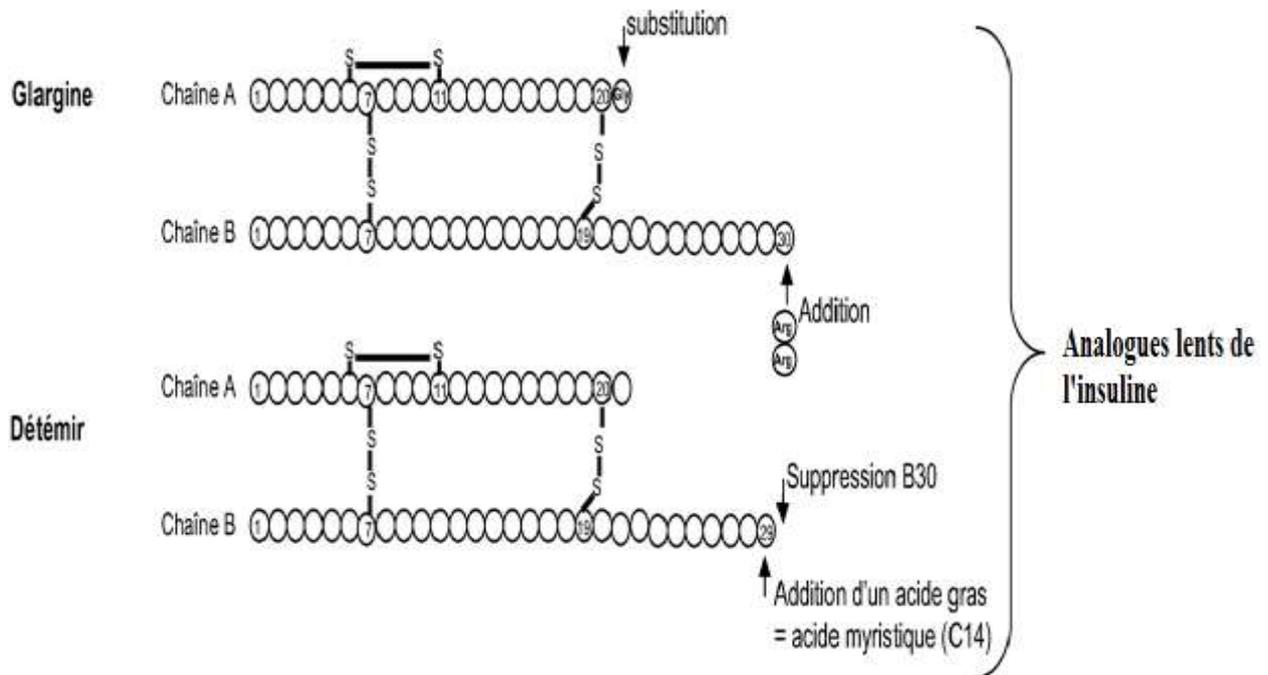


Figure 12: Structure moléculaire des analogues d'action lente de l'insuline (insulines Glargine et Détémir (Sola *et al*, 2006).

II. La thérapie génique et cellulaire du diabète de type 1

Même si le traitement par l'insuline fait aujourd'hui encore la preuve de son efficacité, mais c'est un traitement palliatif contraignant, qui ne supprime pas la cause du diabète. La recherche sur le diabète s'est considérablement amplifiée et diversifiée. De nombreux résultats récents donnent l'espoir de nouvelles thérapies tel que la thérapie génique et la thérapie cellulaire (Dufresne, 2002).

II.1 La thérapie génique

La thérapie génique est une technique qui consiste à manipuler le matériel génétique à l'intérieur de la cellule comme approche thérapeutique pour traiter une maladie. Elle sert soit à compenser l'anomalie de fonctionnement d'un gène altéré par l'apport d'un gène normal qui va prendre en charge la production d'une protéine déficitaire, soit à ajouter une fonction nouvelle à une cellule, dans un but thérapeutique, diagnostique ou préventif (Haguenaer, 1999; Chellappan *et al*, 2018).

Trois éléments indispensables pour corriger un gène défectueux : d'abord, connaître le gène et le rôle de la protéine qu'il encode, la cellule cible du gène d'intérêt et enfin un véhicule de matériel génétique, ou « vecteur », intermédiaire, généralement un virus désactivé qui permet d'introduire le gène d'intérêt dans la cellule cible (Lannoy et Hermans, 2017).

Il existe principalement trois méthodes d'intervention en thérapie génique (Chellappan *et al*, 2018):

- Introduction d'un nouveau gène dans l'organisme;
- Remplacement des gènes défectueux par des gènes fonctionnels;
- Inactivation des gènes défectueux responsable de la maladie.

II.1.1 Les vecteurs utilisés en thérapie génique

Il existe actuellement différents types de vecteurs: les vecteurs viraux (rétrovirus, lentivirus, adénovirus et virus associés au adénovirus) (Tableau 2), qui sont des virus dépourvus de leurs capacité pathogène en mutant leurs gènes responsables de la réplication, mais sa capacité à transférer des gènes reste intacte (Lannoy et Hermans, 2017; Chellappan *et al*, 2018). Ils peuvent déclencher des réponses immunitaires ou provoquer des cancers en s'insérant dans certaines séquences du génome proto-oncogène. Les vecteurs non viraux ont été conçus pour répondre aux problèmes de sécurité et pour assurer le transport de grandes quantités d'ADN (Lannoy et Hermans, 2017).

Dans le cas du diabète, les thérapies visent à corriger la production déficiente d'insuline ainsi que les organes cibles endommagés par une hyperglycémie prolongée, dans l'intérêt de traiter des patients diabétiques (Contesse, 2001).

La plupart des approches de thérapie génique pour le diabète impliquent l'utilisation de vecteurs viraux, en accordant une attention particulière aux efforts actuels pour surmonter les inconvénients des adénovirus, des virus associés aux adénovirus et des vecteurs de type rétrovirus, en ciblant la délivrance de gènes pour une efficacité optimale de l'expression des gènes (Xu *et al*, 2003).

II.1.1.1 Adénovirus

Les adénovirus (AdV) sont des virus de taille moyenne, à ADN double brin non enveloppés de vertébrés. Ils sont abondants chez les poissons, les amphibiens, les reptiles, les oiseaux et les mammifères, y compris les humains (Greber, 2020). L'adénovirus a été largement utilisé dans des études liées au traitement et à la prévention du DT1, en 2002 un groupe d'experts ont démontré que la glycémie est restée normale en condition d'alimentation ou après un jeûne, et la tolérance au glucose s'est également améliorée après le transfert de gène médié par un adénovirus (figure13) (Chellappan *et al*, 2018).

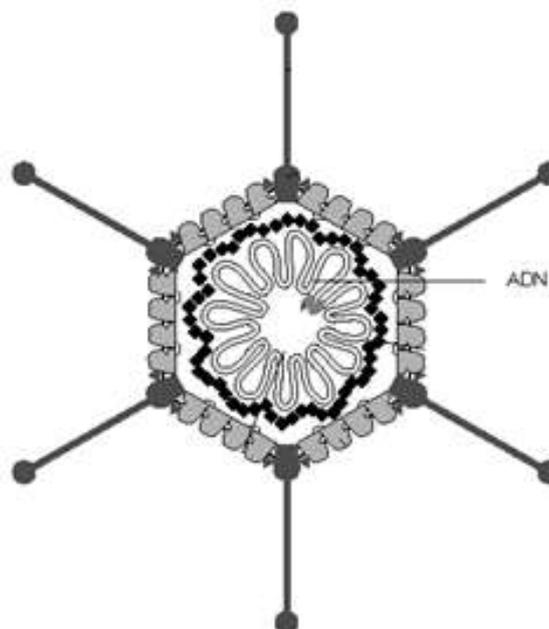


Figure 13: Structure de l'adénovirus (Venard *et al*, 2001).

II.1.1.2 Virus associés aux Adénovirus

Ceux sont des vecteurs d'ADN simple brin non enveloppés, de petite taille et avec un profil de sécurité favorable et une capacité d'obtenir une expression transgénique persistante dans un large éventail de tissus cible (Prakoso *et al*, 2021). Une étude menée en 2005 utilisant la thérapie génique pour la prévention et le traitement du DT1 rapporte que le vecteur (AAV) a réussi à transposé deux protéines rapporteuses dans les cellules d'ilots pancréatiques. Cela a créé la possibilité d'un transfert de plusieurs gènes qui peuvent maintenir la fonction des cellules β après la transplantation d'ilots (Chellappan *et al*, 2018).

II.1.1.3 Rétrovirus

Les rétrovirus (RV) sont des virus à deux copies d'un génome ARN monocaténaire enveloppé. Les vecteurs RV les plus couramment utilisés sont basés sur le virus de la leucémie murine de Moloney (Mo-MLV) (Xu *et al*, 2003). Il existe plusieurs études dans lesquelles le vecteur rétrovirus a été utilisé pour la thérapie génique du DT1, où ils ont rapportés l'induction d'une résistance robuste au diabète et la prévention du DT1 récurrente après une transplantation d'ilots de Langerhans par thérapie génique. Ils ont déduit que cette approche est suffisante pour inverser la maladie après la transplantation d'ilots de Langerhans et prévenir sa récurrence (figure 14) (Chellappan *et al*, 2018).

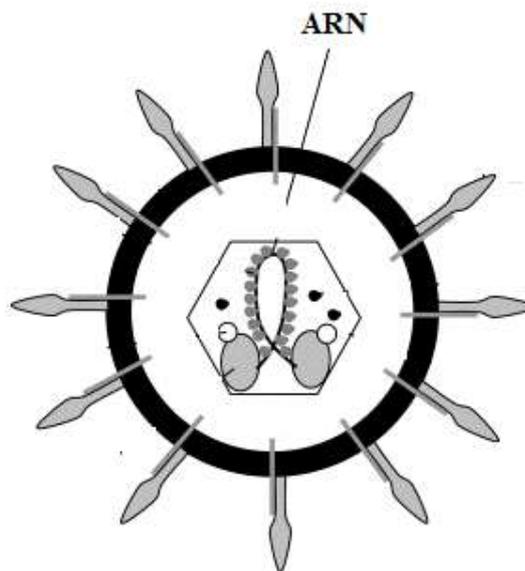


Figure 14: Structure de Rétrovirus (Howarth *et al*, 2010).

Tableau II: Propriétés des différents types de vecteurs utilisés en thérapie génique (Lannoy et Hermans, 2017).

	Rétrovirus	lentivirus	Adénovirus	Adénoassociés	Vecteurs non-viraux
Capacités d’empaquetage	8.0 kb	8.0 kb	30.0 kb	4.8 kb	Illimite
Facilite de production	+/-		+/-	Difficile	+++++
Intégration dans le génome de l’hôte	Oui	Oui	Non	Rarement (< 10%)	rarement
Réponse immunitaire	Faible	Faible	Elevée	Relativement faible	Faible
Avantages	Expression stable dans les cellules filles	Expression stable dans les cellules filles	transfert efficace dans la plupart des tissus	Non pathogénique	Non virulent
Inconvénients	S’intègre uniquement dans les cellules qui se divisent et risquent de développer des cancers au moment de l’intégration	risque de développer des cancers au moment de l’intégration	L’enveloppe virale peut induire une forte réaction immunitaire	Transfert de petites séquences d’ADN	Assez inefficace concernant la transduction
Efficacité de transfection			+	+	+++++

II.2 La thérapie cellulaire

La thérapie cellulaire est la discipline qui se définit comme l'administration de cellules autologues, allogéniques, voire xénogéniques à l'homme dans le but de prévenir, de traiter ou d'atténuer une maladie (Moussaoui *et al*, 2003). Cette thérapie par cellules souches est une modalité thérapeutique prometteuse pour le diabète sucré avancé, qui permet la production de cellules modifiées dotées de propriétés biologiques souhaitables, qui peuvent être transférées par adoption à des patients (El-Badawy et El-Badri, 2016; Lortelli *et al*, 2020). Les cellules souches embryonnaires et adultes sont une source renouvelable de cellules. Elles sont utilisées pour enrichir la population de cellules β , offrira de nouvelles modalités thérapeutiques pour le traitement du diabète de type 1 (Pan *et al*, 2017).

II.2.1 Cellules souches comme source de CPI

De nouvelles stratégies en cours de développement pour générer des cellules productrices d'insuline (CPIs) à partir de cellules souches pourraient inverser l'incidence croissante du diabète dans le monde. Les thérapies fondées sur la régénération des CPIs (cellules β pancréatiques) se basent principalement sur la différenciation de différentes sources de cellules souches dont les cellules souches embryonnaires (CSEs), cellules souches pluripotentes induites (CSPis), cellules souches adultes pancréatiques (CSPs) et mésenchymateuses (CSMs) (figure 15) (Pan *et al*, 2017).

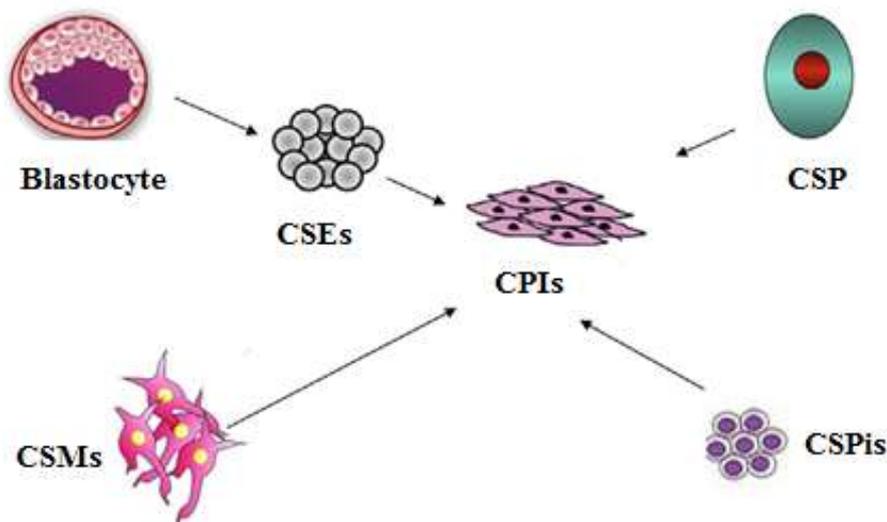


Figure 15: Diverses cellules souches candidates ayant le potentiel de se transformer en cellules sécrétant de l'insuline (Pan *et al*, 2017). CSEs: cellules souches embryonnaires; CSMs: cellules souches mésenchymateuse; CSPis: cellules souches pluripotentes induites; CSPs: cellules souches pancréatiques; CPIs : cellules productrices d'insuline.

II.2.1.1 Cellules souches embryonnaires humaines

Les cellules souches embryonnaires humaines (CSEhs), découvertes pour la première fois en 1998 par James Thomson (Magalon *et al*, 2018). Les CSEhs sont des cellules isolées *in vitro* à partir de la masse cellulaire interne (MCI) du blastocyste au 5^{ème} ou 6^{ème} jour de l'embryogenèse. Les MCIs sont des cellules qui ont la propriété *in vivo* de donner naissance aux trois feuillets embryonnaires endoderme, mésoderme et ectoderme qui sont à l'origine de tous les tissus d'un être humain adulte. Les CSEhs sont pluripotentes capables de se développer en tout type cellulaire et prolifèrent indéfiniment *in vitro* (De Vos *et al*, 2009). Les embryons utilisés pour extraire les CSEhs sont des embryons surnuméraires pour lesquels il n'y a plus de projet parental, un consentement éclairé des parents est obtenu. Ensuite elles sont cultivées sur un tapis de cellules nourricières, qui leur apportent les nutriments et surtout les informations (facteurs de croissance) nécessaires à leur prolifération à un stade indifférencié (Reyftmann *et al*, 2004).

II.2.1.2 Cellules souches pluripotentes induites

Les cellules souches pluripotentes induites (CSPis) découvertes par Takahashi et Yamanaka en 2006. Elles sont issues de la reprogrammation des fibroblastes murins et humains, ainsi que d'autres cellules somatiques adultes. Les protocoles de différenciation utilisés pour générer des CSEs sont modifiés pour générer des CSPis, mais leurs caractéristiques en termes de morphologie, de fonctionnalité et d'expression des facteurs associés à la pluripotence sont similaires. Comme les CSEs, les CSPis peuvent se différencier en de nombreux types de cellules, y compris les cellules productrices d'insuline (Lortelli *et al*, 2020).

II.2.1.3 Cellules souches pancréatiques adultes

Les cellules souches pancréatiques adultes (CSPas) sont une autre source potentielle de cellules en raison de leur pluripotence et de leur potentiel clonogénique. Le pancréas est une source de cellules souches potentielles et partage la même origine embryonnaire avec des cellules telles que les cellules canalaire, acineuses et souches qui peuvent se différencier et se reprogrammer pour assurer un phénotype producteur d'insuline (Scharfmann, 2003).

Cependant, des stratégies avancées sont nécessaires pour isoler et cultiver des cellules souches pancréatiques adultes et les différencier en CPIs. Les cellules épithéliales ont été prélevées du canal pancréatique et transformées en îlots fonctionnels *in vitro*. Les cellules résultantes présentaient une sécrétion d'insuline et des réponses dépendantes du glucose.

Les futures tentatives pour résoudre les problèmes de récolte, de purification et de prolifération de différentes populations de cellules progénitrices pancréatiques et d'induction de la différenciation cellulaire sans mutations génétiques devraient améliorer l'utilisation des cellules souches pancréatiques adultes dans le traitement du diabète (Pan *et al*, 2017).

II.2.1.4 Les cellules souches mésenchymateuses

Les cellules souches mésenchymateuses (CSMs) sont des cellules souches adultes qui résident dans de nombreux organes et tissus du corps, y compris la moelle osseuse, où ont été découvertes pour la première fois par Friedenstein en 1974. Elles sont le choix évident dans différentes approches en raison de leur capacité d'auto-renouvellement et de différenciation (Guillot-Ferriols *et al*, 2022). Les CSMs sont le plus souvent isolées à partir du tissu adipeux ou de la moelle osseuse mais leur faible pourcentage dans ces tissus implique une étape d'amplification *ex vivo* indispensable afin d'obtenir un nombre suffisant de cellules pour une utilisation thérapeutique (Magalon *et al*, 2018). Grâce à leurs propriétés immunitaires, les CSMs sont une source prometteuse pour la thérapie cellulaire.

Les essais cliniques actuels montrent que les CSMs administrées aux patients peuvent traiter différentes maladies y compris le diabète de type 1 (Huselstein *et al*, 2017).

II.3 Différenciation des cellules souches pluripotentes humaines en cellules

β

Les CSEhs et les CSPis sont des cellules pluripotentes utilisées dans la médecine régénérative. Elles sont caractérisées par un potentiel d'auto-renouvellement et une capacité de se différencier en tous types de cellules humaines. Les premiers essais de différenciation des cellules β à partir des CSEs humaines et de souris en surexprimant divers facteurs de transcription (médiateurs de l'identité des cellules β) ne permettaient pas d'obtenir un bon rendement en cellules productrices d'insuline, mais la stimulation ou l'inhibition séquentielle des voies de signalisation par l'utilisation de petites molécules d'immunoglobuline et de facteurs de croissance a permis d'obtenir une différenciation plus efficace des CSEhs (Quiskamp *et al*, 2015).

II.3.1 Génération des CPI à partir des CSEhs et CSPis

Les CSEs ont été isolées de la masse cellulaire interne d'un blastocyste. Tandis que les CSPi étaient reprogrammées à partir de cellules somatiques. Rezanian et ses collaborateurs ont

rapporté un protocole détaillé où ils ont généré des CPIs matures et fonctionnelles à partir des cellules pluripotentes précédemment isolées. Les auteurs ont utilisé des facteurs de transcription (FOX A2, PDX1, NKX6.1, NEUROD1 et MAFA) comme marqueurs clés dans la phase de différenciation, qui passe d'un état progéniteur à un état endocrinien vers la lignée des cellules β . Le protocole de différenciation était divisé en sept étapes séquentiellement (figure 16): l'endoderme définitif (étape 1), le tube intestinal primitif (étape 2), intestin antérieur et postérieur (étape 3), l'endoderme pancréatique (étape 4), les précurseurs endocriens pancréatiques (étape 5), les cellules β immatures (étape 6) et les cellules β matures (étape 7) (Rezania *et al*, 2014).

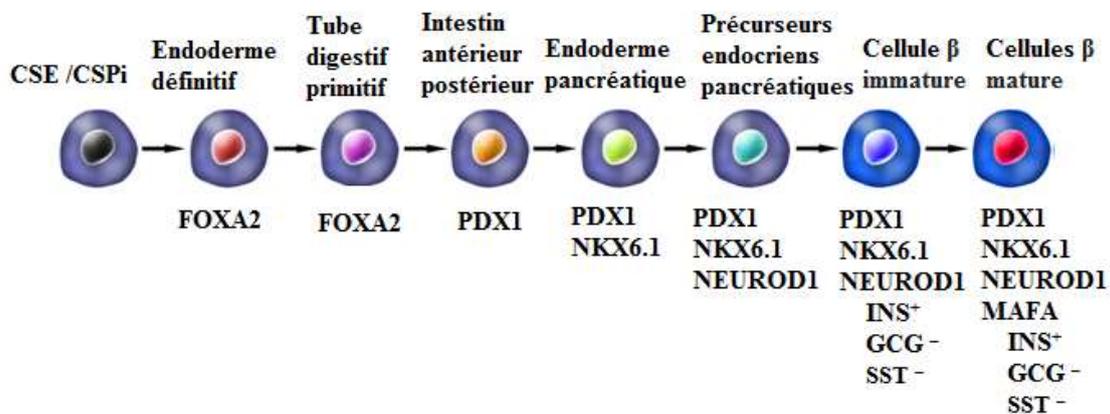


Figure 16: Génération des CPIs à partir des CSEs et/ou CSPis (Chen *et al*, 2020).

Les patients atteints du DT1 pourraient ne pas bénéficier de cellules β dérivées de CSPi en raison du rejet auto-immun. L'encapsulation est une méthode d'immuno-protection qui consiste à séparer physiquement les cellules transplantées du système immunitaire du patient par macro ou micro-encapsulation. Cette dernière utilise généralement des polymères d'hydrogel pour créer une sphère semi-perméable autour des agrégats cellulaires, qui peuvent ensuite être injectées dans le corps d'un patient. Contrairement à la micro-encapsulation, les dispositifs de macro-encapsulation contiennent un grand nombre de cellules qui ont protégées l'action du système immunitaire de l'hôte par des membranes semi-perméables et/ou des feuilles d'hydrogel. En fonction des dispositifs, les îlots peuvent être transplantés sous la peau, dans l'espace péritonéal ou par la voie intraveineuse (figure 17) (Quiskamp *et al*, 2015).

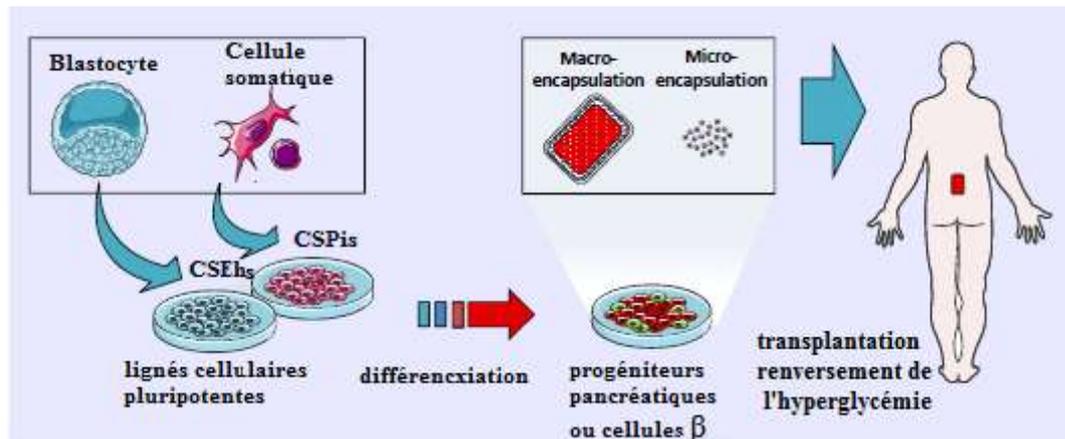


Figure 17: Différenciation et transplantation *in vitro* de cellules souches pluripotente pour le traitement du diabète (Quiskamp *et al*, 2015).

En octobre 2014, Viacyte a lancé le premier essai clinique pour le traitement des patients atteints de DT1 à l'aide de progéniteurs pancréatiques dérivés de CSEh macro-encapsulées. Les dispositifs sont transplantés par voie sous-cutané dans la région du bas du dos. L'essai vise à évaluer leurs sécurité, leurs tolérance et leur efficacité, la glycémie des patients sera mesurée en permanence (Chen *et al*, 2020). Les résultats montrent qu'après maturation et vascularisation *in vivo*, les cellules sont capables de sécréter l'insuline en réponse à la variation de la concentration du glucose dans le sang et peuvent rétablir le contrôle glycémique, tandis que l'encapsulation protège les cellules greffées de la destruction par les cellules immunitaires (Quiskamp *et al*, 2015).

II.4 La surexpression de Pax4 par thérapie génique

Le gène de la boîte appariée 4, facteur de transcription (Pax4) appartient à la famille pax. Il joue un rôle important dans la croissance, la différenciation, la prolifération et la sécrétion de l'insuline au niveau des cellules β et γ pancréatiques (Li et liu, 2017). Divers variant génétiques du gène Pax4 codant pour un facteur de transcription peuvent développer un DT1. Le Pax4 joue cependant un rôle important dans le contrôle de la plasticité des cellules β , en partie liée la survie de ces cellules par leurs protection contre l'apoptose et contre l'insulite, et à la prolifération par la transdifférenciation des cellules α en cellules β (Panneerselvam *et al*, 2019).

II.4.1 L'effet protecteur de PAX4 sur les cellules β

Dans les conditions de stress tel que la streptozotocine et durant l'infiltration de lymphocytes TCD4⁺ auto-réactifs de type Th1, l'expression du gène Pax4 est stimulée en tant que mécanisme adaptatif de protection des cellules β contre les agressions de l'environnement.

L'effet anti-apoptotique de Pax4 passe par trois voies de signalisation :

- La régulation simultanée de l'oncogène c-myc et du gène anti-apoptotique bcl-xl; L'oncogène c-myc est un régulateur important de la prolifération des cellules β , mais il induit en même temps son apoptose. Bcl-xl empêche l'apoptose induite par c-myc et favorise la prolifération des cellules β . Ainsi, il existe un couplage étroit entre c-myc et bcl-xl régulé par Pax4 pour favoriser la prolifération et la survie des cellules β (Brun *et al*, 2004).

- L'inhibition de la voie NF- κ B (Facteur Nucléaire kappa B); La surexpression constitutive de Pax4 dans les cellules β chez la souris, induit une réduction du taux de transcrits codant pour l'interleukine 1 β (IL-1 β), la principale cytokine responsable de l'activation de la voie NF- κ B et des transcrits de Nos 2 (oxyde nitrique synthase 2), un gène cible de NF- κ B. Par ce mécanisme, Pax4 prévient les dommages exercés sur les cellules β issus de l'hyperglycémie (He *et al*, 2011).

- Le Pax4 est un régulateur clé de la fonction du réticulum endoplasmique (RE) par un ciblage combiné de gènes impliqués dans la protéostase, l'homéostasie du calcium et la translocation des protéines du RE vers l'appareil de Golgi. L'importance fonctionnelle des changements transcriptionnels dans ces gènes a été validée par la capacité de Pax4 à prévenir les anomalies ultrastructurales du RE induites par l'apoptose des cellules β (Mellado *et al*, 2016).

L'effet de Pax4 contre l'insulite:

L'infiltration des lymphocytes TCD4⁺ auto-réactifs de type Th1 favorise la formation de l'insulite qui détruit spécifiquement les cellules β . La surexpression de Pax4 dans les cellules β stimule l'expression du gène de la Galectine 9 (Gal-9), un puissant immunomodulateur qui régule les lymphocytes TCD4⁺ Th1, induisant leur apoptose par l'intermédiaire de son récepteur Tim-3 (Immunoglobuline des lymphocytes T et protéine-3 contenant de la mucine). La surexpression de Gal-9 chez la souris NOD (diabétique non obèse) réduit l'insulite et l'hyperglycémie (figure 18) (Perge et Eljaafari, 2020).

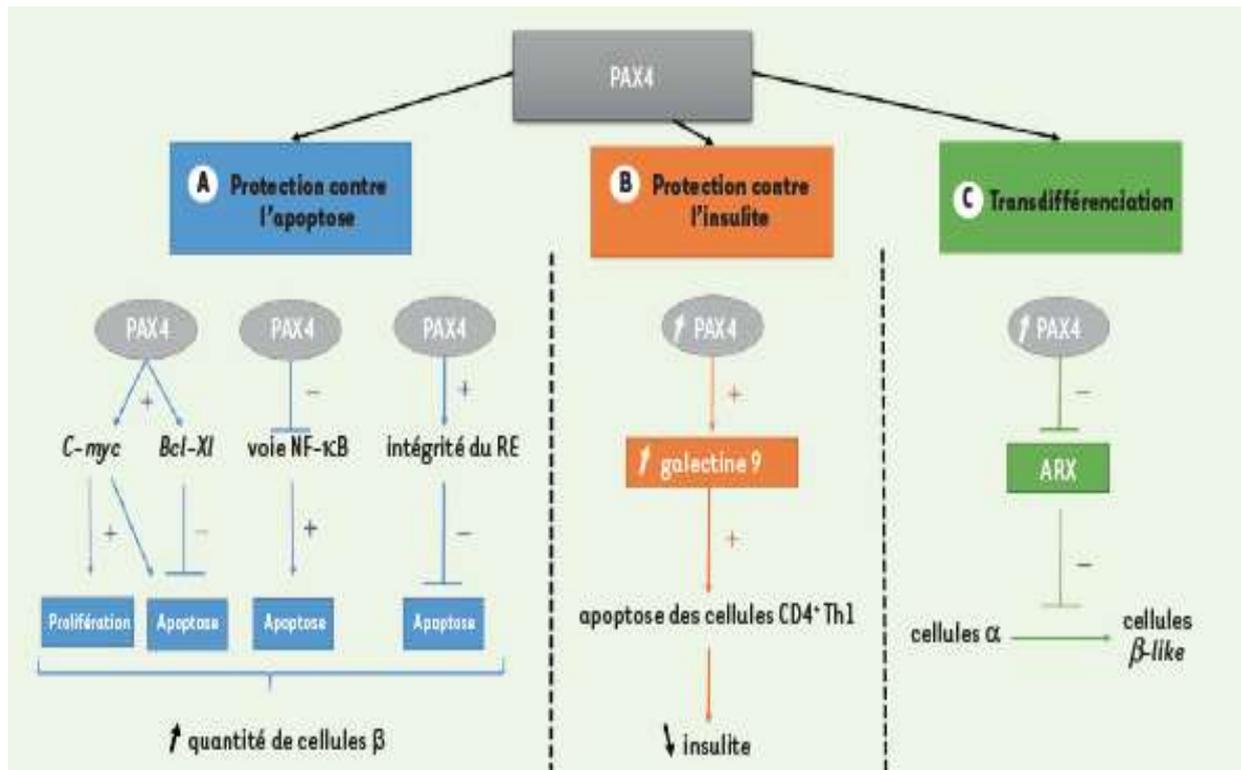


Figure 18: Mécanismes d'action de Pax4 sur le pancréas endocrin, offrant une éventuelle piste thérapeutique dans le traitement du diabète de type 1 (Perge et Eljaafari, 2020).

II.4.2 La transdifférenciation des cellules α pancréatiques

Les facteurs de transcription Pax4 et Arx jouent un rôle prépondérant durant la formation du pancréas endocrin en exerçant l'inhibition réciproque l'un sur l'autre. Les souris déficientes en Arx meurent d'une hypoglycémie causée par la perte des cellules α, celle-ci s'accompagnant d'une augmentation proportionnelle du nombre de cellules β. La situation inverse fut observée en cas de déficience en Pax4 : la perte des cellules β et un accroissement relatif du nombre de cellules α entraînent une hyperglycémie létale. A cet égard, le Pax4 peut être considéré comme une cible de choix pour une thérapie génique dans le DT1 (Collombat et Mansouri, 2009).

Zhang et ses collaborateurs ont exploré si le transfert du gène Pax4 dans les cellules α pouvait les convertir en cellules β productrice d'insuline. Leurs études sont basées principalement sur la délivrance efficace du gène Pax4 dans les cellules α où ils ont développé un vecteur adénovirus portant le Pax4 humain (Ad5-Pax4) et le transfécté dans les cellules α des souris déjà traitées par la streptozotocine (STZ). Ensuite ils ont examiné l'expression du glucagon et de l'insuline après une infection par Ad5.Pax4. Les résultats de cette étude montrent que les cellules infectées ont entraîné une expression robuste du gène Pax4 sans

toxicité notable par rapport à celles non traitées (Zhang *et al*, 2016). Par conséquent l'expression de l'insuline est devenu facilement détectable mais l'expression du glucagon a diminué et cela résulte de la régénération continue des cellules α , celles-ci étant par la suite converties en cellules β . Afin de compenser le déficit en cellules α , le facteur de transcription Neurogenine 3 (Ngn3) est réactivé, induisant un néogène continu à partir de cellules précurseurs des cellules α , qui sont elles-mêmes converties continuellement en cellules β lors de l'expression ectopique de Pax4 (figure 19) (Perge et Eljaafari, 2020).

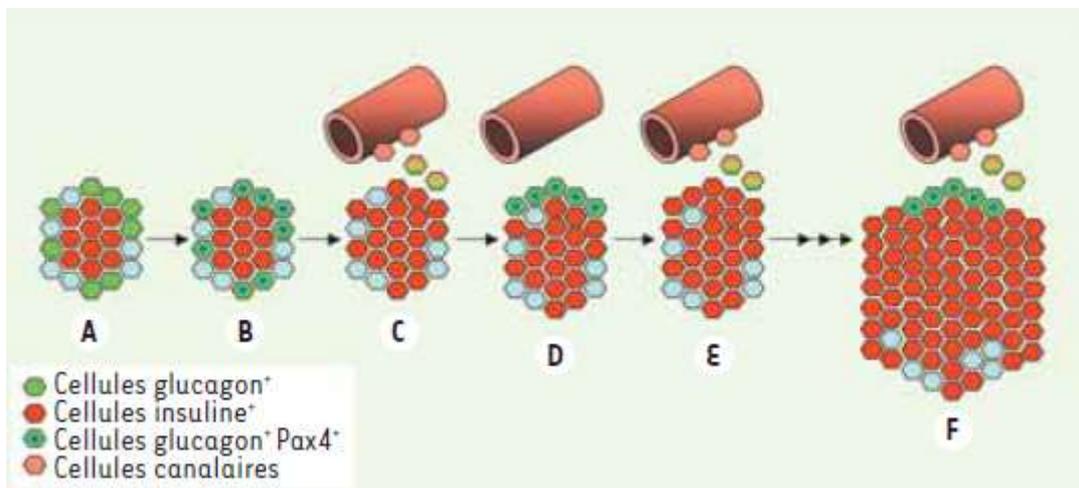


Figure 19: Conversion de cellules α pancréatiques en cellules β sécrétrices d'insuline (Collombat et Mansouri, 2009).

II.5 La surexpression de hTIMP-1 dans les cellules souches mésenchymateuses de cordon ombilical humain

La transplantation de cellules souches tel que les CSMs a été suggérée comme un traitement pour réparer les lésions des îlots de Langerhans. La sécrétion des inhibiteurs tissulaires de la métalloprotéinase (TIMP-1) et des métalloprotéinases matricielles (MMP) par les CSMs a mis en évidence leur rôle dans la prolifération et la différenciation de ces cellules ainsi que leur effet anti-apoptotique au niveau des tissus endommagés. Les TIMP-1 sont des protéines multifonctionnelles qui participent directement à la régulation de la prolifération cellulaire et de l'apoptose, ce sont des inhibiteurs directs des MMP. Ces derniers sont des enzymes qui dégradent le collagène et les matrices extracellulaire et participent au renouvellement de divers tissus, mais elles sont également impliqués dans les maladies et les lésions tissulaires. L'équilibre MMP/TIMP-1 détermine l'activation des cellules T dans le pancréas, résultant ainsi le DT1. L'étude précédente a montré que la surexpression de TIMP-1

améliore le métabolisme du glucose chez les souris diabétiques par la préservation de la masse des cellules β et leurs régénération après un traitement par la STZ. Le but de cette étude était d'examiner les effets de la surexpression du gène TIMP-1 dans les CSMs sur la réparation des îlots pancréatiques.

Bao et ses collaborateurs, ont préparé et isolé les cellules souches mésenchymateuses du cordon ombilical humain (CUh-CSM), ensuite ils ont transfecté les CSMs avec des lentivirus portant les gènes TIMP-1 et EGFP (protéine fluorescente verte améliorée) (figure 20). Après, les îlots ont été isolés, séparés puis cultivés. Les experts ont ensuite évalué les effets des lenti-TIMP-EGFP-CSMs sur les fonctions des îlots pancréatiques, où ils ont démontré l'influence de la coculture sur les îlots dont elle a entraîné une augmentation de la libération d'insuline et la sécrétion de différentes cytokines tel que TIMP-1 par rapport aux îlots non coculturés. Cette technique a également induit une augmentation significative des taux de viabilités cellulaires des îlots par rapport aux îlots normaux.

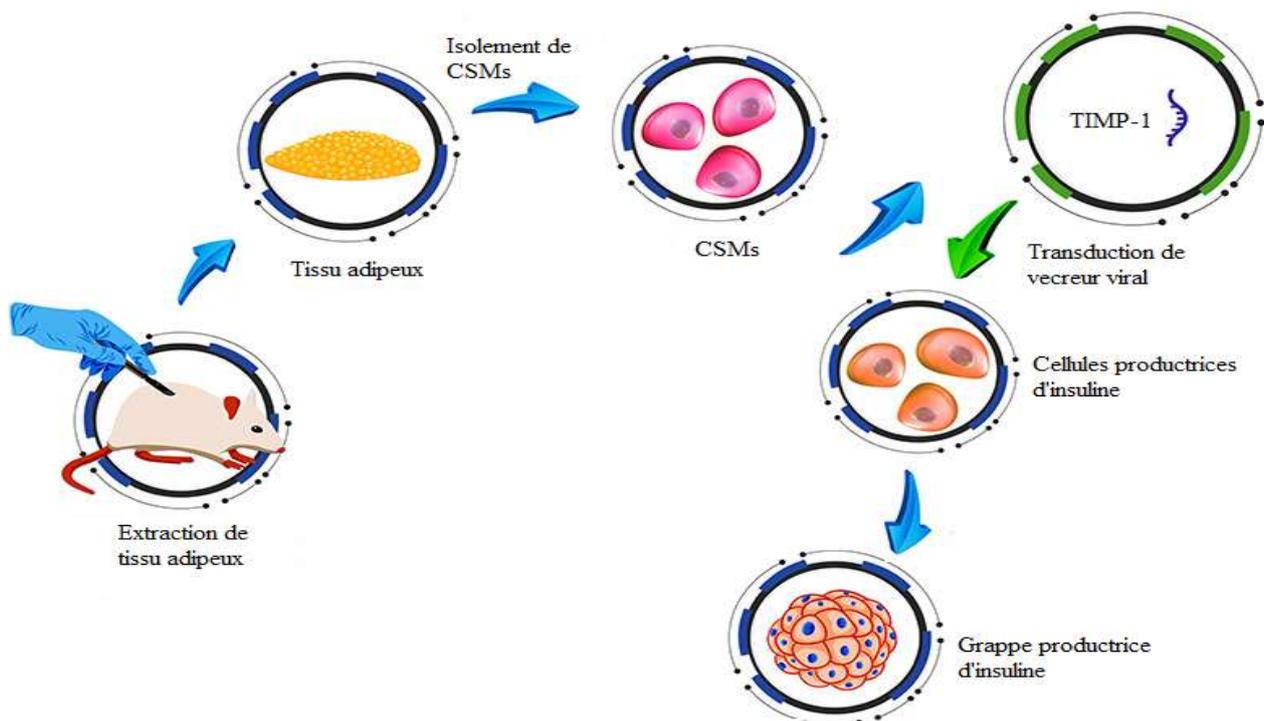


Figure 20: Reprogrammation des cellules souches mésenchymateuses (Soltani *et al*, 2021).

CSMs : cellules souches mésenchymateuses ; TIMP-1: inhibiteurs tissulaires de la métalloprotéinase matricielle.

II.5.1 La transplantation de cellules transfectées chez les souris diabétique

Bao et al, ont réalisé une expérience sur des souris nues BALB/C ayant reçu une injection intrapéritonéale de STZ. Après l'obtention d'un modèle réussi (glycémie supérieure à 16,7 mmol/L), les souris ont été anesthésiées à l'aide d'une solution de sodium et ont été injectées de suspension cellulaire par la veine de la queue.

Les résultats de cette étude ont montré une amélioration de la glycémie après la charge en glucose, les valeurs de l'insuline ainsi que la structure pancréatique des souris diabétiques après la transplantation de CUh-CSM et en particulier de lenti-TIMP-EGFP- CUh-CSM (figure 21).

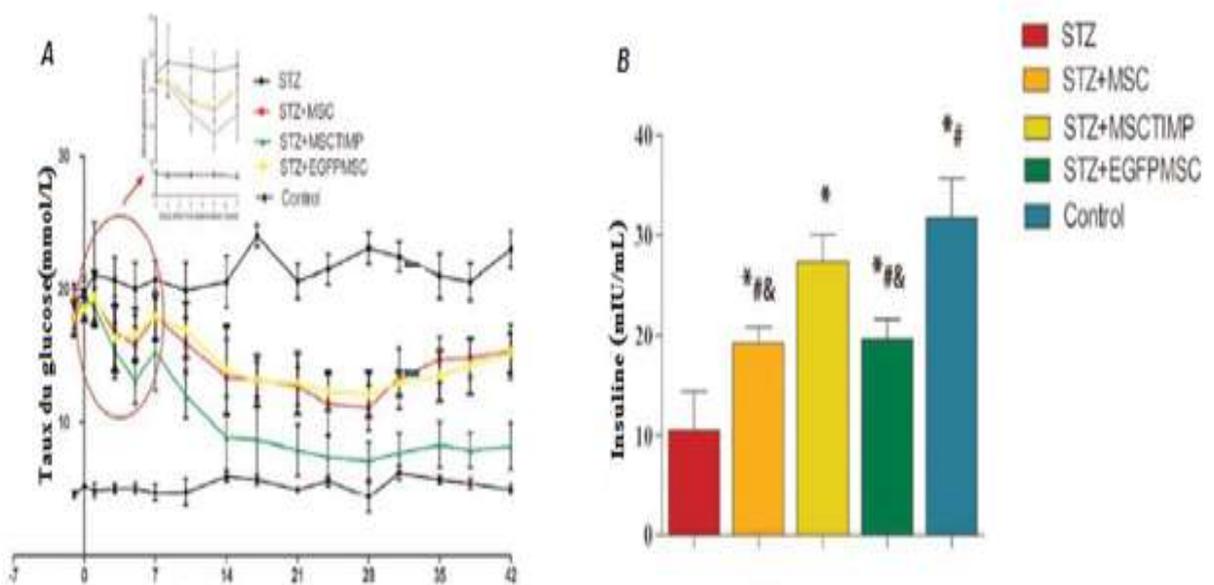


Figure 21: Transplantation de CUh-CSM chez les souris diabétiques .A: changement de la glycémie dans le temps. B: production d'insuline 42 jours après transplantation (Bao *et al*, 2021).

Les résultats de cette étude suggèrent que la thérapie de transplantation cellulaire à base de CUh-CSM est une voie potentielle prometteuse pour guérir le DT1, dans laquelle les CSMs peuvent être utilisés pour la réparation des îlots pancréatiques (Bao *et al*, 2021).

Conclusion

Le diabète est l'un des problèmes de santé publique dont la prévalence continue d'augmenter dans le monde. Suite à l'incidence accrue de diabète de type 1 causé par la déficience en cellules β productrice de l'insuline résultante de la réaction auto-immune, les efforts se multiplient afin de découvrir la thérapie la plus adéquate capable d'améliorer la qualité de vie des patients.

A cet égard, les recherches tendent vers l'application de la thérapie génique et cellulaire basant sur la différenciation et la régénération de différentes cellules souches en cellules productrices d'insuline afin de restaurer la sécrétion de l'hormone endogène.

D'après l'analyse des travaux réalisés par Rezania, Zhung, Bao et leurs collaborateurs, on a pu déduire que la transplantation des CSEs/ CSPis *in vivo* a montré qu'elles sont capables de sécréter l'insuline en réponse à la variation de la concentration du glucose dans le sang et peuvent rétablir le contrôle glycémique, tandis que l'encapsulation protège les cellules greffées de la destruction par les cellules immunitaires.

La surexpression de Pax4 a permis de réguler l'hyperglycémie par : la transdifférenciation des cellules α en cellules β et la protection des cellules β contre l'apoptose et contre l'insulite.

La surexpression de TIMP-1 dans les CSMs a donné un bon rendement en cellules β , ce qui a fait de la thérapie de transplantation cellulaire à base de CUh-CSM une voie potentielle prometteuse pour guérir le diabète de type 1 dans laquelle les CSMs sont utilisées pour la réparation des îlots pancréatiques.

D'autres travaux de thérapie génique et cellulaire sont au cours de recherche afin de trouver un remède curatif pour le diabète type 1.

Références bibliographiques

A

Adler A., Bennett P., Colagiuri C. S., Gregg E., Venkat N. K.M., Schmidt M. I., Sobngwi E., Tajima N., Tandon N. and al. Reprint of: Classification of diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice* (2021): 1-51.

Altman J.J., Ducloux R. and Lévy-Dutel L. Le grand livre du diabète. France : Edition Eyrolles (2012): 6-7.

B

Bao Y., Zhao Z. and Gao H. Effect of HTIMP-1 Overexpression in Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells on the Repair of Pancreatic Islets in Type-1 Diabetic Mice. *Cell Biology International* (2021); 45 (5): 1038-1049.

Battu V. Les insulines. *Actualités Pharmaceutiques* (2013); 52 (530): 55-59.

Bazira P. J. and Mahadevan V. Anatomy of the Pancreas and Spleen. *Surgery (Oxford)* (2022); 40 (4): 213-218.

Beltrand J. and Robert J. J. L'insulinothérapie en pédiatrie. *Archives de Pédiatrie* (2013); 20: 131-135.

Bessaguet F. and Desmoulière A. Le pancréas. *Actualités Pharmaceutiques* (2021); 60 (607): 55-59.

Brun T., Franklin I., St-Onge L., Bignon-Laubert A., Schoenle E.J., Wollheim C.B. and Gauthier B.R. The Diabetes-Linked Transcription Factor PAX4 Promotes β -Cell Proliferation and Survival in Rat and Human Islets. *Journal of Cell Biology* (2004); 167 (6): 1123-1135.

Références bibliographiques

C

Capeau J. Voies de signalisation de l'insuline : mécanismes affectés dans l'insulino-résistance. *Medecine- Science* (2003); 19 (8): 834-839.

Chakrabort C.and Mungantiwar A. Human Insulin Genome Sequence Map, Biochemical Structure of Insulin for Recombinant DNA Insulin. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* (2003); 3 (5): 375-385.

Chellappan D. K., Sivam N. S., Xiang T. K., Pan L .W., Fui T. Z., Kien C., Nico K., Yi F. J., Chellian J., Cheng L. L. and al. Gene Therapy and Type 1 Diabetes Mellitus. *Biomedicine & Pharmacotherapy* (2018); 108: 1188-1200.

Chen S., Du K. and Zou C. Current Progress in Stem Cell Therapy for Type 1 Diabetes Mellitus. *Stem Cell Research & Therapy* (2020); 11 (1): 1-13.

Collombat P. and Mansouri A. Conversion de cellules α pancréatiques en cellules β . *médecine/sciences* (2009); 25 (9): 763-766.

Contesse V. Le traitement du diabète de type 1 au XXIe siècle : transplantation des îlots de Langerhans et thérapie génique. *Mise au point* (2001); (5): 207-212.

D

De La Haye Saint Hilaire D., Moreau F., Sigrist S., Pinget M. and Jeandidier N. Insulinothérapie : insuline ou analogues ? Injection ou perfusion ? Boucle ouverte ou boucle fermée ? *Médecine Nucléaire* (2010); 34 (10): 583-588.

De Vos J., Assou S., Tondeur S., Dijon M. and Hamamah S. Les cellules souches embryonnaires humaines:de la transgression de l'embryon humain à la médecine régénératrice de demain . *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* (2009); 37 (8): 620-626

DiMeglio L. A., Evans-Molina C.and Oram R. A. Type 1 Diabetes. *The Lancet* (2018); 391: 2449-2462.

Dorchy H. Utilisation rationnelle des nouveaux analogues de l'insuline dans le traitement du diabète de type 1 chez les enfants et adolescents : expérience personnelle. *Archives de Pédiatrie* (2006); 13 (9): 1275-1282.

Références bibliographiques

Drouin P.,Blickle J.F.,Charbonnel B.,Eschwege E.,Guillausseau P.J.,Plouin P.F.,Daninos J.M.,Balarac N.and Sauvanet J.P. Diagnostic et classification du diabète sucré:les nouveaux critères (1999); 25: 72-83.

Dubois. L. D. Progrès physiopathologique dans le diabète de type 1. La revue du praticien (2010); 60:166.

Dufresne M. Cellules souches et différenciation pancréatique. Hépatogastro & Oncologie Digestive (2002); 9 (1): 51-57.

E

El-Badawy A.and El-Badri N. Clinical Efficacy of Stem Cell Therapy for Diabetes Mellitus: A Meta-Analysis. Plosone (2016); 11 (4): 1-16.

Ellis C., Ramzy A.and Kieffer T. J. Regenerative Medicine and Cell-Based Approaches to Restore Pancreatic Function. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology (2017);14 (10): 612-628.

Espona N. A., Ciriza J., Cañibano H. A., Orive G, Hernández RMM, Saenz D. B. L.and Pedraz J.L. Review of Advanced Hydrogel-Based Cell Encapsulation Systems for Insulin Delivery in Type 1 Diabetes Mellitus. Pharmaceutics (2019); 11 (11): 1-28.

F

Fasolino M.,Gregory W. S.,Abhijeet R.P.,Mongia A., Golson M. L.,Wang Y J., Morgan A., Liu C.,Schug J. and al. Single-cell multi-omics analysis of human pancreatic islets reveals novel cellular states in type 1 diabetes. Nat Metab (2022); 4: 284-299.

Fontbonne A. Epidémiologie du diabète. Encycl Méd Chir (2019); 10: 66-89.

G

Godeau. P., Bailliere. J. B., Grimaldi. A.and Thervet. F. Les diabètes et les hypoglycémies. Lavoisier, Technique et Documentation (1987): 284-300.

Goldenberg R.and Punthakee Z. Définition, classification et diagnostic du diabète, du prédiabète et du syndrome métabolique. Canadian Journal of Diabetes (2013); 37: 369-372.

Références bibliographiques

Greber U. F. Adenoviruses – Infection, Pathogenesis and Therapy. *FEBS Letters* (2020); 594 (12): 1818-1827.

Griggs S., Barbato E., Hernandez E., Gupta D., Margevicius S., Grey M. and Hickman R.L. Couplage glucose et activité physique non structurée pendant le sommeil et l'éveil chez les jeunes adultes diabétiques de type 1. *Rapport Scientifique* (2022); 12:1-8.

Guillot F. M., Lanceros M. S., Gómez R. J. L. and Gallego F. G. Electrical Stimulation: Effective Cue to Direct Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells? *Biomaterials Advances* (2022); 138: 1-18.

H

Hanaire H. Diabète de type 1 : les leçons du DCCT et d'EDIC (20 ans après). *Mise au point* (2015); 74: 1-5.

Haguenauer C. O. Réglementation de la thérapie génique. *médecine/sciences* (1999); 15 (5): 682-690.

He K.H. H., Lorenzo P I., Brun T., Moreno C M. J., Aeberhard D., Ortega J V., Cornu M., Thorel F. and Gjinovci A. In Vivo Conditional Pax4 Overexpression in Mature Islet B-Cells Prevents Stress-Induced Hyperglycemia in Mice. *Diabetes* (2011); 60: 1705-1715.

Howarth J.L., Lee Y. B. and Uney J.B. Using Viral Vectors as Gene Transfer Tools (Cell Biology and Toxicology Special Issue: ETCS-UK 1 Day Meeting on Genetic Manipulation of Cells). *Cell Biology and Toxicology* (2010); 26 (1): 1-20.

Huselstein C., Rahouadj R., de Isla N., Bensoussan D., Stoltz J.F. and Li Y.P. Mechanobiology of Mesenchymal Stem Cells: Which Interest for Cell-Based Treatment? *Bio-Medical Materials and Engineering* (2017); 28 (1): 47-56.

I

Ivanov I.I., Atarashi K., Manel N., Brodie E. L., Shima T., Karaoz U., Wei D., Goldfarb K.C., Santee C. A. and al. Induction of Intestinal Th17 Cells by Segmented Filamentous Bacteria. *Cell* (2009); 139 (3): 485-498.

K

Références bibliographiques

Knip M. and Siljander H. Autoimmune Mechanisms in Type 1 Diabetes. *Autoimmunity Reviews* (2008); 7 (7): 550-557.

Kostic A.D., Gevers D., Siljander H. DIABIM-MUNE Study Group, Xavier RJ. The dynamics of the human infant gut microbiome in development and in progression toward type 1 diabetes. *Cell Host Microbe* (2015); 17: 260-273.

Kukko M., Kimpimaki T., Kupila A., Korhonen S., Kulmala P., Savola K., Simell T., Keskinen P., Ilonen J. and al. Signs of Beta-Cell Autoimmunity and HLA-Defined Diabetes Susceptibility in the Finnish Population: The Sib Cohort from the Type 1 Diabetes Prediction and Prevention Study. *Diabetologia* (2003); 46 (1): 65-70.

L

Lannoy N. and Hermans C. Thérapie génique en 2017 : état des lieux et perspectives (2017); 136 (1): 1-8.

Leung P. S. Physiology of the Pancreas. In *The Renin-Angiotensin System: Current Research Progress in The Pancreas, Advances in Experimental Medicine and Biology*, Dordrecht: Springer Netherlands, (2010):13-27.

Li X. and Liu Z.Q. Pharmacogenetic Factors That Affect Drug Metabolism and Efficacy in Type 2 Diabetes Mellitus. In *Drug Metabolism in Diseases*. China: Elsevier, (2017): 157-179.

Loretelli C., Assi E., Seelam A. J., Ben Nasr M. and Fiorina P. Cell Therapy for Type 1 Diabetes. *Expert Opinion on Biological Therapy* (2020); 20 (8): 887-897.

M

Magalon J., François P., Velier M., Grimaud F., Veran J., Calmels B. and Sabatier F. Thérapie cellulaire et cellules souches en 2018. *Revue Francophone des Laboratoires* (2018); 507: 34-43.

Magnan C. and Ktorza A. Production et sécrétion de l'insuline par la cellule β pancréatique. *EMC - Endocrinologie* (2005); 2 (4): 241-264.

Malek R. Épidémiologie du diabète en Algérie : revue des données, analyse et perspectives. *Médecine des Maladies Métaboliques* (2011); 5 (4): 29-33.

Références bibliographiques

Marchand L. and Thivolet C. Étiologie et physiopathologie du diabète de type 1. EMC–Endocrinol (2016); 13 (4): 1-12.

Maxwell K. G. and Millman R. J. Applications of iPSC-Derived Beta Cells from Patients with Diabetes. Cell Reports Medicine (2021); 2 (4):1-10.

Mayer J. P., Zhang F. and DiMarchi R. D. Insulin Structure and Function. Biopolymers (2007); 88 (5): 687-713.

Mellado-Gil J. M., Jiménez-Moreno C.M., Martín-Montalvo A., Alvarez-Mercado A.I., Fuente-Martín E., Cobo-Vuilleumier N., Lorenzo P.I., Bru-Tari E., Herrera Gómez I.G., López-Noriega L. and al. PAX4 Preserves Endoplasmic Reticulum Integrity Preventing Beta Cell Degeneration in a Mouse Model of Type 1 Diabetes Mellitus. Diabetologia (2016); 59 (4): 755-765.

Mimouni Z. S., Smail M., Boudiba A. and Derguini M. Diabète gestationnel : facteurs de risque, évolution et conséquences périnatales. Médecine des Maladies Métaboliques (2009); 3 (6): 626-633.

Monnier L., Schlienger J.L. Le diabète sucré : généralités et un peu d'histoire. In Elsevier Health Sciences, ed. Manuel de nutrition pour le patient diabétique. Paris, (2018): 3.

Moussaoui S., Lucas S., Zorzi P., Le Saulnier C. and Trouvin J.H. Cadre réglementaire de la thérapie cellulaire. Bulletin du Cancer (2003); 90 (8):779-788.

P

Pan G., Yiming M., Lifei H. and Jianping L. Examining the Therapeutic Potential of Various Stem Cell Sources for Differentiation into Insulin-Producing Cells to Treat Diabetes. Annales d'Endocrinologie (2019); 80 (1): 47-53.

Panneerselvam A., Kannan A., Mariajoseph-Antony L F. and Prahalathan C. PAX Proteins and Their Role in Pancreas. Diabetes Research and Clinical Practice (2019);155: 1-8.

Perge K. and Eljaafari A. Surexpression de PAX4 par thérapie génique: Un espoir pour le traitement du diabète de type 1. médecine/sciences (2020); 36 (5): 458-460.

Références bibliographiques

Philips J.C. and Radermecker R.P. L'insulinothérapie dans le diabète de type 1. Résident-spécialiste, Service de Diabétologie, Nutrition et Maladies Métaboliques (2005); 60: 322-328.

Pociot F. and Lernmark Å. Genetic Risk Factors for Type 1 Diabetes. The Lancet (2016); 387: 2331-2339.

Prakoso D., Tate M., Blasio M. J. D. and Ritchie R. H. Adeno-Associated Viral (AAV) Vector-Mediated Therapeutics for Diabetic Cardiomyopathy – Current and Future Perspectives. Clinical Science (2021); 135 (11): 1369-1387.

Q

Quiskamp N., Bruin J.E. and Kieffer T. J. Differentiation of Human Pluripotent Stem Cells into β -Cells: Potential and Challenges. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism (2015); 29 (6): 833-847.

R

Rewers M. and Ludvigsson J. Environmental Risk Factors for Type 1 Diabetes. The Lancet (2016); 387: 2340-2348.

Reyftmann L., Dechaud H., Hamamah S., Pucéat M. and Hédon B. Cellules souches embryonnaires : une place pour le gynécologue-obstétricien. Première partie. Gynécologie Obstétrique & Fertilité (2004); 32 (10): 866-871.

Rezania A., Bruin J E., Arora P., Rubin A., Batushansky I., Asadi A., O'Dwyer S., Quiskamp N., Mojibian M. and al. Reversal of Diabetes with Insulin-Producing Cells Derived in Vitro from Human Pluripotent Stem Cells. Nature Biotechnology (2014); 32 (11): 1121-1133.

Rodier M. Définition et classification du diabète. Médecine Nucléaire –Imagerie fonctionnelle et métabolique (2001); 25 (2): 91-93.

Rouland M., Bertrand L. and Lehuen A. Microbiote, immunité et diabète de type 1. Médecine des Maladies Métaboliques (2022); 16 (2): 134-140.

S

Références bibliographiques

Scharfmann R. Qu'est ce qu'une cellule souche pancréatique? M/S : médecine sciences (2003); 19 (7): 695.

Scheen A. J., Radermecker R. P., Philips J. C. and Paquot N. Les incrétinomimétiques et incrétinopotentiators dans le traitement du diabète de type 2. Revue Médicale Suisse (2007); 3: 1884-1888.

Schlienger J.L. Le traitement du diabète avant l'insuline. Médecine des Maladies Métaboliques (2021); 15 (3): 340-346.

Slama G. Histoire de l'insulinothérapie. Médecine des Maladies Métaboliques (2012); 6 (4): 352-357.

Sola A., Larger E., MBemba J., Elgrably. and Slama G. Les nouvelles insulines: intérêts et inconvénients. Réanimation (2006); 15 (6): 454-460.

Soltani A., Soleimani M., Ghiass M. A., Enderami S.E ., Rabbani S ., Jafarian A . and Allamehet A. Treatment of Diabetic Mice by Microfluidic System-Assisted Transplantation of Stem Cells-Derived Insulin-Producing Cells Transduced with MiRNA. Life Sciences (2021); 274: 1-13.

Sun Z.Y., Yu T.Y., Jiang F.X. and Wang W. Functional Maturation of Immature β Cells: A Roadblock for Stem Cell Therapy for Type 1 Diabetes. World Journal of Stem Cells (2021); 13 (3): 193-207.

T

Tenenbaum M., Bonnefond A., Froguel P. and Abderrahmani A. Physiopathologie du diabète. Revue Francophone des Laboratoires (2018); 502: 26-32.

Thevis M., Thomas A. and Schänzer W. Insulin. In: Thieme D and Hemmersbach P, éd. Doping in Sports, Handbook of Experimental Pharmacology. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg (2010); 195: 209-226.

Tokarz V. L., MacDonald P. E. and Klip A. The Cell Biology of Systemic Insulin Function. Journal of Cell Biology (2018); 217 (7): 1-17.

V

Références bibliographiques

Venard V., Bordigoni P. and Le Facu A. Adénovirus et infections hospitalières. *Virologie* (2001); 5 (4): 245-253.

Vanikar A.V., Trivedi H. L. and Thakkar U.G. Stem Cell Therapy Emerging as the Key Player in Treating Type 1 Diabetes Mellitus. *Cytotherapy* (2016); 18 (9): 1077-1086.

W

Wang Y., Wang C., Li K., Song X., Yan X., Yu L. and He Z. Recent advances of nanomedicine-based strategies in diabetes and complications management: Diagnostics, monitoring, and therapeutics. *Journal of Controlled Release* (2021); 330: 618-640.

X

Xu R., Li H., Tse L.y., Kung H.f., Lu H. and Lam K. S. L. Diabetes Gene Therapy: Potential and Challenges (2003); 3: 65-82.

Z

Zaoui S., Biémont C. and Meguenni K. Approche épidémiologique du diabète en milieu urbain et rural dans la région de Tlemcen (Ouest algérien) (2007); 17 (1) : 15-21.

Zhang Y., Fava G.E., Wang H., Mauvais-Jarvis F., Fonseca V.A. and Wu H. PAX4 Gene Transfer Induces α -to- β Cell Phenotypic Conversion and Confers Therapeutic Benefits for Diabetes Treatment. *Molecular Therapy* (2016); 24 (2): 251-260.

Zhou Q. and Melton D. A. Pancreas Regeneration. *Nature* (2018); 557: 351-358.

Résumé

Le diabète de type 1 est le résultat d'un dysfonctionnement auto-immune responsable de la destruction des cellules β , entraînant une carence en insuline produisant ainsi une hyperglycémie. L'insulinothérapie est un traitement qui consiste à compenser le défaut de la production de l'insuline en administrant des injections quotidiennes en insuline. Les études actuelles visent à rechercher de nouvelles approches pour rendre les patients indépendants de l'insuline exogène. La transplantation du pancréas et d'îlots de Langerhans est l'une des stratégies actuellement disponibles mais elle présente certains inconvénients tel que la disponibilité limitée des donneurs ce qui a permis d'ouvrir de nouvelles modalités thérapeutiques : la différenciation de cellules souches pluripotentes induites et/ou embryonnaires *in vitro* en cellules productrices d'insuline, la transfection de progéniteurs α par le gène Pax4 ainsi que la surexpression de TIMP-1 dans les cellules souches mésenchymateuses. Cette thérapie a prouvé son efficacité dans la restauration du fonctionnement physiologique des cellules β .

Mots clés

Diabète type 1, cellules β , insuline, cellules souches, thérapie génique.

Abstract

Type 1 diabetes is the result of autoimmune dysfunction mediated by T cells on β cells, leading to insulin deficiency producing hyperglycemia. Insulin therapy is a treatment that consists of compensating for the defect in the production of insulin by administering daily injections. Current studies aim to find new approaches to make patients independent of exogenous insulin. Transplantation of the pancreas and islets of Langerhans is one of the strategies currently available but it has certain drawbacks such as the limited availability of donors, which has opened up new therapeutic modalities: the differentiation of induced pluripotent stem cells and /or embryos *in vitro* in insulin-producing cells, the transfection of α progenitors by the Pax4 gene as well as the overexpression of TIMP-1 in mesenchymal stem cells. This therapy has proven its effectiveness in restoring the physiological functioning of β cells.

Key words

Type 1 diabetes, β cells, insulin, stem cells, genetical therapy.

المخلص

داء السكري من النوع 1 هو نتيجة خلل في المناعة الذاتية بواسطة الخلايا اللمفاوية التائية على خلايا β ، مما يؤدي إلى نقص الأنسولين وبالتالي ارتفاع السكر في الدم. العلاج بالأنسولين هو علاج يتكون من تعويض الخلل في إنتاج الأنسولين عن طريق إعطاء الحقن يوميًا. تهدف الدراسات الحالية إلى إيجاد طرق جديدة لجعل المرضى مستقلين عن الأنسولين الخارجي. تعد زراعة البنكرياس وجزر لانجرهانز إحدى الاستراتيجيات المتاحة حاليًا ولكن لها بعض العيوب مثل التوافر المحدود للمترعين ، الأمر الذي فتح طرقًا علاجية جديدة: تمايز الخلايا الجذعية المستحثة و / أو الجنينية في المختبر إلى الخلايا المنتجة للأنسولين، تعداء أسلاف α بواسطة جين Pax4 وكذلك الإفراط في التعبير عن TIMP-1 في الخلايا الجذعية الوسيطة. لقد أثبت هذا العلاج فعاليته في استعادة الأداء الفسيولوجي للخلايا β .

الكلمات الدالة

داء السكري من النوع 1 ، الخلايا β ، الأنسولين ، الخلايا الجذعية ، العلاج الجيني.