

Année 2022

THESE N° :27/21

Centre d'Étude Doctorale des Sciences de la vie et de la Santé Formation
Doctorale : Biologie médicale, Pathologie Humaine et Expérimentale et
Environnementale
Option : Biotechnologie/Bioinformatique

THÈSE

En vue de l'obtention du
DOCTORAT

Intitulé de thèse

Etude de la prédisposition génétique au diabète de type 2 (gène TCF7L2) et de la pharmacogénétique de la Metformine (gène SLC47A1) au sein d'une population marocaine

Présentée et soutenue publiquement le 16/05/2022

Par

M^{lle} EL HOURCH Sarah

MEMBRES DE JURY

Professeur Azeddine IBRAHIMI

Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat

Président

Professeur Rachid EL JAUDI

Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat

Directeur de thèse

Professeur Nawal EL OMRI

Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat

Professeur Mouna OUADGHIRI

Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat

Professeur Naima EL HAFIDI

Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat

Juges

Professeur Khalil HAMMANI

Faculté pluridisciplinaire de TAZA Université Sidi Mohamed ben Abdellah

Professeur Mounia BENSALD

Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat

ليس معي من فضيلة العلم
إلا علمي بأنه لست أعلم

DEDICACE

*Louange à Dieu le tout puissant, qui m'a permis de voir ce
jour tant attendu. J'ai l'immense honneur de dédier ce
travail à tous ceux qui me sont chers :*

A la mémoire de ma grand-mère
Fadila EL MAMOUNY
Que Dieu ait ton âme en sa sainte miséricorde

A ma très chère maman NAFISSE Fatima

Aucune dédicace ne saurait exprimer la profondeur de ma reconnaissance, parce que je te dois ce que je suis. Tu m'as donné la vie, tu m'as éduqué, tu m'as comblé de ton amour et de ta tendresse. Il me faudra plus que les mots pour exprimer mon amour. Tes prières et tes sacrifices m'ont comblé tout au long de mon existence. Je savais si quelque chose m'arrivait, tu seras là et toujours à mes côtés, et c'est avec ta présence et ton soutien, que j'ai dû surmonter des longues années d'étude. Je t'aime, maman, plus que tout dans ce monde. Dans ce travail modeste que je te dédie, j'espère que tu trouveras le fruit de ton amour, de ta tendresse et de ta patience, et en ce jour, je souhaite réaliser l'un de tes rêves et que tu seras fière de moi.

A mon très cher PAPA EL HOURCH el Maati

A celui qui m'a tout donné sans compter, à celui qui m'a soutenue toute ma vie, à celui à qui je dois ce que je suis et ce que je serais. Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je te porte, ni la profonde gratitude que je te témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que tu n'as cessé de consentir pour mon instruction et mon bien être. Ce modeste travail qui est avant tout le tien, n'est que la consécration de tes grands efforts et tes immenses sacrifices. Puisse Dieu tout puissant te préserver du mal, te combler de santé, de bonheur et t'accorder une longue et heureuse vie, afin que je puisse te rendre un minimum de ce que je te dois. Je t'aime très fort, mon très cher papa, et j'espère que tu seras toujours fier de moi.

A mes très chères sœurs :

Maitre Aicha EL HOURCH

A notre complicité sans faille, à toutes ces belles années qu'on a vécues ensemble et qu'il nous reste à partager. Je vous souhaite le meilleur et je ferai tout pour vous soutenir et vous protéger.

A Leila EL HOURCH

Pour ta relecture, je vous souhaite à travers ce travail, plein de succès dans votre vie et tout le bonheur du monde, que dieu vous bénisse.

A mon frère Dr Mohamed EL HOURCH

Les mois de stage passés sous ta direction au sein de laboratoire CEA à Rennes ont été riches en belles rencontres, Une pensée à toute l'équipe de département Bactériologie,

A ma famille et toutes mes sœurs et frères qui, avec cette question récurrente, « Quand est-ce que tu la soutiens cette thèse ? », bien qu'angoissante en période fréquente de doutes, m'ont permis de ne jamais dévier de mon objectif final. Merci à ma sœur adorée Ratiba à Khadija, Zhor et Malika Hicham, Younes, Ahmed et Abdelaziz.

*A mes nièces : Nora, Sanaa, Fatimazahra, Imane, Hind, Asmaa, Safaa, Maroua et Malak
A mes neveux : Sami, Amine, Med Amine, Mehdi, Ismail, yasser, youssef, mohamed et Saad*

A ma famille Paternelle et Maternelle

Tout particulièrement, à mon Cher Oncle Cherkaoui, chère Tante Fatima, Said, Faiza, Nadia et khadija. Vos encouragements m'ont été d'un grand soutien. Vous vous êtes montrés de bons conseils. Vous avez toujours été à l'écoute. Veuillez trouver dans ce travail, l'expression de mon affection. Que dieu vous bénisse et vous garde en bonne santé.

A ma tante Maternelle Rokia et mes chers Oncles Abdelaziz et Mohamed Nafisse

A mes Amies

*Un grand MERCI à ma meilleure amie **Zineb FAWZI** qui, toute enceinte jusqu'aux oreilles qu'elle était, a consciencieusement relu et décortiqué quelque points dont le sujet lui était jusque-là quasiment inconnu. Merci d'avoir toujours été présente, et de m'avoir très souvent aidé à faire face à toutes les épreuves imposées par ce long parcours. Merci de me comprendre autant et de partager mes soucis, mes craintes, et mes ambitions. Je vous remercie pour tout ce que tu m'as apporté.*

*A **Hind Sbai** et son adorable maman **Rajaa Guessous** « pour son délicieux café » Vous avez toujours été présentes à mes côtés pour me soutenir et m'encourager quand il le fallait, et pour me consoler quand j'en avais besoin votre présence est source de confort et de protection, mais surtout de bonheur et de joie.*

*A ma chère **Ilham ELKHAYAT**, Merci pour ton aide au cours de ton stage au laboratoire Medbiotech dans l'optimisation de la technique de qPCR. Je te remercie pour tous les moments inoubliables que nous avons partagés, et pour tout le bonheur que tu m'as procuré*

*A mes adorable copines **Dounia ettaqi** et **Imane Natwi**
A **Soufiane Ouakrim Omar Arbouch** et **Youssef Ghzaoui***

REMERCIEMENTS

Professeur Rachid EL JAUDI

Vous m'avez fait l'honneur d'accepter de diriger ce travail. J'ai eu la chance et le privilège de travailler sous votre direction et encadrement, de profiter de votre culture scientifique, vos compétences professionnelles incontestables ainsi que vos qualités humaines qui vous valent l'admiration et le respect. Puissent des générations et des générations avoir la chance de profiter de votre savoir qui n'a d'égal que votre sagesse et votre bonté. Veuillez, cher professeur trouver dans ce modeste travail l'expression de ma haute considération

Professeur Azeddine IBRAHIMI

Je remercie Monsieur le Professeur Azeddine IBRAHIMI de m'avoir accepté au sein de son laboratoire, pour son encadrement, ses conseils et sa patience. Je vous remercie de m'avoir transmis de nombreuses notions de biotechnologie médicale lors du cycle du master et de doctorat, pour vos qualités scientifiques qui sont des modèles pour moi. Je vous remercie surtout pour la confiance que vous m'avez accordée pour la réalisation de ce projet très ambitieux au sein de votre laboratoire (Medbiotech).

Professeur Naoual EL OMRI

Je remercie Madame **Professeur EL OMRI Naoual**, sa présence, son encadrement et ses encouragements sont pour moi les piliers fondateurs de ce que je suis et de ce que je fais.

J'exprime toute ma reconnaissance à l'ensemble des membres du jury, **Monsieur Professeur Khalil HAMMANI**, Madame **Professeur Naima EL HAFIDI**, Je tiens à remercier également Madame **Professeur Mouna OUADGHIRI** qui m'ont fait l'honneur de bien vouloir étudier avec attention mon travail, qu'ils trouvent ici l'expression de mes sincères remerciements et ma profonde gratitude.

Lors de cette période de doctorat, plusieurs personnes ont été des supports incontournables dans la réalisation de mes activités de recherche, que cela soit dans le domaine scientifique et technique ou administratif. Un grand merci à **Dr Meryam LAAMARTI et Professeur KANDOUSI Ilham** pour leurs conseils enrichis, à Professeur **Amal BOUZIANE** et Professeur **MEKKAOUI Nour** pour l'analyse statistique des données.

Merci aux collègues doctorants qui m'ont apporté un aide technique et académique.

Mes vifs remerciement pour tous **les patients de diabète de type 2** qu'ont contribué pour la réalisation de ce travail, je vous souhaite une bonne santé.

SOMMAIRE

DEDICACE

REMERCIEMENTS

SOMMAIRE

PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

ANNEXES

RESUME

ABSTRACT

ملخص

INTRODUCTION.....	28
CHAPITRE 1 : DIABETE, GENERALITE ET PHYSIOLOGIE.....	31
I.GÉNÉRALITÉS SUR LE DIABETE : HISTORIQUE ET EPIDIOMOLOGIE	31
II.LES DIFFÉRENTS TYPES DU DIABÈTE	33
1. Diabète de type 1.....	33
2. Diabète de type 2 :.....	33
3. Diabète gestationnel :.....	34
4. Diabète mody (mody, maturity-onset diabetes in the young).....	35
III.DIABÈTE NON-INSULINODÉPENDANT (DE TYPE 2)	36
1. Anatomie et physiopathologie du pancréas.....	39
2. Sécrétion d'insuline : mécanismes physiologiques.....	40
3. L'insulinoresistance	41
4. Les voies de signalisation et la physiopathologie du diabète de type 2	43
4.1. La voie de signalisation WNT :.....	43
4.2. Le métabolisme du glucose	47
4.3. Régulation de la gluconéogénèse par l'insuline	50
4.4. Altérations de la sécrétion d'insuline	53
4.4.1. Anomalie de la pulsativité de la secretion d'insuline.....	53
4.4.2. Anomalie de la cinétique de l'insulinosecretion	53
4.4.3. Anomalie quantitatives et qualitatives de l'insulinosecretion.....	54

4.4.4. Composantes génétiques de l'insulinosecretion.....	54
4.4.5. Déterminants génétiques de l'insulinorésistance	55
5. Conséquences de l'insulinorésistance au niveau des tissus cibles	55
5.1. Le foie	55
5.2. Tissus adipeux	57
5.3. Le muscle squelettique	59
IV.LES COMPLICATIONS DU DIABÈTE DE TYPE 2	61
1. Les complications macrovasculaires :	61
2. Les complications micro-vasculaires :	62
2.1. Complications chroniques :	63
2.1.1. Néphropathie	63
2.1.2. Rétinopathie	63
2.1.3. Neuropathie	64
2.1.4. Maladies cardiovasculaires :	65
2.2. Les complications aiguës du diabète de type 2 :	65
2.2.1. L'acidocétose	65
2.2.2. Coma hyperosmolaire	66
2.2.3. Acidose lactique	66
CHAPITRE 2 : PRÉDISPOSITION GÉNÉTIQUE DU DIABÈTE DE TYPE DEUX... 67	67
I.POLYMORPHISME GÉNÉTIQUE	67
1. Les études d'association pangénomiques ou « Genome Wide Association Studies » ou GWAS	68
1.1. Qu'est-ce qu'une étude GWAS ?	68
1.2. Les gènes candidats à la prédisposition au DT2	69
1.3. Association du gène TCF7L2 et la prédisposition au diabète de type 2	72
1.4. Famille de SCL : définition, structure, localisation et récepteur.....	76
1.4.1.Surexpression et inhibition SLC47A1.....	77
1.4.2 Polymorphisme de gène SLC47A1 et Multidrug and Toxin Extrusion 1 (MATE-1).....	80
CHAPITRE 3: LA PRISE EN CHARGE DE DIABÈTE DE TYPE 2	81
I.TRAITEMENT NON MÉDICAMENTEUX.....	81
1. Objectifs	81
2. Les mesures hygiéno-diététique : Diétothérapie+Activité physique.....	81
2.1. l'impact des Mesures hygiéno-diétethique	81

2.2. La restriction calorique.....	82
2.3. Activité physique.....	82
2.3.1. Arguments physiopathologiques de l' AP.....	83
2.3.2. Arguments cliniques de l' AP	84
3. les antihyperglycémiantes	84
3.1. Les différents types de traitement du diabète de type 2.....	84
3.2.Recommandations officielles pour la stratégie thérapeutique hypoglycémiante du DT2.....	84
4. L'insulinothérapie	85
4.1. L'insuline	85
4.1.1 Production de l'insuline par biotechnologie.....	89
II. LES ANTIHYPERGLYCÉMIANTS ORAUX	91
III.LES FAMILLES DES ANTIDIABÉTIQUES AUGMENTANT LA SÉCRÉTION D'INSULINE	92
1. Les Sulfonylurées	92
1.1. Particularité pharmacologique des glimepirides :	100
2. Les glitinides	102
IV. LES FAMILLES D'ANTIDIABÉTIQUES AUGMENTANT LA SENSIBILITÉ À L'INSULINE.....	104
1. Biguanides : Metformine.....	104
2. Thiazolidiones ou glitazones.....	110
V.LES MÉDICAMENTS QUI RÉDUISENT L'ABSORPTION DES SUCRES.....	116
1. Inhibiteurs des alpha-glucosidases.	116
VII.LES MÉDICAMENTS QUI AGISSENT PAR LE BIAIS DES INCRÉTINES.....	119
1. Les inhibiteurs de la dipeptidylpeptidase-4 (ou gliptines)	119
2. les analogues de la glucagon-like peptide (GLP-1).	123
VIII.LES INHIBITEURS DE SGLT2	126
TRAVAUX PERSONNELS	129
PARTIE 1 : ÉTUDE DE L'ASSOCIATION DE DEUX POLYMORPHISMES DANS LE GÈNE TCF7L2 ET LE RISQUE DU DÉVELOPPEMENT DU DT2 DANS UNE POPULATION MAROCAINE.....	130
CHAPITRE 1 : PATIENTS ET MÉTHODES	130
I.TYPE ET OBJECTIFS DE L'ÉTUDE.....	130
II.PÉRIODE ET LIEUX DE L'ÉTUDE	131

1. Population étudiée	131
1.1 Critères d'inclusion	131
1.2 Critères d'exclusion.....	131
2. Prélèvements et analyses	131
2. 1. Prélèvements	131
3. Methodes :.....	132
3.1. Extraction de l'ADN à partir du sang total	132
3.1. Dosage et pureté de l'ADN	133
3.2. Génotypage des deux polymorphismes.....	134
III.ANALYSES STATISTIQUES ET TRAITEMENT DES DONNÉES.....	138
CHAPITRE 2 : RÉSULTATS.....	139
I.ANALYSE DESCRIPTIVE DE LA POPULATION ÉTUDIÉE	139
1. L'effectif.....	139
2. Le sexe.....	139
3. L'âge.....	139
4. Indice de masse corporel (IMC) et paramètres métaboliques	140
II.RESULTATS DE GENOTYPAGE :.....	141
1. Dosage et qualité de l'ADN	141
2. Résultats de la réaction PCR et discrimination allélique	141
2.1. SNP rs12255372 (G>T)	141
2.2.SNP rs7903146 (C>T).....	143
III. ÉTUDES DE L'ASSOCIATION ET PRÉSENTATION DES FRÉQUENCES ALLÉLIQUES ET GÉNOTYPIQUES	146
1.Études de l'association et présentation des fréquences alléliques et génotypiques du SNP rs7903146.....	146
2.Études de l'association et présentation des fréquences alléliques et génotypiques du SNP rs11253072.....	146
3.Études de corrélation des données anthropométriques et métaboliques et les polymorphismes du gène TCF7L2 (rs7903146 et rs12253072).....	147
IV- DISCUSSION :	148
PARTIE 2 : POLYMORPHISME DU GÈNE SLC47A1 (RS8065082) ET L'ÉQUILIBRE DIABÉTIQUE ÉVALUÉ PAR HBA1C CHEZ UN GROUPE PATIENTS MAROCAINS SOUS METFORMINE EN MONOTHÉRAPIE.....	151
CHAPITRE 1 : PATIENT ET MÉTHODES	151

I. TYPE ET OBJECTIFS DE L'ÉTUDE	151
II. PÉRIODE ET LIEUX DE L'ÉTUDE	152
1. Population étudiée :	152
1.1. Critères d'inclusion	152
1.2. Critères d'exclusion.....	152
2. Prélèvements et analyses	153
2.1. Prélèvements	153
III. METHODES	153
1. Extractions de l'ADN des patients	153
2. Dosage et pureté de l'ADN	154
3. Génotypage de SLC47A1 rs8206580.....	155
4. Analyses statistiques	155
CHAPITRE 2 : RÉSULTATS	156
I. CARACTÉRISTIQUES DESCRIPTIFS DE LA POPULATION	156
II. RÉSULTATS DE LA DISCRIMINATION ALLYLIQUE DU RS8065082 C>T	157
1. SNP 8206580 (C>T).....	157
III. DISTRIBUTION GÉNOTYPIQUE	158
IV. LES FACTEURS INFLUENÇANT LA RÉPONSE À LA METFORMINE EN FONCTION DES GÉNOTYPES DU POLYMORPHISME RS8065082.	159
V. DISCUSSION	160
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	164
BIBLIOGRAPHIE	167
ANNEXES	202
ARTICLES PUBLIES	207

PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES

Significant Association of Polymorphisms in the TCF7L2 Gene with a Higher Risk of Type 2 Diabetes in a Moroccan Population

Elhourch, S., Arrouchi, H., Mekkaoui, N., Allou, Y., Ghrifi, F., Allam, L., ... & Eljaoudi, R. (2021). Significant association of polymorphisms in the TCF7L2 gene with a higher risk of type 2 diabetes in a Moroccan population. *Journal of Personalized Medicine*, 11(6), 461.
(IF : 4.945/Q1)

Metabolic and genetic studies of glimepiride and metformin and their association with type 2 diabetes

Sarah El Hourch, El Omri Naoual, Ibrahimi Azeddine, El Jaoudi Rachid (2020). Metabolic and genetic studies of glimepiride and metformin and their association with type 2 diabetes. *Gene Reports*, 21, 100787
(IF : 0.78/Q4)

The influence of SLC47A1 on the balance of Hba1c in Moroccan patients under metformin therapy (en cours de soumission)

Sarah Elhourch, Mouna Ouadghiri, Amal Bouziane, Meryem Laamarti, Naoual ElOmri, Ibrahimi Azeddine, El Jaoudi Rachid

Pharmacogenetics and new diabetes therapy suggested by precision medicine (en cours de soumission)

Sarah El Hourch, Ibrahimi Azeddine, El Omri Naoual, El Jaoudi Rachid

LISTE DES FIGURES

Figure 1: répartition mondiale du diabète selon la Fédération Internationale du Diabète	32
Figure 2: Voies de signalisation impliquées dans la sécrétion de l'insuline dans les cellules β dans des conditions physiologiques (A) et mécanismes conduisant à un dysfonctionnement (B).....	37
Figure 3: Le tissu pancréatique	40
Figure 4: production et action de l'insuline.	41
Figure 5: Modélisation du récepteur de l'insuline	42
Figure 6: Structure de la β -caténine et sites de liaison à des protéines partenaires.....	44
Figure 7: activation et inhibition de la voie de signalisation wnt.....	46
Figure 8: Néoglucogenèse : relation avec la glycolyse et points d'entrée des substrats non glucidiques	49
Figure 9: inhibition de la gluconéogenèse par l'insuline au niveau du foie.....	52
Figure 10: le mécanisme dans le foie	56
Figure 11: Le mécanisme dans le tissu adipeux.....	59
Figure 12: Mécanisme dans le muscle squelettique	61
Figure 13: les 4 formes des polymorphismes.....	68
Figure 14: Structure de la protéine TCF.....	73
Figure 15: Mécanismes par lesquels l'extinction de TCF7L2 réduit la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose.	74
Figure 16: structure du gène TCF7L2 et localisation des polymorphismes.....	76
Figure 17: Schéma à l'échelle de l'organisation du gène et de la structure protéique primaire de la protéine humaine SLC47A1 (MATE1).....	78
Figure 18: Représentation schématique d'une molécule d'insuline.....	87
Figure 19: Le récepteur des sulfonyles dans la cellule β du pancréas.....	96
Figure 20: Propriétés insulinomimétiques du Glimépiride.	101
Figure 21: structure chimique de Glimépiride	102
Figure 22: structure de la metformine. La metformine est un biguanide dérivé de la galéine, extraite du lilas français.....	105
Figure 23: mécanisme d'action de la metformine.....	107
Figure 24: Structure chimique de la metformine	107
Figure 25: Formule chimique de Thiazolidione.....	111
Figure 26: structures chimiques des inhibiteurs des α -glucosidase	117

Figure 27: Formules du N- [8 (2-hydroxylbenzoyl) amino] caprylate de sodium (SNAC) et des sémaglutide.	123
Figure 28: Les principales étapes d'extraction d'ADN.....	133
Figure 29: le NanoVue™ Spectrophotometer.....	134
Figure 30 : Hydrolyse de sondes (Hydrolysis probes : Taqman assay).	135
Figure 31: Protocole d'amplification utilisé.....	137
Figure 32: Figure : StepOne plus	137
Figure 33: Répartition de la population étudiée selon le sexe.....	139
Figure 34: La répartition de la population étudiée selon les tranches d'âge	140
Figure 35: Les courbes de la fluorescence de la réaction PCR des patients diabétiques du rs12255372.....	142
Figure 36: Discrimination allélique des résultats du SNP rs12255372 des patients diabétiques	142
Figure 37: Les courbes de la fluorescence de la réaction PCR des sujets contrôles du rs12255372.....	143
Figure 38: Discrimination allélique des résultats du SNP rs12255372 des sujets contrôles..	143
Figure 39: Les courbes de la fluorescence de la réaction PCR des patients diabétiques du rs7903146.....	144
Figure 40: Discrimination allélique des résultats du SNP rs7903146 des patients diabétiques :	144
Figure 41: Les courbes de la fluorescence de la réaction PCR des sujets contrôles du rs7903146.....	145
Figure 42: Discrimination allélique des résultats du SNP rs7903146 des sujets contrôles : .	145
Figure 43: Les courbes de la fluorescence de la réaction PCR des patients diabétiques du rs8065082 (C>T).....	157
Figure 44: Discrimination allélique des résultats du SNP rs8065082 des patients diabétiques :	158

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Liste des antagonistes et agonistes de Wnt sécrétés et transmembranaires	47
Tableau II: les effets extrahépatiques de l'insuline qui régulent la gluconéogenèse hépatique	51
Tableau III: les différents gènes étudiés par l'étude GWAS prédisposant au développement de DT2.....	70
Tableau IV: Classification et produit commercialisés de sulfonolyruées	94
Tableau V: les étapes de la pharmacocinétique des inhibiteurs des α -glucosidases	118
Tableau VI : Informations des deux essais TaqMan.....	134
Tableau VII: Caractéristiques sociodémographiques et cliniques des patients diabétiques et des sujets contrôle.	141
Tableau VIII: Fréquences et analyse univariée des génotypes et allèles SNP chez les patients diabétiques de type 2 et les sujets témoins.....	147
Tableau IX: Comparaison entre les génotypes TCF7L2 rs17903146 chez les patients diabétiques selon les données anthropométriques et de laboratoire.....	147
Tableau X: Comparaison entre les génotypes TCF7L2 rs12255372 chez les patients diabétiques selon les données anthropométriques et de laboratoire.....	148
Tableau XI : Concentration moyenne et rapport de dosage de l'extrait d'ADN.....	156
Tableau XII : Caractéristiques sociodémographiques et cliniques de la population étudiée.....	129
Tableau XIII: Distribution des trois génotypes en fonctions de l'équilibre de HbA1c chez les patients traits par la metformine.....	131
Tableau XIV: Répartition des paramètres sociodémographiques, cliniques et biologiques selon les 3 trois génotypes.....	132

LISTE DES ABREVIATIONS

ABCC8 : ATP binding cassette subfamily C member 8

ADA : Association Americaine de diabetologie

ADN : acide désoxyribo-nucléique

ADO : antidiabétiques oral (oraux)

ADP : Adénine Di-phosphate

AG : appareil de golgi

AMPK : Adenosine monophosphate

ANAM : Agence nationale de l'assurance maladie

ANT : Adénine nucléotide translocase-2

AP : Activité physique

AP1 : proteines d'activation

APC : adenomatous polyposis

APC : Axin/ conductine

ATP : Adennine tri-phosphate

AVC : Accident vasculaire cérébrale

CAPN-10 : calpain-10

CK-1 : caseine Kinase

CLr : clairance rénale

CYP : Cytochrome P

DG : diabète gestationel

DPP : Diabetes prevention program

Dpp4 : dipeptidyl peptidase-4

DT2 : Diabète de type 2

DVL : Dickkopf

EDTA : Acide éthylène diamine tétra-acétique dissodique

EMA : l'agence européenne des médicaments

FID : fédération internationale de diabete

FOXO1 : Forkhead Box O1

FRZ : Frizzled

G6P : Glucose-6-phosphate

GCK : Glucokinase

GLP1 : Glucagon like peptid-1

GLUT : Transporteur de glucose
Glycérol-3-P : glycérol 3 phosphate
GSK-3 : glucogène kinase synthase-3
GWAS : Genome wide association study
Hba1c : Hémoglobine glyquée
HDL : high density lipoprotein
HGP : production hépatique de glucose
HIF- α : Hypoxie facteur 1- α
HMG : boite de haute mobilité
HMIMV : Hôpital militaire d'instruction Mohamed v
HNF : Hepatocyte Nuclear factor
IAAP : Proinsuline et polypeptides amyloides des ilots
IL-1 : interleukine
IMC : indice de masse corporelle
INSR : recepteur de l'insuline
IP3 : inositol-triphosphate
IRS : insulin receptor substrat
KCNJ11 : potassium In wardly rectifying channel subfamily J Member 11
LDL : cholestérol de base densité
MATE : multidrug and toxin extrusion
MCV : maladie cardiovasculaire
MODY : Maturity onset diabetes in the young
MZF1 : doigt de zinc myéloide-1
OAT : transporteurs des anions organiques
OATP1B1 : organique anion transporting polypeptide 1B1
OCT : transporteur de cations organiques
OMS : organisation mondiale de santé
P2Y : Purino-récepteur 2
PEPCK : phosphoénol pyruvate carboxy kinase
PFK-1 : phosphofructo-kinase 1
Ph : plextrim homology
PMAT : Transport monoamine de la membrane plasmique
PPAP : peroxisome proliferator
PPARG : peroxisome proliferator activated receptor gamma

PTB : phosphotyrosine Binding
RE : reticulum endoplasmique
SGLT2 : sodium-glucose cotransporteur 2
Sh2 : Src homology 2
Shc : sachomology 2 countaining protein
SLC : transporteur de solité
SMSM : société marocaine des sciences médicales
SNP : single nucleotide polymorphisme
SOST : sclérostine
SP 1: proteines specifique 1
SU : sulfonylurées
SUR 1 : sulfonolyre reptor-1
TCF7L2 : transcription factor 7-like2
TGA : triacylglycérol
TMH : helices α -helicoidales
TNF- α : tumor Necrosis factor- α
TZD : thiozolidindiones
Wnt/Pcp : wnt planor cell polarity

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Comité d'éthique pour la recherche biomédicale :

Annexe 2 : Consentement éclairé en Arabe

Annexe 3 : Consentement éclairé destiné au prélèvement de sang au profit de la recherche en biologie moléculaire

Annexe 4 : exemple d'une fiche d'exploitation du patients diabétique de type 2

RESUME

Titre : Etude de la prédisposition génétique au diabète de type 2 (gène TCF7L2) et de la pharmacogénétique de la Metformine (gène SLC47A1) au sein d'une population marocaine

Auteur : EL HOURCH Sarah

Mots clés : prédisposition génétique, TCF7L2 (rs7903146 et rs12255372), SLC47A1 (rs8065082), pharmacogénétique, antidiabétique oral, metformine

Le diabète est l'une des maladies dont la croissance est la plus rapide au monde, il touchera 693 million d'adultes d'ici 2045. Les complications macrovasculaires et microvasculaires peuvent entraîner une augmentation de la mortalité et une diminution globale de la qualité de vie chez les personnes souffrant notamment du diabète de type 2. Les facteurs environnementaux et cliniques ne peuvent pas prédire le risque de développement de diabète de type 2. Le dysfonctionnement de métabolisme glucidique, et les défauts dans les réponses sécrétoires d'insuline de la cellule beta pancréatique, cependant le ou les défauts primaires responsables du développement du syndrome restent insaisissables et ne seront probablement pas définis tant que l'on ne connaîtra pas mieux les gènes responsables du diabète de type 2.

Au Maroc peu de données sont rapportées à ce sujet, l'objectif de travail a été dans un premier temps basé sur l'étude de la prédisposition génétique du gène TCF7L2 et le risque d'atteindre le diabète de type 2 dans la population marocaine. Ensuite nous avons évalué la réponse de la métformine par l'influence du polymorphisme génétique du gène SLC47A1.

Au total, 250 sujets (dont 150 patients DT2 et 100 sujets témoins) ont été recrutés dans ce travail, L'étude a été approuvée par le comité d'éthique de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, tous les patients ont donné leur consentement écrit. Une fiche d'information est complétée pour chaque patient avec des données anthropométriques, cliniques, biologiques et thérapeutiques.

Les trois SNP étudiés ont été génotypés par une PCR en temps réel basée sur les sondes d'hydrolyse (TaqMan). Une association statistiquement significative a été démontrée entre les patients diabétique de type 2 du gène TCF7L2 (rs7903146 et rs 12255372) et les contrôles. Les fréquences génotypique des (rs7903146 et rs12255372) étaient 33% pour CC contre 36% ; 42.7% contre 59% pour CT et 24% contre 5% pour les TT ($p < 0.0001$). et 28% contre 30% pour GG; 53.6% contre 65% pour les GT et 18.7% contre 6% pour TT ($p = 0.004$) chez les patients et les contrôles. D'autre part, aucun impact de gène SLC47A1 (rs8206580) sur l'équilibre de HbA1c n'as été trouvé chez les patients marocains sous metformine en monothérapie. Ce constat ajoute des preuves que ces SNP peuvent être explorés comme un outil pour améliorer la prédiction médicamenteuse dans la population marocaine.

ABSTRACT

Title: Study of genetic predisposition to type 2 diabetes (TCF7L2 gene) and pharmacogenetics of Metformin (SLC47A1 gene) in a Moroccan population

Author: EL HOURCH Sarah

Keywords: genetic predisposition, TCF7L2 (rs7903146 and rs12255372), SLC47A1 (rs8065082), pharmacogenetics, oral antidiabetic, metformin

Diabetes is one of the world's fastest-growing diseases, with 693 million adults expected to be affected by 2045. In people with type 2 diabetes, macrovascular and microvascular complications can lead to increased mortality and a decrease in the overall quality of life. The risk of developing type 2 diabetes cannot be predicted by environmental or clinical factors.

The primary defects responsible for the development of the syndrome are carbohydrate metabolism dysfunction and defects in pancreatic beta-cell insulin secretory responses, which are unlikely to be defined until the genes responsible for type 2 diabetes are better understood. In Morocco, few data are reported on this subject, The initial goal of the project was to investigate the genetic predisposition of the TCF7L2 gene and the likelihood of developing type 2 diabetes in Moroccans. Then we evaluated the metformin response by the influence of the genetic polymorphism of the SLC47A1 gene.

In this study, a total of 250 people were recruited (150 T2D patients and 100 healthy controls). The three SNPs studied were genotyped by real-time PCR based on hydrolysis probes (TaqMan). A statistically significant association was demonstrated between patients with type 2 diabetes of the TCF7L2 gene rs7903146 and rs 12255372 and controls. The genotypic frequencies of rs7903146 and rs1225537 were 33% and 36% for CC; 42.7% and 59% for CT and 24% versus 5% for TT ($p < 0.0001$) for diabetic and controls, And 28% versus 30% for GG; 53.6% versus 65% for GT and 18.7% versus 6% for TT ($p < 0.0004$) for diabetic and controls respectively.

on the other hand, no impact of SLC47A1 gene (rs8206580) on Hba1c balance was found in Moroccan patients on metformin monotherapy. This finding adds evidence that these SNPs can be explored as a tool to improve drug prediction in the Moroccan population.

ملخص

العنوان: دراسات من الاستعداد الوراثي الى علم الوراثة الدوائية للميتفورمين في المرضى المغاربة المصابين بداء السكري

من النوع 2 (الجينات: TCF7L2 و SLC47A1)
الكاتبة: الهرش سارة

الكلمات الأساسية: الاستعداد الوراثي (rs12255372، rs7903146 TCF7L2 (rs8065082) SLC47A1) ، علم الوراثة الدوائية ، مضادات السكر عن طريق الفم ، الميتفورمين السريرية والبيولوجية والعلاجية.

يعد مرض السكري أحد أسرع الأمراض نموًا في العالم ، حيث سيؤثر على 693 مليون بالغ بحلول عام 2045. ويمكن أن تؤدي مضاعفات الأوعية الدموية الكبيرة والأوعية الدموية الدقيقة إلى زيادة معدل الوفيات وانخفاض عام في نوعية الحياة لدى الأشخاص المصابين بداء السكري من النوع 2 على وجه الخصوص. البيئة والأوعية الدموية على وجه الخصوص لا يمكن للعوامل السريرية أن تتنبأ بخطر الإصابة بمرض السكري من النوع 2. ولا يزال الخلل الوظيفي في استقلاب الكربوهيدرات والعيوب في استجابات إفراز الأنسولين في البنكرياس و / أو العيوب الأولية المسؤولة عن تطور المتلازمة بعيدة المنال ومن المحتمل ألا يتم تحديدها حتى الجينات المسؤولة عن مرض السكري من النوع 2 ليست معروفة بشكل أفضل. في المغرب، تم الإبلاغ عن القليل من البيانات حول هذا الموضوع. كان هدف العمل في البداية يعتمد على دراسة الاستعداد الوراثي للجين TCF7L2 وخطر الوصول إلى مرض السكري من النوع 2 لدى سكان المغرب. ثم قمنا بتقييم استجابة الميتفورمين من خلال تأثير تعدد الأشكال الجيني للجين SLC47A1.

تم تجنيد ما مجموعه 250 شخصًا (بما في ذلك 150 مريضًا من T2D و 100 شخص ضابط) في هذا العمل، وتمت الموافقة على الدراسة من قبل لجنة الأخلاقيات بكلية الطب والصيدلة بالرباط ، وقد أعطى جميع المرضى موافقتهم الخطية. يتم استكمال ورقة معلومات لكل مريض مع بيانات قياس الجسم البشري وتم التنميط الجيني للنيوكليوتيدات المتعددة الأشكال الثلاثة التي تمت دراستها بواسطة تفاعل البوليميراز المتسلسل في الوقت الفعلي بناءً على تحقيقات التحلل المائي (TaqMan). تم إثبات وجود علاقة ذات دلالة إحصائية بين مرضى السكري من النوع 2 من الجين TCF7L2 (rs7903146) و (rs 12255372) والضوابط. كانت الترددات الوراثة لـ (rs7903146) و (rs12255372) مقابل 33% مقابل 36% لـ CC ؛ 42.7% مقابل 59% CT و 24% مقابل 5% (TT) (p < 0.0001). و 28% مقابل 30% لـ GG ؛ 53.6% مقابل 65% لـ GT و 18.7% مقابل 6% (TT) (p = 0.004) لمرض السكر من النوع 2 وموضوعات التحكم على التوالي. من ناحية أخرى ، لم يتم العثور على أي تأثير لجين (SLC47A1 rs8206580) على توازن Hba1c في المرضى المغاربة على العلاج بالميتفورمين الأحادي. يضيف هذا الاكتشاف دليلاً على أنه يمكن استكشاف هذه النيوكليوتيد كأداة لتحسين التنبؤ بالمخدرات لدى سكان المغرب.

REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION

Le diabète est une maladie métabolique caractérisée par l'augmentation du taux de la glycémie dans le sang. Il s'agit d'un trouble de l'assimilation, de l'utilisation et du stockage du sucre apporté par l'alimentation [1]. Le diabète est un véritable problème de santé publique à l'échelle mondiale avec des chiffres de plus en plus alarmants. Le diabète est effectivement en nette progression. En 2010, les spécialistes de l'épidémiologie avaient prédit qu'il y aurait 300 millions de diabétiques dans le monde en 2020. Or, aujourd'hui, nous sommes déjà à 537 millions de personnes atteintes, soit 79% de plus que ce qui était prévu. D'après les prévisions, il y aurait 643 millions en 2030 et 784 millions en 2045. De même, 541 millions d'adultes intolérants au glucose ont été enregistrés dans le monde. Ceci les expose à un risque élevé de diabète de type 2, également appelé « diabète non insulino-dépendant ». Le monde a enregistré en 2021 près de 6,7 millions de décès par diabète, et 966 milliards de dollars (844 milliards d'euros) ont été consacrés aux dépenses pour le traitement du diabète dans le monde, avec une hausse de 316% au cours des 15 dernières années. Notre pays n'échappe pas à l'explosion des cas de diabète que connaît le monde, et cela est encore plus vrai pour le diabète de type 2. En 2017, le nombre de diabétiques était de 2,7 millions, dont 49% méconnaissaient leur maladie, et 2,2 millions de personnes étaient prédiabétiques. A ce chiffre s'ajoutent 20.000 enfants atteints de diabète. Dans le Royaume, chaque année 35.000 à 45.000 nouveaux cas de diabète sont enregistrés et près de 24.000 personnes meurent du diabète.. Selon l'Organisation mondiale, le Maroc a atteint une prévalence de 12,4 %, avec 3 millions de personnes atteintes de diabète de type 2 en (2021) [2].

Le diabète sucré regroupe divers troubles métaboliques dont la caractéristique principale est une hyperglycémie. Dès 1997, l'Association Américaine de Diabétologie (ADA) a publié ses recommandations relatives à un nouveau schéma de classification pour le diabète. Cette classification qui est adoptée jusqu'à présent par l'OMS, Elle a abandonné les notions d'insulino-dépendant « insulin dependent diabetes mellitus » de non insulino-dépendant « non-insulin-dependent diabetes mellitus », le diabète gestationnel et le diabète MODY [3].

Le diabète de type 2 (DT2), l'un des troubles métaboliques les plus courants, est causé par la combinaison de deux facteurs principaux : une sécrétion défectueuse de l'insuline par les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas et l'incapacité des tissus sensibles à l'insuline à répondre de manière appropriée à cette hormone. Parce que la libération et l'activité de l'insuline sont des processus essentiels pour l'homéostasie du glucose, ainsi que dans sa détection, ils sont étroitement régulés. Des défauts dans l'un des mécanismes impliqués dans

ces processus peuvent entraîner un déséquilibre métabolique responsable du développement de DT2.

Le DT2 est une pathologie multifactorielle qui combine l'hygiène de vie, conditions environnementales et prédisposition génétique. En effet, les études d'association à l'échelle du génome ont impliqué environ 250 régions génomiques dans la prédisposition au DT2, et des preuves de l'existence de variant et de gènes causaux sont apparues pour plusieurs de ces régions. La compréhension des mécanismes sous-jacents, notamment l'interaction entre la défaillance des cellules β , la sensibilité à l'insuline, la régulation de l'appétit et le stockage adipeux a été facilitée par l'intégration de données multidimensionnelles pour les phénotypes intermédiaires liés au diabète. Des études menées dans divers groupes ethniques ont essayé de définir des profils de prédisposition génétiques au DT2 mais ces profils changent en fonction des populations et aucun n'est validé jusqu'à nos jours.

Par ailleurs, la majorité des moyens thérapeutiques de DT2 qui existent actuellement ne corrigent que l'une des anomalies en cause, c'est-à-dire le déficit insulino-sécrétoire ou le trouble de sensibilité à l'insuline. Les antidiabétiques oraux (ADO) se placent au troisième volet du traitement du DT2, après la diététique et l'activité physique. En effet ils sont utilisés lorsqu'il y a eu un échec des mesures hygiéno-diététique avec un déséquilibre glycémique [3]. Ces médicaments possèdent cependant un index thérapeutique étroit et une importante variabilité interindividuelle justifiant le suivi thérapeutique pharmacologique par le suivi du taux glycémique [4].

Ces variabilités peuvent se traduire par une efficacité (bonne réponse au traitement), inefficacité (non-réponse au traitement) ou toxicité (effet indésirable) [5].

La variabilité de réponse aux médicaments antidiabétique observée dans la population est multifactorielle. Entre autres, des facteurs non-pharmacologiques tels l'environnement, la génétique et la présence d'une pathologie peuvent influencer la pharmacocinétique et/ou la pharmacodynamique d'un médicament antidiabétique. Plusieurs classes d'ADO sont actuellement disponibles pour traiter les patients atteints de DT2, les sulfonylurées (SU), les biguanides les thiazolidinediones (TZD) et les glinides sont les plus couramment utilisés. Plusieurs chercheurs se sont intéressés aux évaluations pharmacogénétiques de ces familles dans le but d'atteindre les meilleurs résultats thérapeutiques. En effet, il a été démontré que certains variants génétiques pouvaient impacter l'efficacité du traitement voire la susceptibilité aux effets indésirables et, ainsi entraîner une variabilité de la réponse pharmacologique interindividuelle. Cependant, les résultats restent divergents selon les populations et aucun algorithme n'est validé jusqu'à aujourd'hui.

A la lumière de cette petite introduction, nous nous sommes intéressés à deux aspects concernant le DT2 : La prédisposition génétique et la pharmacogénétique d'une famille thérapeutique.

Ainsi, les objectifs de nos travaux ont été :

- Étudier la prédisposition génétique au DT2 en étudiant deux polymorphismes de gène TCF7L2 rs7903146 et rs12255372 chez les patients diabétiques de type 2 comparés à des sujets contrôles.
- Évaluer l'influence du gène SLC47A1 (rs8065082) sur l'équilibre diabétique apprécié par la mesure de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) chez les patients marocains sous la metformine en monothérapie. Le choix de la metformine est dicté par le fait qu'elle soit la molécule des ADO la plus prescrite en monothérapie ou associée à d'autres molécules.

Nous commençons ce manuscrit par une revue bibliographique nécessaire à la compréhension du travail personnel qui sera traitées par la suite.

CHAPITRE 1 : DIABETE, GENERALITE ET PHYSIOLOGIE

I.GENERALITES SUR LE DIABETE : HISTORIQUE ET EPIDIOLOGIE

Le diabète est une pathologie très anciennement connue. Il a été diagnostiqué par la présence du sucre dans les urines par les médecins chinois, indiens et égyptiens 4000 à 1500 ans avant Jésus-Christ [6-7]. Quelques découvertes sont mentionnées au XVI^{ème} et au XIV^{ème} siècle, mais les avancées déterminantes, particulièrement dans le traitement ne datent qu'à partir du XX^{ème} siècle [6].

Le chercheur Nicolae Paulesco a confirmé en Aout 1921 la découverte miraculeuse d'une hormone pancréatique hypoglycémiante. Quelques mois après en décembre 1921, Frederick Grant Banting et Charles Herbert Best ont publié aussi la découverte d'une hormone hypoglycémiante qu'ils appelèrent insuline [8-9]. Suite à la description de la structure biochimique de l'insuline en 1955, les laboratoires Eli et Lilly ont réussi en 1978 le clonage du gène humain de l'insuline, il a été une étape primordiale pour produire cette hormone par génie génétique. Deux ans plus tard, l'insuline de porc est humanisée en modifiant le seul acide aminé qui la distingue de l'insuline humaine [6-8].

A la moitié du XX^{ème} siècle, les antidiabétiques oraux sont apparus. L'arrivée de ces médicaments hypoglycémiants sous forme de comprimés a allégé la souffrance des patients diabétiques qui n'ont pas été traités par insuline. En effet, l'effet hypoglycémiant de certains sulfamides antibactériens a observé et certaines molécules ont été repositionnées comme antidiabétiques [10]. Une autre famille est rentrée également dans la scène ; les biguanides. Il existe actuellement 7 familles thérapeutiques et plus de 20 molécules commercialisées. Les biguanides et les sulfamides ont été les premiers médicaments sur le marché (avant 1960). A coté de ces deux anciennes familles, cinq d'autres ce sont ajoutées à savoir : Les glinides, les inhibiteurs de alpha glucosidase, les incretinomimétiques agonistes du récepteur GLP1 (glucagon-like peptide-1), les incretinomimétiques inhibiteurs de la DPP4 (dipeptidyl peptidase-4) aussi appelés gliptines et les inhibiteurs de la SGLT2 (Sodium-glucose cotransporter 2). Ces différentes familles donnent actuellement plus de choix et de confort thérapeutique [10].

Le diabète est considéré comme un trouble métabolique caractérisé par un taux de glycémie élevé. Les personnes atteintes du diabète ont un risque élevé de développer des problèmes graves de santé ainsi qu'une augmentation de coûts de soins médicaux ; une réduction de qualité de vie et une augmentation de la mortalité [11]. Les complications du diabète qui sont

dues à un taux de glucose sanguin élevé de manière continue se manifestent par des lésions vasculaires généralisées affectant le cœur, les yeux, les reins et les nerfs [12].

Au cours des dernières décennies, la prévalence mondiale de diabète et la diminution de la tolérance de glucose chez les adultes a beaucoup augmenté [13-14]. En 1980 l’OMS, avait estimé le nombre de diabétiques à 108 millions ; ce nombre a quadruplé en 2015 [15]. En 2000 la fédération internationale de diabète (FID) a évalué la prévalence mondiale à 150 million diabétiques [16], 194 millions en 2003 [17], 246 millions en 2006 [18], 285 million en 2009 [19], 366 million en 2011 [20], 382 million en 2013 [21] et 415 millions en 2015 [22].

En 2017, on a estimé le nombre des diabétiques âgés de moins de 20 à 79 ans à 424,9 ; ce nombre a augmenté à 451 millions pour les personnes âgées de 20 ans et 99. Pour cette dernière tranche d’âge, le nombre de diabétiques pourrait atteindre 693 millions d’ici 2045 [23]. La répartition du diabète est cosmopolite et aucun pays ni aucune région au monde n’est épargnée par cette maladie. Cependant la vitesse de son évolution peut varier selon les régions (Figure 1).

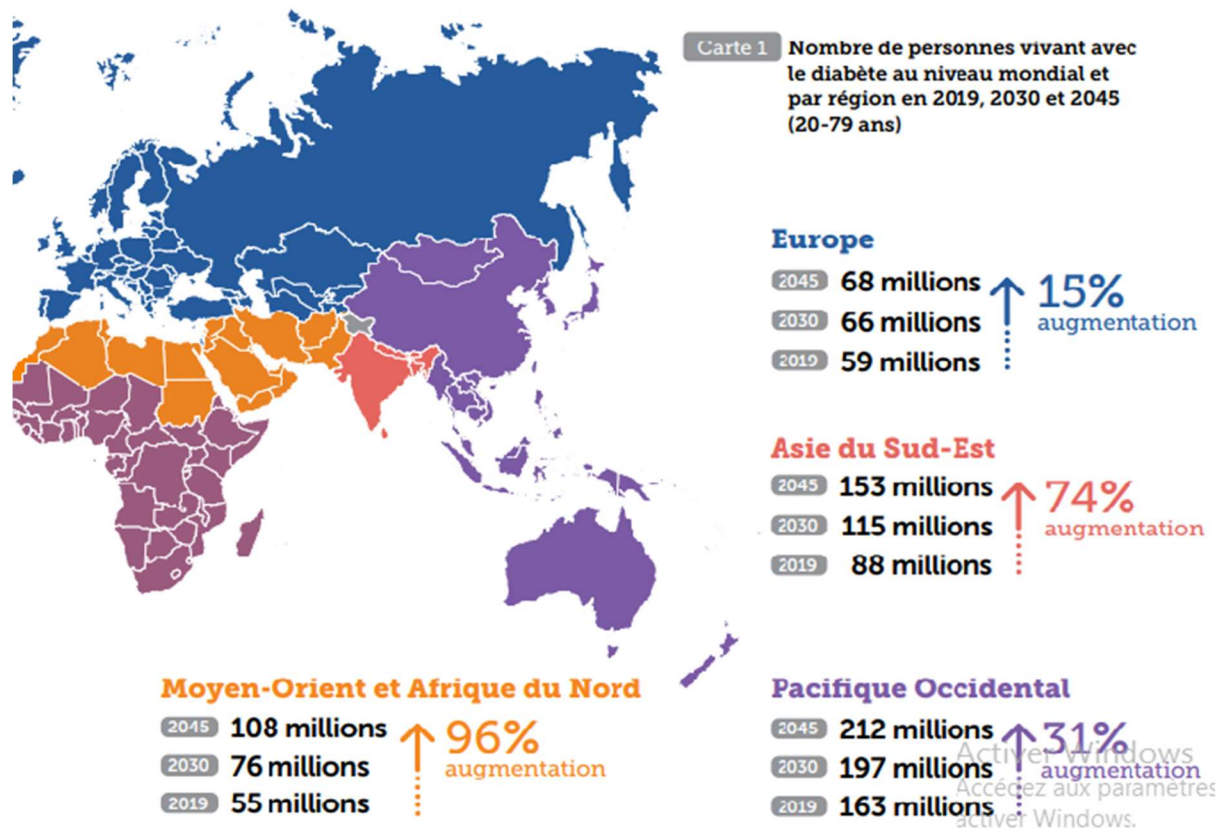


Figure 1: répartition mondiale du diabète selon la Fédération Internationale du Diabète [23]

II. LES DIFFERENTS TYPES DU DIABETE

En 1997, un groupe d'experts sous la responsabilité de (ADA) en remplacement de celle élaborée en 1979 par le « national diabete data groupe » et entérinée en 1980 par l'OMS a publié la classification nosologique du diabète. La classification du diabète se base sur différents critères tel que l'âge du patient, l'indice de masse corporelle (IMC) ; la sécrétion résiduelle d'insuline, l'acidocétose lors de décompensation, l'anamnèse familiale et le dosage des auto-anticorps pancréatiques. Toutefois certains patients peuvent présenter d'autres arguments ; que ceux cités au-dessus, il s'agit de diabètes intermédiaires [24-25].

1. Diabète de type 1

Le diabète de type 1 reste de loin la forme de diabète la plus fréquente chez l'enfant. Il correspond à plus de 90% des diabètes de l'enfant et de l'adolescent toutes causes confondues [26]. Il est la conséquence d'une destruction sélective de la cellule bêta des îlots de langerhans, médiée par le système immunitaire conduisant à une carence profonde en insuline [27-28]. Dans la majorité des cas, des marqueurs d'auto-immunité sont présents au moment du diagnostic, définissant le diabète type 1 auto-immun (diabète type 1A) [29]. Chez 5% à 10% des patients qui présentent un diabète insulino-dépendant, ces marqueurs sont absents et la physiopathologie de ce diabète est dite idiopathique (diabète type 1B). Il s'agit, souvent, de patients originaires d'Afrique subsaharienne (qui présentent des épisodes répétitifs de cétose, entrecoupés de phases de rémission) ou originaire du Japon [29] [30].

2. Diabète de type 2 :

Le DT2 est une maladie complexe qui se caractérise par deux points essentiels. Le premier est l'insulinorésistance des tissus, en effet différents tissus développent une insulinorésistance ce qui entraîne des besoins accrus en insuline pour maintenir une glycémie normale. L'insulinorésistance entraîne à son tour l'insulinopénie qui est un trouble de l'insulinosecrétion ; celle-ci ne permettant plus à l'organisme de compenser l'augmentation des besoins en insuline. L'organisme est donc incapable d'adapter sa production d'insuline aux besoins des tissus cibles.

Malgré une production d'insuline par le pancréas, son action n'est plus suffisante et il en résulte des dysfonctionnements cellulaires.

L'insulinorésistance est un mécanisme complexe. Elle résulte de l'interaction entre une susceptibilité génétique et des facteurs environnementaux (nutrition, activité sportive...). Ces différents facteurs environnementaux sont responsables de divers effets délétères tels que les

phénomènes de l'inflammation, le stress oxydant et l'accumulation de lipides dans différents tissus. Ces phénomènes entraînent une diminution de l'action de l'insuline au niveau des organes cibles tels que le foie, les muscles ou encore le tissu adipeux et une toxicité sur les cellules bêta pancréatiques. La façon dont les cellules bêta pancréatiques vont répondre à ce « stress métabolique » dépend grandement de facteurs génétiques et c'est l'ensemble de ces phénomènes qui conduit progressivement à l'apparition d'un DT2 [31].

Le DT2 représente 90% des diabètes dans le monde, on parle véritablement d'épidémie, tant son incidence est élevée, et des prévisions pour les prochaines années très alarmantes. Cette augmentation de la prévalence du diabète tous les ans est due à plusieurs causes, notamment le mode de vie avec une alimentation transformée et plus riche en sucre et un risque d'obésité élevé. Ainsi certaines populations qui n'auraient pas développé cette pathologie avec une alimentation ou un mode de vie autre, commencent à développer le DT2 de façon quasi épidémique. Il est à noter que l'allongement de l'espérance de vie ainsi qu'un meilleur dépistage de la maladie sont aussi à évoquer dans les prévisions toujours plus alarmantes concernant cette maladie [32].

Les causes sous-jacentes du diabète de type 2 sont alors plus complexes encore que celles derrière le diabète de type 1, et impliquent de nombreux tissus, de nombreux mécanismes physiopathologiques et de très nombreux gènes [31].

Étant donné que le DT2 est notre pathologie d'intérêt lors des travaux de recherche de cette thèse, c'est la seule forme qui sera détaillée par la suite.

3. Diabète gestationnel :

Le diabète gestationnel (DG) est défini par une intolérance au glucose se manifestant pendant la grossesse. Il se caractérise par une hyperglycémie aux valeurs supérieures à la normale mais inférieures à celle posant le diagnostic de diabète. Les femmes enceintes qui peuvent développer un DG ont un risque plus élevé (7 fois) de développer un DT2 [33]. Les femmes ayant un DG ont également un risque accru de complications pendant la grossesse et à l'accouchement [34]. Généralement le DG est dépisté au 2^{ème} trimestre de grossesse (entre 24 et 28 semaines d'aménorrhée). Chez la femme enceinte non diabétique, l'insulinorésistance est en principe atténuée par le pancréas qui s'adapte en produisant plus d'insuline. En revanche chez les femmes avec DG l'insulinorésistance n'est plus du tout compensée par le pancréas qui n'arrive plus à s'adapter pour produire l'insuline nécessaire, d'où l'apparition d'une hyperglycémie chronique [35].

L'unité foëto-placentaire est à l'origine de l'insulinorésistance chez les femmes enceintes. Cette résistance à l'insuline est corrélée avec l'avancée de l'âge gestationnel. La production placentaire de TNF- α (Tumor Necrosis Factor- α), de l'hormone lactogène placentaire, d'hormone de croissance et l'augmentation des taux sanguins de cortisol et de progestérone sont les facteurs qui contribuent clairement au DG [36]. La physiopathologie du DG et DT2 sont, de ce fait, assez similaires. La plupart des femmes enceintes développant un DG présentent aussi un déficit relatif de la fonction bêta des cellules pancréatiques, conduisant à une hyperglycémie postprandiale au début et à une hyperglycémie à jeun par la suite. Par ailleurs, des études longitudinales ont montré que la sensibilité à l'insuline est diminuée avant le début du dysfonctionnement des cellules bêta. Les taux de glucose sanguins élevés fournissent le substrat pour une croissance optimale [37]. L'augmentation des acides gras non saturés peut contribuer aussi à la physiopathologie de DG [36].

4. Diabète mody (mody, maturity-onset diabetes in the young)

Le diabète de type MODY est défini par des critères principalement cliniques : c'est un type de diabète précoce, avant l'âge de 40 ans, non auto-immun, initialement non insulinodépendant et de transmission autosomique dominant [38]. De point de vue génétique, plusieurs gènes sont impliqués dans la survenue de ce type de diabète ; il est génétiquement hétérogène [38-39]. Les formes les plus fréquentes de MODY sont dues à des anomalies touchant des gènes codant de facteurs de transcriptions de la famille de HNF (Hepatocyte Nuclear Factor), les HNF1A-MODY [40], HNF4A- MODY [40-41] et HNF1B-MODY [42], le GCK (Glucokinase)-MODY associé à des mutations de gènes GCK [43] et les MODY sont associés également à des mutation des deux gènes ABCC8 (ATP Binding Cassette Subfamily C Member 8) [44] et KCNJ11 (Potassium Inwardly Rectifying Channel Subfamily J Member 11) [39], codant les sous-unités SUR1 (Sulfonylurea receptor -1) et $K_{ir}6.2$ respectivement du canal potassique impliqué dans l'insulinosecretion par les cellule bêta.

Il est important de signaler qu'il existe d'autres formes de diabètes monogéniques qui ne sont pas envisagées ici comme le syndrome de walfram, les diabètes secondaires aux anomalies du génome mitochondrial, les pancréatites monogéniques et les formes rares de diabètes auto-immun [45-46].

III. DIABÈTE NON-INSULINODÉPENDANT (DE TYPE 2)

Pour sauvegarder le bon fonctionnement des cellules β du pancréas, l'intégrité cellulaire doit être assurée les mécanismes et les voies impliqués dans la physiologie des cellules doivent être étroitement régulés [47]. Les cellules β sont responsables de la production de l'insuline, qui est synthétisée sous forme de pré-proinsuline. Au cours du processus de maturation, la pré-proinsuline subit une modification conformationnelle réalisée à l'aide de plusieurs protéines du réticulum endoplasmique (RE) pour produire la proinsuline [48]. Ensuite, la proinsuline est transférée du RE vers l'appareil de Golgi (AG) dans les vésicules de sécrétion immatures et étant clivée en peptide C et en insuline [49-50].

Une fois mature, l'insuline est stockée dans des granules jusqu'à ce que sa libération soit déclenchée. La libération de l'insuline est principalement déclenchée par une réponse à des concentrations élevées de glucose. Il convient de noter que certains autres facteurs peuvent également induire la libération d'insuline telle que les acides aminés, les acides gras et les hormones [51]. Lorsque les niveaux de glucose circulant augmentent, les cellules β absorbent le glucose principalement via le transporteur de glucose 2 (GLUT2), une protéine porteuse de soluté qui fonctionne également comme un capteur de glucose pour les cellules β . Une fois le glucose entré, son catabolisme est activé augmentant le rapport ATP/ADP intracellulaire, ce qui induit la fermeture des canaux potassiques ATP-dépendants dans la membrane plasmique. Cela conduit à la dépolarisation de la membrane et à l'ouverture des canaux Ca^{2+} voltage-dépendants, permettant au l'ion Ca^{2+} d'entrer dans la cellule. L'augmentation de la concentration intracellulaire du Ca^{2+} déclenche l'amorçage de la sécrétion de l'insuline [49-51-52] (Figure 2A).

De plus, les signaux Ca^{2+} peuvent être amplifiés par les récepteurs purinergiques P2Y et peuvent jouer un rôle important dans le couplage stimulus-sécrétion de l'insuline en raison de leurs emplacements stratégiques dans la cellule et de leur capacité à médier la libération de Ca^{2+} . Le P2Y amplifie les signaux Ca^{2+} lorsque le canal est sensibilisé par des molécules messagères générées à partir du métabolisme des nutriments ou de la liaison au ligand et est impliqué dans l'amplification de la sécrétion de l'insuline [53] (Figure 1A). Néanmoins, d'autres signaux cellulaires peuvent également aider ou améliorer la libération de l'insuline par les cellules. Parmi eux, l'AMPc pourrait être le messager le plus important pour potentialiser la libération d'insuline. Les preuves accumulées suggèrent que l'AMPc induit la mobilisation des vésicules de sécrétion contenant de l'insuline en épuisant les réservoirs intracellulaires de Ca^{2+} , augmentant ainsi les concentrations intracellulaires de Ca^{2+} [54]. Il existe également des preuves convaincantes que l'ATP extracellulaire est un autre régulateur

important de la fonction des cellules β . C'est bien documenté que les cellules libèrent de l'ATP par exocytose des granules de l'insuline lors de la stimulation du glucose. La signalisation purinergique via les récepteurs P2Y et P2X stimule la mobilisation du Ca^{2+} et régule l'exocytose de l'insuline également indépendamment du glucose. Il a été rapporté que les P2Y sont couplés aux protéines G [55-56] alors que les récepteurs de type P2X sont des canaux ioniques déclenchés par un ligand activés par l'ATP non sélectifs pour les cations [57]. Dans le cas des récepteurs P2Y, il a été proposé que la libération de l'insuline puisse être méditée par la mobilisation intracellulaire de Ca^{2+} en réponse à la formation d'inositol-1,4,5-triphosphate (IP3) qui déclenche la libération de Ca^{2+} des réserves du RE, par l'exocytose [58-59] (Figure 2B).

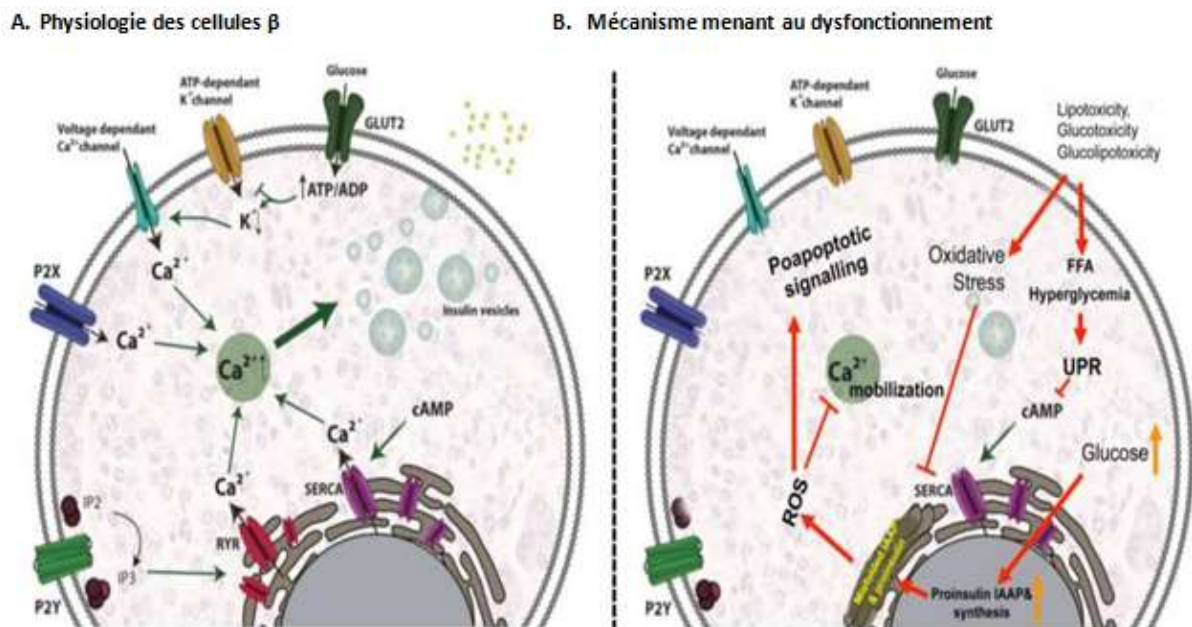


Figure 2: Voies de signalisation impliquées dans la sécrétion de l'insuline dans les cellules β dans des conditions physiologiques (A) et mécanismes conduisant à un dysfonctionnement (B). [60]

A : La libération d'insuline est principalement déclenchée par une réponse à de fortes concentrations de glucose et le glucose est principalement internalisé par le transporteur GLUT2. Le catabolisme du glucose augmente le rapport ATP/ADP, les canaux potassiques dépendants de l'ATP sont fermés, ce qui entraîne une dépolarisation de la membrane et l'ouverture des canaux Ca^{2+} dépendants du voltage. Ces derniers permettent un influx de Ca^{2+} déclenchant l'exocytose de l'insuline. D'autres canaux Ca^{2+} comme P2X, P2Y, SERCA et RYR contribuent à la mobilisation du Ca^{2+} et à la sécrétion d'insuline

B : l'hyperglycémie et l'hyperlipidémie favorisent le stress oxydatif conduisant à la génération de ROS qui inhibe la mobilisation du Ca^{2+} et active les signaux proapoptotiques. En outre, un excès d'AGF et l'hyperglycémie entraînent l'activation des voies apoptotiques de réponse aux protéines non repliées (UPR) et la génération d'un stress de ER. Des niveaux élevés et durables de glucose augmentent la biosynthèse de la proinsuline et de l'IAAP, ce qui génère des ROS. GLUT2 : transporteur de glucose 2, P2X : récepteur purinergique X ; P2Y : récepteur purinergique Y ; IP2 : inositol 1,3-bisphosphate ; IP3 : inositol 1,4,5-trisphosphate ; RYR : canal du récepteur de la ryanodine ; SERCA : Ca^{2+} -ATPase du réticulum sarcoplasmique ; FFA : acide gras libre, ROS : espèces réactives de l'oxygène ; UPR : réponse aux protéines non repliées.

Un excès d'acide gras et une hyperglycémie chroniques peuvent entraîner un dysfonctionnement des cellules β en induisant un stress du RE via l'activation des voies de réponse protéique dépliée apoptotique (UPR) [61]. En effet, la lipotoxicité, la glucotoxicité et la glucolipotoxicité survenant dans l'obésité induisent un stress métabolique et oxydatif qui entraîne des dommages aux cellules [62]. Le stress dérivé de niveaux élevés de d'acide gras saturés peut activer la voie UPR par plusieurs mécanismes, notamment l'inhibition du sarco/réticulum endoplasmique Ca^{2+} ATPase (SERCA) responsable de la mobilisation du RE du Ca^{2+} ; activation des récepteurs IP3 (Inositol-1,4,5-triphosphate) ou altération directe de l'homéostasie du RE. De plus, des niveaux élevés et soutenus de glucose augmentent la biosynthèse de la proinsuline et les polypeptides amyloïdes des îlots (IAAP) dans les cellules, entraînant l'accumulation de l'insuline et de l'IAAP mal repliés et augmentant la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) induites par le repliement des protéines [61]. Ces effets altèrent la mobilisation physiologique du Ca^{2+} , favorisent les signaux pro-apoptotiques et la dégradation de l'ARNm de la proinsuline et induisent la libération d'interleukine (IL)-1 qui recrute les macrophages et améliore l'inflammation locale des îlots [62] (Figure 2B).

Comme mentionné précédemment, la sécrétion de l'insuline doit être finement régulée pour répondre précisément à la demande métabolique. Pour cette raison, une bonne intégrité des îlots doit être conservée afin de permettre aux cellules de répondre aux besoins métaboliques. Dans des conditions pathologiques, le mécanisme décrit ci-dessus peut finalement perturber l'intégrité et l'organisation des îlots, altérant la communication optimale de cellule à cellule au sein des îlots pancréatiques, contribuant à une mauvaise régulation de la libération de l'insuline et de glucagon et exacerbant finalement l'hyperglycémie. Des défauts dans la synthèse de tous les précurseurs de l'insuline, ou de l'insuline elle-même, ainsi qu'une perturbation du mécanisme de sécrétion, peuvent entraîner un dysfonctionnement de la sécrétion de l'insuline, le principal moteur de l'échec des cellules et un fondement au développement du DT2. Par exemple, une expression réduite dans le transporteur de glucose GLUT2 affecterait la voie de signalisation en aval [63], tandis que l'échec du repliement de la proinsuline est une autre constatation couramment liée à une production de l'insuline déficiente et au diabète [64].

1. Anatomie et physiopathologie du pancréas

Le pancréas est un organe qui mesure entre 12 et 20 cm, et peut peser jusqu'à 110g chez l'homme adulte. Il se situe profondément dans la cavité abdominale, ce qui rend son exploration particulièrement difficile.

La tête du pancréas est située sous le foie, elle est bordée par le duodénum et se voit traversée par le canal cholédoque qui achemine la bile vers le bol alimentaire. L'isthme est la partie la plus étroite et se situe en avant des vaisseaux de l'intestin (artère et veine mésentériques supérieures). Le corps du pancréas s'étend obliquement vers le haut de l'abdomen, en avant du rein gauche. Enfin, la queue est accolée à la rate et à ses vaisseaux (artère et veine spléniques). Dans toute sa longueur, le pancréas est traversé par le canal de Wirsung, dont la fonction est la collecte et l'acheminement vers le duodénum des sucs digestifs pancréatiques. Le canal excréteur accessoire, ou canal de Santorini, parcourt la tête et s'abouche dans le duodénum par la petite caroncule (Figure 3).

Le pancréas assure deux fonctions : une fonction endocrine et une fonction exocrine. La fonction exocrine est représentée par les enzymes digestives qui sont responsables de la digestion des aliments ingérés, tandis que la fonction endocrine, par la sécrétion d'hormones telles que l'insuline ou le glucagon, modulent tous les autres aspects de la nutrition cellulaire (absorption, stockage et métabolisme des nutriments). Le pancréas endocrine est constitué par les îlots de Langerhans, ou îlots endocriniens, éparpillés dans le tissu glandulaire du pancréas exocrine. Ces îlots n'occupent que très peu de place, seulement 2 à 3 % de la masse totale [65].

L'importance et le dysfonctionnement des cellules β et la résistance à l'insuline ont été controversés au départ, on pensait que la résistance à l'insuline était la seule anomalie principale du DT2 et l'incapacité des cellules pancréatiques à sécréter l'insuline était une manifestation tardive [66]. Cette notion changea après la découverte du système endocrine humain, une boucle de rétroaction qui permet d'assurer l'homéostasie du glucose en limitant ses variations [67]. Cette rétroaction est basée sur le dialogue entre les cellules β pancréatiques et sert à la consommation de glucose, des acides aminés et des acides gras par les tissus cible de l'insuline. Ces tissus envoient l'information aux îlots de Langerhans pour exprimer leur besoin en insuline. L'acteur principal dans ce processus n'a pas été identifié à ce jour, mais certaines pistes montrent le rôle de la bêtatrophine (hormone humaine sécrétée par le foie et le tissu adipeux qui favorise la division cellulaire des cellules bêta pancréatiques) [68], du cerveau par la leptine [69] et du système immunitaire [70].

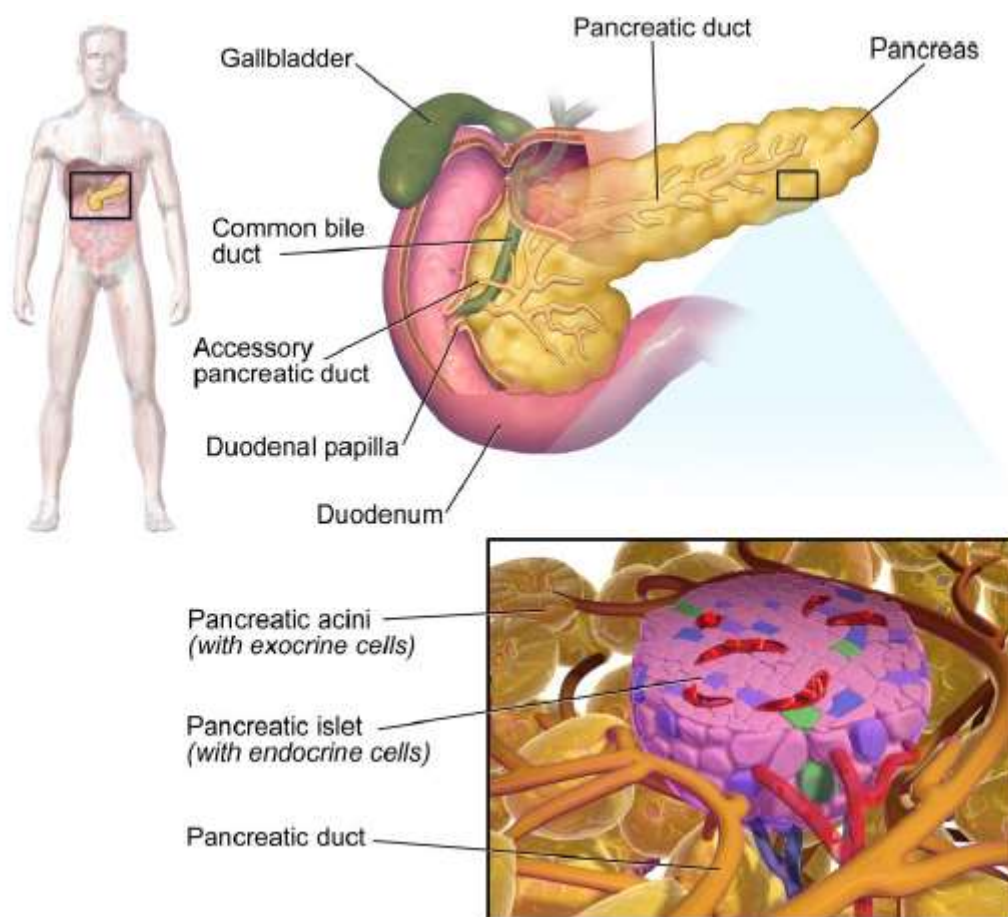


Figure 3: Le tissu pancréatique

2. Sécrétion d'insuline : mécanismes physiologiques

La sécrétion de l'insuline est régulée de manière complexe par des facteurs métaboliques, hormonaux, nerveux et électrophysiologiques. La sécrétion de l'insuline est physiologiquement pulsatile, avec des oscillations lentes (toutes les 2 heures) ou rapides (toutes les 5-15 minutes). Il s'agit d'une propriété intrinsèque de la cellule, probablement dépendante de l'horloge biologique ; cette dernière étant potentiellement altérée chez les diabètes. La cinétique de décharge de l'insuline connaît deux phases. La première phase débute en moins d'une minute après l'ingestion du glucose et libère l'insuline déjà stockée dans les granules de sécrétion. La seconde intervient après une minute, mais n'est mise en évidence qu'au bout de 10 minutes ; elle dure environ 60 minutes et permet de larguer un mélange de l'insuline stockée et celle nouvellement synthétisée [71]. (Figure 3)

L'insuline se fixe à des transporteurs spécifiques type GLUT dont le nombre et l'affinité dépendent de la quantité de l'insuline circulant dans le plasma (down regulation). La fixation de l'insuline aux récepteurs autorise la pénétration intracellulaire du glucose et des amino-

acides [72]. Fondamentalement, l'insuline réduit les concentrations sanguines de glucose, d'acides gras libres et favorise de nombreux mécanismes de synthèses et effets de croissance. Son action s'opère principalement sur trois tissus qui sont le foie, les muscles et le tissu adipeux. C'est pourquoi l'insuline constitue l'hormone anabolisante par excellence [73-74-75]. Cependant, suite à son action mitotique, la synthèse protéique peut s'accompagner de prolifération cellulaire conduisant à des tumeurs cancéreuses [76,77]. L'insuline exerce d'autres effets pléiotropes moins connus notamment anti-inflammatoire, anti-thrombotique et anti-oxydante [77].

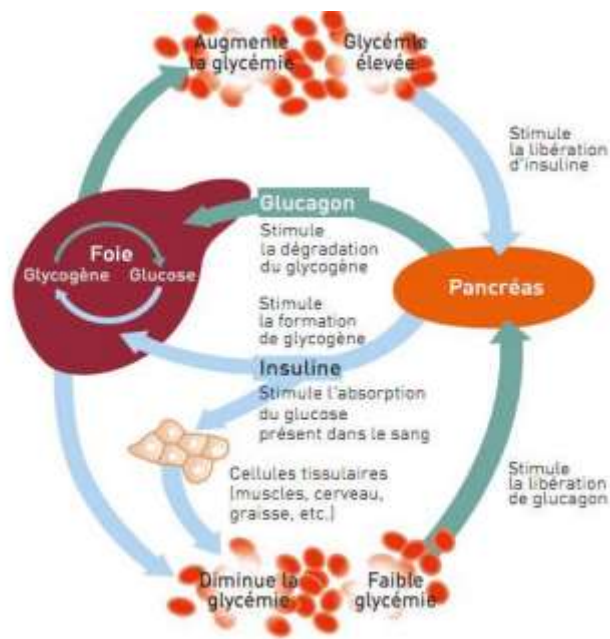


Figure 4: production et action de l'insuline [78].

3. L'insulinorésistance

Les cellules β pancréatique est un milieu exclusif de la synthèse et de la sécrétion de l'insuline. Un large spectre d'effets métabolique dans plusieurs tissus cibles est exercé par cette hormone. Pour que l'insuline réagisse elle doit se lier d'abord avec ses récepteurs spécifiques exprimés à la surface des cellules des organes cibles ; en particulier dans les tissus qui ont des effets métaboliques de l'insuline tels que le foie, le muscle squelettique, et le tissu adipeux. Il est aussi exprimé dans les cellules β et dans certaines zones de cerveau. Des études d'inactivation spécifique ont montré que l'insuline exerce des actions importantes dans la régulation de l'hémostasie énergétique au niveau des récepteurs des tissus cités [79].

Le récepteur de l'insuline est une glycoprotéine tétramérique, constituée de deux sous-unités α extracellulaire et de deux autres sous-unités β transmembranaires contenant un domaine

Tyrosine Kinase et des résidus Tyrosines, important à l'activité biologique du récepteur. (Figure 4).

L'insuline se lie à son récepteur par les sous unités α et la partie extracellulaire de la sous-unité β qui possèdent des sites de liaison de haute et de basse affinité pour l'insuline [80]. La fixation de l'insuline à son récepteur conduit à de modification conformationnelles des sous-unités α et β , ces dernières qui accordent l'accès au site catalytique et la transphosphorylation des résidus tyrosine des sous unités β (Figure 5) [81].

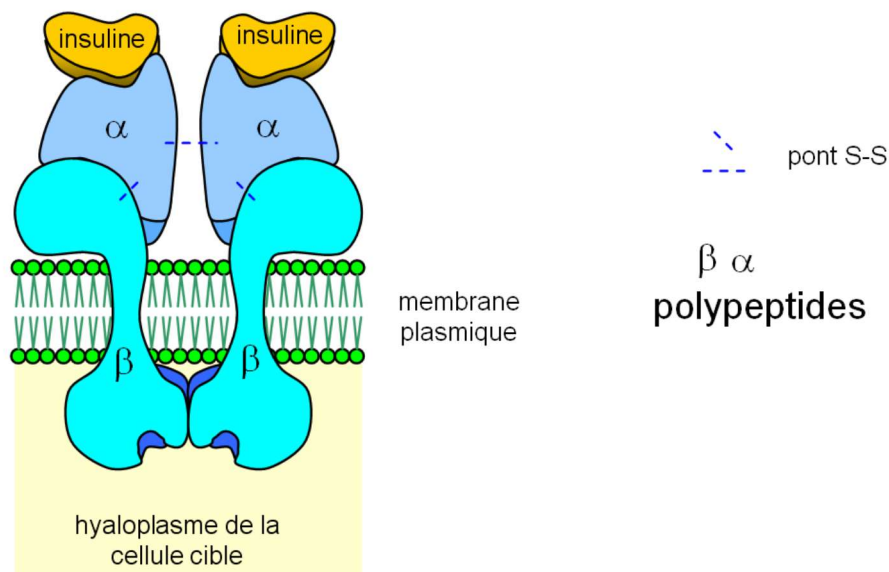


Figure 5: Modélisation du récepteur de l'insuline [81]

L'activation du récepteur doit se faire nécessairement par la phosphorylation des résidus tyrosines en phosphorylant ainsi ses substrats intracellulaires incluant les protéines de la familles des insulin receptor substrate (IRS) de la famille des protéines Shc (Sachomology 2 containing protein) et quelques autres substrats dont la fonction n'a toujours pas été clairement établie telle que les protéines Gal, Cbl et Aps [79-81].

Les IRS sont des protéines importantes dans l'action de l'insuline et sont les substrats immédiats de son récepteur. Ils sont composés de deux parties, la première partie est la N-terminale des domaines Ph (Plextrim homology) et PTB (phosphotyrosine binding) qui sont responsables de l'interaction de la protéine avec le résidu phosphotyrosine présent dans la partie juxta-membranaire du récepteur [81]. La deuxième partie c'est la COOH-terminale qui possède un nombre de résidus tyrosines phosphorylés par le récepteur qui se lie par la suite à d'autres protéines intracellulaires contenant des domaines SH2 (Src homology 2). Ces protéines intracellulaires peuvent être considérées comme des molécules adaptatrices des

sous-unités régulatrices de la PI3, kinase et la protéine adaptatrice Grb2, ou d'enzyme ayant des activités kinases ou phosphatase comme la tyrosine phosphatase SHP2 (SH2 domain containing tyrosine phosphatase 2) et la tyrosine kinase cytoplasmiques Fyn [81]. A travers des liaisons covalentes avec un nombre de protéine renfermant des domaines SH2, les IRS servent des points d'ancrage et d'interaction avec les molécules qui interviennent dans la cascade de signalisation insulinique, en induisant par exemple l'activation des deux voies majeures de la signalisation d'insuline mitogénique (Ras/Map kinase) et métabolique (PI3 kinase/PDK1 [79].

4. Les voies de signalisation et la physiopathologie du diabète de type 2

Plusieurs organes sont impliqués dans le contrôle de la glycémie. L'ordre des évènements qui mènent au développement du DT2 est donc souvent remis en question par la communauté scientifique. Néanmoins, il est évident que le DT2 résulte de la résistance à l'insuline, l'augmentation de la production hépatique de glucose, l'augmentation de la sécrétion d'insuline et l'épuisement des cellules bêta pancréatiques.

Au cours de l'évolution, les voies de la signalisation Wnt étaient très conservées et impliquées dans une multitude de phénomènes physiologiques et pathologiques. Trois voies de signalisation ont été décrites à ce jour : la voie canonique de Wnt ou voie Wnt/ β -caténine, les voies non canoniques Wnt/PCP (Planar Cell Polarity) et Wnt/Ca²⁺ [82]. Dans cette thèse nous allons nous concentrer uniquement sur la voie canonique de Wnt, qui joue un rôle fondamental au cours du développement du DT2 qui est impliquée dans de nombreux phénomènes cellulaires, telle que la prolifération, la migration, la polarisation et la différenciation cellulaire. Cette voie de signalisation est finement régulée des mutations des acteurs de la voie Wnt/ β -caténine ou des dérégulations de cette voie peuvent être à l'origine du développement de DT2, de leurs résistances au traitement, ou des phénomènes de rechute [83-84-85]. La voie Wnt/ β -caténine peut également être impliquée dans d'autres pathologies telles que des maladies osseuses (ostéoporose) ou cardiovasculaires.

4.1. La voie de signalisation WNT :

Le premier gène ligand de WNT, est l'INT1 qui a été identifié par Nusse et Varmus [86] dans leurs recherches sur le cancer du sein en 1982. Ce proto-oncogène a été renommé WNT1 car il possède une très forte similitude de séquence d'acide aminés avec la protéine codée par le gène Wingless (wg) chez la drosophile, un gène essentiel à la polarité des segments de cet insecte. Des études embryologiques chez les xénope (grenouille) et d'autres organismes ont

également apporté d'importantes contributions à l'illustration de la fonction biologique de cette voie de signalisation conservée au cours de l'évolution [87-88]. Chez l'homme et les rongeurs, 19 gènes codant pour le ligand Wnt ont été reconnus [88].

Les récepteurs des ligands Wnt sont connus sous le nom de protéines frizzled (FRZ). La longue protéine transmembranaire à passage unique appelée Arrow interagit avec les ligands Wnt et est génétiquement requise pour la signalisation Wingless [89]. Les protéines 5 et 6 liées aux récepteurs des lipoprotéines de basse densité (LRP5/6) sont les homologues mammaliens de la protéine Arrow [89] et sont considérées comme d'importants corécepteurs des ligands Wnt chez les mammifères.

Lorsqu'un ligand Wnt se lie à un récepteur frizzled, il entraîne l'activation des voies de signalisation Wnt canoniques (dépendantes de la β -caténine [β -cat]) ou non canoniques (indépendantes de β -cat) [90-91]. Cette dernière voie peut être subdivisée en voies de polarité cellulaire planaire et de Ca^{2+} , qui sont importantes pour la polarisation des cellules le long de l'axe embryonnaire et pour la motilité et le comportement des cellules, respectivement [92]. L'effecteur clé de la voie de signalisation wnt est le facteur de transcription bipartite cat/TCF, formé par caténine libre (Figure 6) et un membre de famille TCF : TCF7L2 (TCF-4) [93-94], TCF7, TCF7L1 et LEF-1). Les TCF possèdent un domaine de liaison ADN nommé boîte à haute mobilité (HMG) tandis que les β -cat contiennent des domaines d'activation transcriptionnelle.

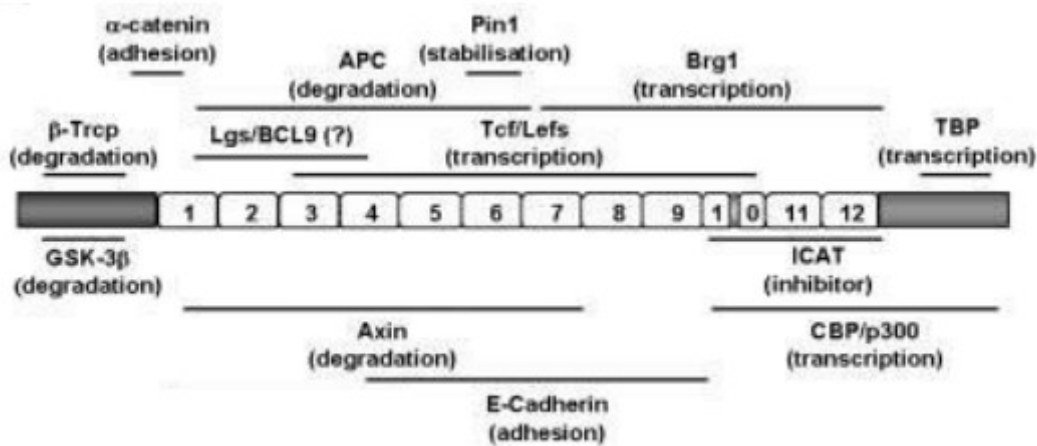


Figure 6: Structure de la β -caténine et sites de liaison à des protéines partenaires [95]

La partie Nterminal de la β -caténine contient le résidu Sérine 45 phosphorylé par CK1 α , et les résidus Sérine 33, 37 et Thréonine 41 phosphorylés par GSK3 β , ce qui permet la reconnaissance de la β -caténine par la protéine β -TrCP. Le domaine central de la β -caténine est composé de 12 motifs répétés non parfaitement identiques, impliqués dans de nombreuses interactions protéiques. C'est dans cette partie de la β -caténine que peuvent se fixer les protéines APC et AXIN impliquées dans le complexe de dégradation ou dans l'export nucléaire de la β -caténine.

Au repos le processus de dégradation médié par le protéasome contrôle étroitement le niveau de TCF libre, ce qui implique l'action des membres du complexe destructeurs de β -cat qui comprend deux suppresseurs de tumeurs connu sous le nom d'adenomatous polyposis coli (APC) et d'Axin/conductin, ainsi que les sérine/thréonine kinases glycogène synthase kinase-3 (GSK-3) et caséine kinase I (CK-1) [96-97]. Bien que l'Axin/conductine et l'APC servent d'échafaudages, la GSK-3 et la CK-1 phosphorylent plusieurs résidus sérine ou thréonine au niveau de l'extrémité N-terminale de β -cat, y compris le résidu Ser33 (Figure 7). La β -cat phosphorylée au niveau de ces résidus subit ensuite une dégradation médiée par le protéasome. La phosphorylation de Ser33 étant importante pour la dégradation par le protéasome, la mutation Ser33Tyr (S33Y) de β -cat génère une molécule constitutivement active, qui a été largement utilisée dans les études de la voie de signalisation Wnt [98-99-100-101].

Lors de la stimulation du ligand Wnt, une association est établie entre le récepteur Wnt et Dishevelled (Dvl) qui déclenche la dissociation du "complexe destructeur" β -cat. Le β -cat libre s'accumule alors et pénètre dans le noyau, entraînant la formation de β -cat/TCF et l'activation de l'expression des gènes cibles de la signalisation Wnt (ou β -cat/TCF) gènes cibles en aval (figure 7 : à gauche (OFF))

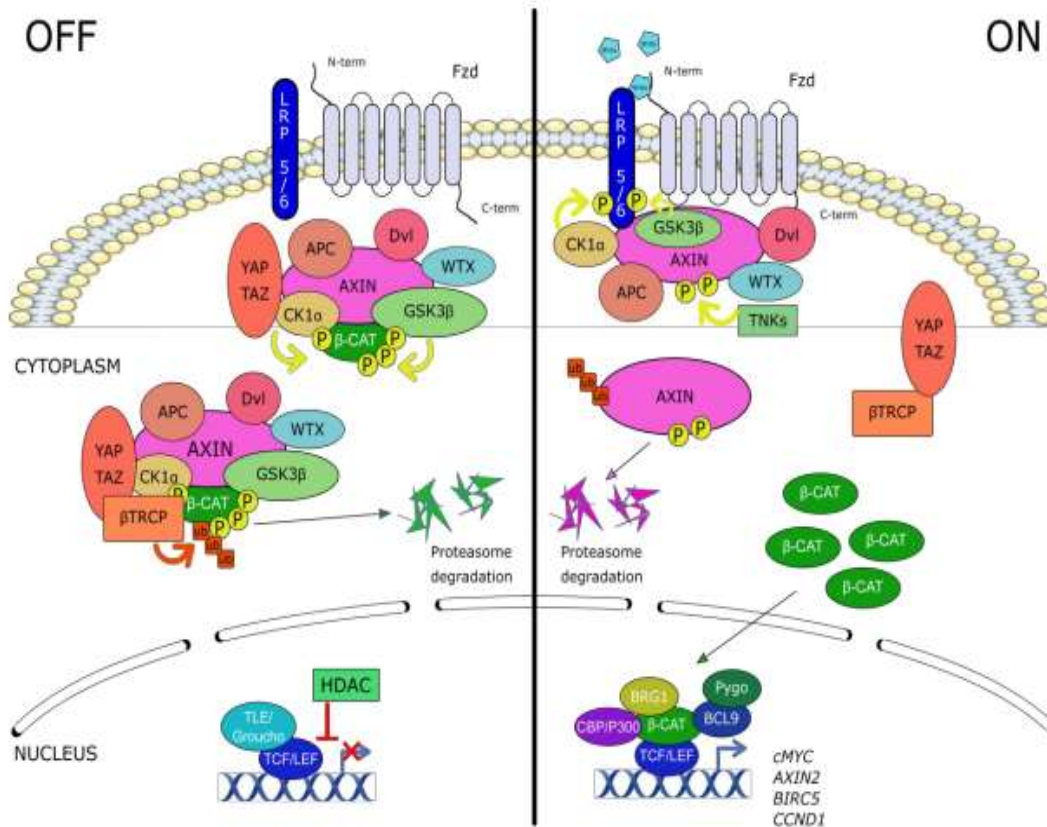


Figure 7: activation et inhibition de la voie de signalisation wnt [102]

En absence d'activation de la voie de signalisation Wnt/ β -caténine (partie gauche de la figure), la β -caténine est phosphorylée, ubiquitinylée puis dégradée par la voie du protéasome. La transcription dépendante des complexes de transcription β -caténine/TCF/LEF est alors réprimée par des histones désacétylases. En présence de ligands Wnt (partie droite de la figure), le complexe de dégradation de la β -caténine est séquestré à la membrane plasmique et n'est plus en mesure de phosphoryler la β -caténine. La β -caténine s'accumule dans le cytoplasme, avant d'être transloquée dans le noyau, où elle s'associe aux facteurs de transcription de la famille TCF/LEF pour activer la transcription de gènes cibles.

En plus des composants discutés ci-dessus, plusieurs antagonistes et agonistes Wnt sécrétés clés sont représentés sur la (Figure 7 : à droite ON)), notamment le facteur inhibiteur Wnt (WIF), la protéine sécrétée liée au frizzled (sFRP), la sclérostine (SOST) et le Dickkopf (DKK) qui agissent comme des antagonistes, ainsi que la R-Spondine (Rspo) et la protéine de la maladie de Norrie (Norrin) et Protein (Norrin) qui fonctionnent comme des antagonistes. Le tableau 1 énumère ces cinq substances et quelques autres antagonistes et agonistes de Wnt sécrétés ou transmembranaires [103-104].

Tableau I: Liste des antagonistes et agonistes de Wnt sécrétés et transmembranaires

	Noms complets	Fonctions	Autres membres
Solubles antagonists DKKI	Dickkopf	Se lie à LRP5/6	DKK2, 3, and 4
sFRPL	Secreted Frizzled-related protein 1	se lie à FRZ	sFRP2-5
WIF	Wnt-inhibitory factor 1	Empêche Wnt de se lier à ses récepteurs.	Inconnu
SOST	Sclérostine	Se lie à LRP5/6	SOSTDC-1, sclerostin domain-containing 1
Cerberus (frog)	Cerberus	Se lie aux protéines Nodal, BMP et Wnr et les bloque	Cerl-1 de souris ne se lie pas à Wnt.
IGFBP-4	Protéine 4 de liaison du facteur de croissance analogue à l'insuline	Se lie au LRP6 et FRZ8	IGFBP-1, -2 et -6, mais pas -3 et -5, se lie également à LRP6 et FRZ8.
Inhibiteurs transmembranaires Shisa	Le membre fondateur est le Xenopus Shisa 1	Inhibe la maturation post-traductionnelle et le trafic de FRZ.	Multiple family members
Tikil	Une métalloprotéase transmembranaire	Supprime les résidus N-terminaux de Wnt.	Tiki2
Wnt activators R-spondin-1	Famille des facteurs de croissance sécrétés	Agit de manière synergique avec Wnt-4 et aide à stabiliser la β -caténine	Trois autres membres de la famille
Norrin	Pseudogliome de la maladie de Norris	Interagit avec FRZ4 et LRPS	Aucun autre membre de la famille

4.2. Le métabolisme du glucose

La production hépatique de glucose est la somme de la gluconéogenèse, qui est la formation de glucose à partir du pyruvate ou d'autres composés à 3 ou 4 carbones, et de la glycogénolyse, qui est la dégradation du glycogène en glucose. Les principaux substrats de la gluconéogenèse chez l'homme sont les suivants : le lactate, le glycérol, l'alanine et la glutamine. Ils représentent 90 % des substrats gluconéogènes. Cependant, d'autres acides aminés et intermédiaires du cycle citrique peuvent également servir de substrats pour la gluconéogenèse [105-106]. À partir du lactate ou d'un acide α -céto dérivé de la dégradation des acides aminés, le pyruvate peut être généré pour la néoglucogenèse. Le pyruvate est converti par carboxylation en oxaloacétate dans les mitochondries. Cette réaction est stimulée par des niveaux élevés d'acétyl-CoA, qui est produit par la β -oxydation des acides gras dans le foie, et inhibée par des niveaux élevés d'ADP et de glucose. Après une étape intermédiaire qui permet à l'oxaloacétate de quitter la mitochondrie par l'intermédiaire du malate, l'oxaloacétate est décarboxylé puis phosphorylé pour former le phosphoénolpyruvate par la phosphoénolpyruvate carboxykinase. Cette enzyme est un régulateur de la vitesse de la

néoglucogénèse, et sa transcription est ciblée par de multiples facteurs, dont le glucagon et le glucose [107]. Après plusieurs étapes de glycolyse inverse, la fructose 1,6-bisphosphatase convertit le fructose 1,6-bisphosphate en fructose 6-phosphate. Le fructose 2,6-bisphosphate et l'AMP inhibent cette réaction, tandis que le citrate l'active. Le glucose-6-phosphate (G-6-P) est formé à partir de fructose 6-phosphate par la phosphoglucoisomérase. G-6-P peut être utilisé dans d'autres voies métaboliques ou déphosphorylé par la glucose-6-phosphatase (G-6-Pase) pour former du glucose libre. Alors que le glucose libre peut facilement pénétrer dans la cellule et en sortir, la forme phosphorylée (G-6-P) ne le peut pas, ce qui fournit un mécanisme permettant de contrôler les niveaux de glucose intracellulaire.

La dernière réaction de la néoglucogénèse est la formation du glucose, se produit dans la lumière du réticulum endoplasmique, où le G-6-P est hydrolysé par la G-6-Pase pour produire du glucose et libérer un phosphate inorganique. Comme les deux étapes précédentes, cette étape est une inversion de la glycolyse dans laquelle l'hexokinase catalyse la conversion du glucose et de l'ATP en G-6-P et en ADP. Le glucose est ensuite acheminé dans le cytoplasme par des transporteurs de glucose situés dans la membrane du réticulum endoplasmique [107].

NEOGLUCOGENESE

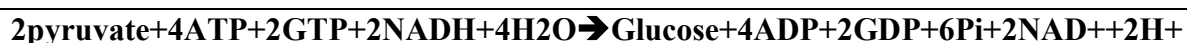
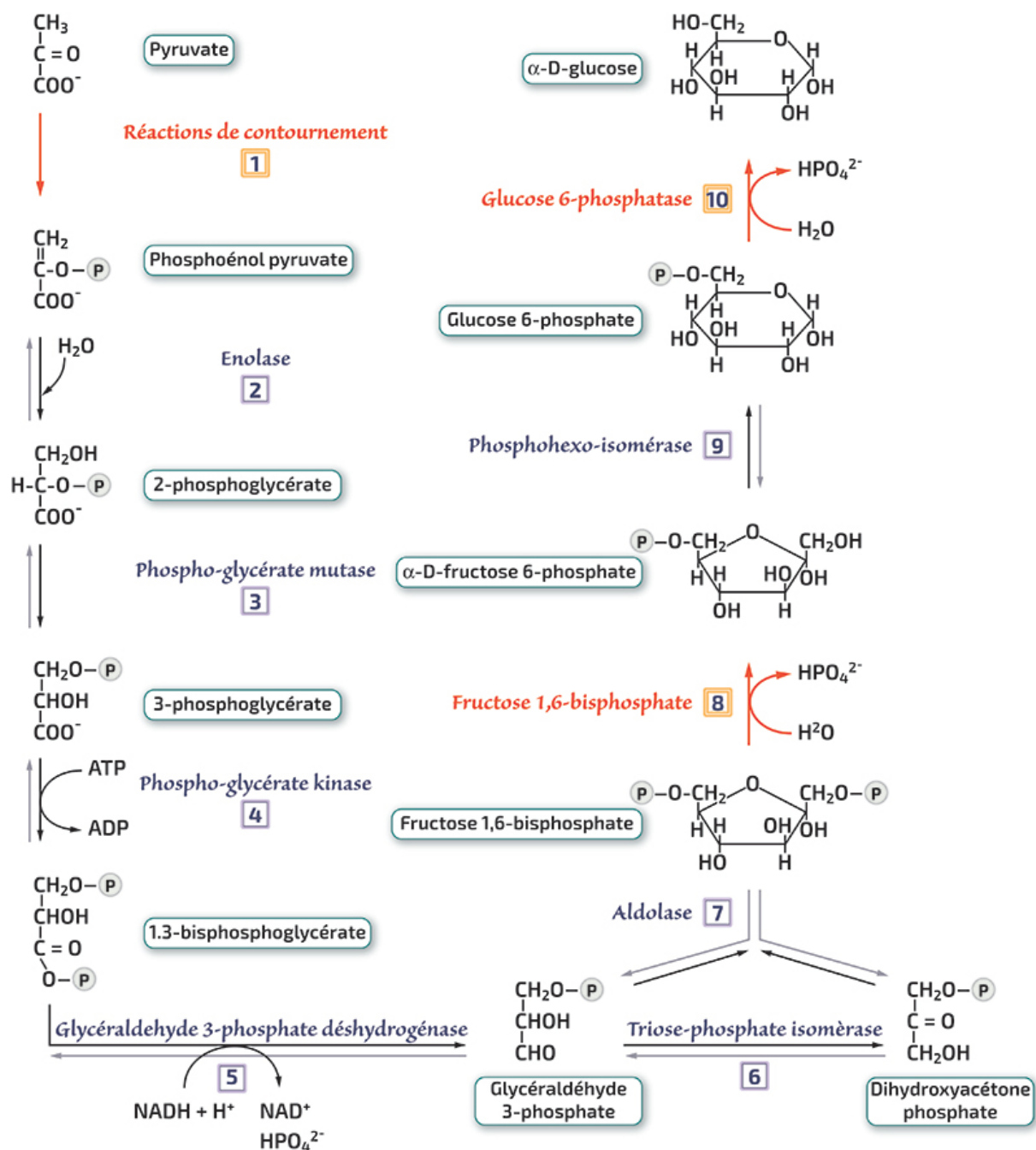


Figure 8: Néoglucogénèse : relation avec la glycolyse et points d'entrée des substrats non glucidiques. [108]

L'augmentation de la production hépatique de glucose entraîne une augmentation de la libération de glucose dans le sang, qui peut provoquer une hyperglycémie. Chez les patients atteints de DT2, la néoglucogénèse a été identifiée comme la principale source de production

de glucose, tandis que la glycogénolyse n'y contribue pas. Ces résultats soulignent l'importance de maintenir des taux normaux de gluconéogenèse pour éviter la pathophysiologie de la maladie. L'insuline est un régulateur hormonal majeur de la gluconéogenèse, son rôle dans la détermination des taux de gluconéogenèse est essentiel pour comprendre la cause et les traitements potentiels du DT2 [109].

4.3. Régulation de la gluconéogènèse par l'insuline

Le rôle de l'insuline dans la régulation de la production hépatique de glucose est largement reconnu. Chez les individus sains, l'hyperinsulinémie physiologique supprime la néoglucogenèse de 20 %, tandis que la glycogénolyse est complètement supprimée [110]. L'hyperglycémie supprime la glycogénolyse hépatique et n'a que des effets minimes sur le stockage du glycogène. Seule l'association de l'hyperglycémie et de l'hyperinsulinémie a un effet significatif sur la synthèse du glycogène hépatique [111]. Ainsi, l'insuline joue un rôle crucial dans le métabolisme hépatique du glucose.

Le mécanisme dominant de la régulation de la néoglucogenèse hépatique par l'insuline n'est pas clair. L'insuline exerce un contrôle direct sur la néoglucogenèse en agissant sur le foie, mais elle affecte aussi indirectement la néoglucogenèse en agissant sur d'autres tissus. L'effet direct de l'insuline a été démontré chez des chiens à jeun, où l'insuline du plasma portal a supprimé la production hépatique de glucose même sans modification du glucagon ou des précurseurs de la gluconéogenèse [112]. Cependant, dans les modèles de souris, on a constaté que l'insuline avait des effets plus puissants sur la production hépatique de glucose in vivo plutôt qu'in vitro [113-114]. De plus, les effets indirects de l'insuline sur les tissus extra-hépatiques se sont avérés suffisants pour maintenir un métabolisme normal du glucose, ce qui suggère un rôle important de la régulation indirecte de l'insuline dans le métabolisme du glucose [115].

Tableau II: les effets extrahépatiques de l'insuline qui régulent la gluconéogenèse hépatique [116]

Organ/tissu	Action	Effets sur le foie
Cellules pancréatique alpha	Secretion de glucagon ↓	Régulation transcriptionnelle des gènes gluconéogènes
Tissu adipeux blanc	Lipolyse ↓	Réduction de l'apport d'acides gras libres au foie
Muscle squelettique	Proteolyse ↓	Réduction du flux d'acides aminés vers le foie
Système nerveux central	Mode pléiotropique	Effets multiples

On sait que la suppression de la néoglucogenèse par les effets indirects de l'insuline implique de multiples tissus et types de cellules. Les cellules α du pancréas, le tissu adipeux, les muscles squelettiques et le cerveau exerçant des effets connus sur la gluconéogenèse. Dans les cellules α du pancréas, l'insuline inhibe la sécrétion de glucagon, ce qui peut indirectement entraîner la suppression de la production hépatique de glucose en réduisant la signalisation hépatique du glucagon [117]. Le glucagon a des effets sur la régulation transcriptionnelle de la gluconéogenèse, principalement par le biais du facteur de transcription CREB, mais aussi par le biais du flux de métabolites en affectant l'activité de la phosphofructokinase 1 (PFK1) d'une manière dépendante de la PKA [118-119]. L'insuline diminue les taux plasmatiques de glucagon in vivo et inhibe la sécrétion de glucagon par les cellules α du pancréas in vitro [120].

L'idée que la signalisation extra-hépatique de l'insuline puisse contrôler la production hépatique de glucose (HGP) est étayée par le fait que l'insuline peut supprimer l'HGP chez les souris où les composants d'Akt et FOXO1 sont appauvris [121]. De plus, l'appauvrissement aigu du récepteur de l'insuline et de FOXO1 dans le cas de la souris récepteur de l'insuline et de FOXO1 dans le foie n'empêche pas l'insuline de supprimer l'HGP [122].

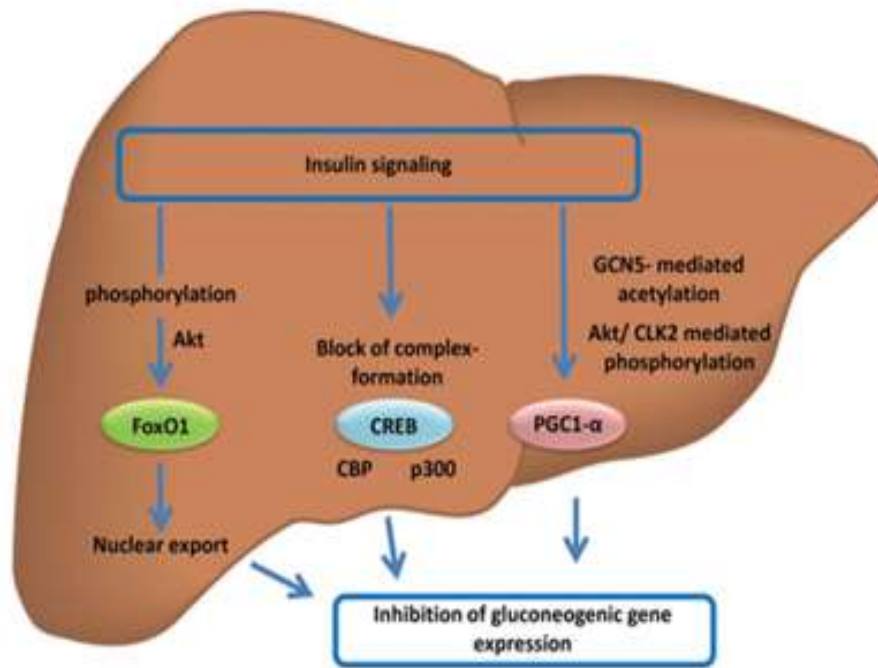


Figure 9: inhibition de la gluconéogenèse par l'insuline au niveau du foie [123]

L'action de l'insuline régule l'activité des facteurs de transcription contrôlant l'expression des gènes gluconéogènes. La phosphorylation médiée par l'AKT entraîne l'exportation nucléaire de FOXO1. La phosphorylation inhibitrice de CBP/p300 bloque la formation du complexe de transcription de CREB. La modification de PGC-1 α par acétylation médiée par GCN5 ou par phosphorylation médiée par AKT/CLK2 diminue l'activité transcriptionnelle de PGC-1 α .

Il est important de mentionner, cependant, que dans ces expériences, l'insuline peut encore émettre un signal par le biais du récepteur de l'IGF, ce qui pourrait être suffisant pour supprimer l'HGP. Une autre étude confirme l'idée selon laquelle le principal effet de l'insuline sur l'HGP passe par la suppression de la lipolyse dans le tissu adipeux blanc ce qui entraîne une augmentation de l'activité du pyruvate carboxylase et de la gluconéogenèse. L'augmentation de l'acétyl-CoA hépatique est liée à l'augmentation de la lipolyse qui est due à la résistance à l'insuline. Pour confirmer l'importance de la lipolyse adipeuse-acétyl-CoA hépatique dans le contrôle de l'HGP, la réduction de la lipolyse est assurée par l'inhibition de la triglycéride lipase adipeuse ou par la neutralisation de l'interleukine (IL)-6, une cytokine connue pour favoriser la lipolyse adipeuse, normalise les niveaux d'acétyl-CoA hépatique et l'activité de la pyruvate carboxylase ainsi que l'HGP (Figure :9) [124].

4.4. Altérations de la sécrétion d'insuline

Les altérations de l'insulinosécrétion sont le dénominateur commun de toutes les formes de diabètes [125]. Elles apparaissent tôt dans l'histoire du DT2, dès le stade de l'hyperglycémie modérée à jeun et de l'intolérance au glucose [126-127], et chez les parents au premier degré de patients atteints de DT2. Elles se déclinent selon cinq rubriques, regroupées sous le terme de dysfonction insulaire : anomalies de la pulsatilité, anomalies de la cinétique, anomalies qualitatives, anomalies quantitatives, anomalies évolutives :

4.4.1. Anomalie de la pulsatilité de la sécrétion d'insuline

Chez les non-diabétiques, l'insuline, comme la plupart des hormones, est sécrétée à l'état basal selon un mode pulsatile, avec des pics de périodicité comprise entre 10 et 15 min et des oscillations plus amples et plus lentes, de périodicité comprise entre 60 et 120 minutes [128]. Des travaux réalisés après suppression de l'insulinosécrétion endogène par la somatostatine ont montré la supériorité du mode d'administration pulsatile de l'insuline par rapport à une administration continue sur le contrôle de la glycémie [129]. De la même manière, dans le diabète de type 1, la quantité d'insuline nécessaire au maintien d'une glycémie normale est de 40 % plus faible en administration pulsatile qu'en administration continue [130]. La moindre efficacité métabolique du mode d'administration (et donc de sécrétion) continu est liée à la régulation négative (*down-regulation*) de l'expression des récepteurs membranaires de l'insuline. La libération pulsatile de l'insuline est en corrélation avec les oscillations des concentrations intracytoplasmiques de Ca^{2+} , qui contrôlent l'exocytose des vésicules d'insuline [128]. Ce caractère oscillatoire pourrait avoir un effet protecteur [131], car il limite le risque de surcharge calcique de la cellule bêta. Des concentrations élevées et prolongées en Ca^{2+} sont en effet couplées au déclenchement des signaux d'apoptose de celle-ci [128]. Au cours du DT2, il existe une diminution ou une disparition de la sécrétion oscillatoire rapide de l'insuline, qui constitue un des éléments de la dysfonction insulaire [132-133].

4.4.2. Anomalie de la cinétique de l'insulinosécrétion

Une disparition de la phase précoce de l'insulinosécrétion après administration intraveineuse de glucose a été décrite chez les patients atteints de DT2 [134-135], et apparaît dès que la glycémie à jeun dépasse 1,15 g/l [136]. Comme l'anomalie précédente, elle est présente tôt au cours de la maladie, dans l'intolérance au glucose [137] et chez les parents au premier degré de DT2 encore normoglycémiques [138]. Bien que la deuxième phase de l'insulinosécrétion rende compte de la plus grande partie de l'insuline sécrétée, la phase précoce est cruciale pour

le contrôle de la glycémie, et agit comme un signal, en « préparant » le foie et en permettant l'augmentation de la clairance du glucose.

4.4.3. Anomalie quantitatives et qualitatives de l'insulinosécretion

La mise au point d'une méthode de dosage spécifique de l'insuline et de ses précurseurs (méthode immunoradiométrique ou IRMA) par Hales et al [139], a permis de montrer sans ambiguïté le déficit patent de l'insulinosécrétion au cours du DT2. Les patients atteints de DT2 ont une insulinopénie franche à l'état basal et après une charge en glucose [140-141], qu'ils soient de poids normal ou obèses [140]. Il existe en revanche une hypersécrétion anormale de pro-insuline et de peptides immatures, comme la pro-insuline clivée en 32-33, qui représentent 40 % des peptides sécrétés par les cellules bêta contre 5 % chez les témoins non diabétiques [142]. Cet excès était responsable des artéfacts de dosage observés avec la méthode radio-immunologique et explique pourquoi le DT2 a été considéré longtemps à tort comme un état avec « hyperinsulinisme », avec les conséquences thérapeutiques erronées qui en ont découlé. La sécrétion excessive de prohormones est, elle aussi, précoce puisqu'elle a été observée dans l'intolérance au glucose et dans le diabète gestationnel. Elle semble spécifique au DT2, car elle n'est pas retrouvée dans les états d'insulinorésistance primitive avec hyperinsulinémie réactionnelle tels que rencontrés dans l'obésité [143] ou dans les troubles de la glycorégulation des hépatopathies [144].

4.4.4. Composantes génétiques de l'insulinosécretion

L'hypothèse de facteurs de susceptibilité génétique repose sur des données épidémiologiques : concordance élevée des paires de jumeaux homozygotes (80 à 90 % contre 40 à 50 % pour les paires hétérozygotes), fréquence élevée en présence d'antécédents familiaux (50 % si les 2 parents sont atteints ; 25 à 30 % pour un parent au premier degré, à rapprocher de la prévalence de 3 % observée dans la population générale française). La recherche des mutations en cause est fondée sur la méthode des gènes candidats et le criblage du génome. La première méthode consiste à chercher une association entre la transmission de la maladie et des mutations ou des polymorphismes de gènes codant des protéines impliquées dans l'insulinosécrétion ou contrôlant le développement du pancréas insulaire. Des mutations de gènes candidats exprimés dans la cellule bêta pourraient rendre compte de la prédisposition au DT2 [145]. La deuxième méthode ou criblage du génome (génome scan) repose sur l'étude de cohortes importantes de familles [145]. Des loci qui ne comportent aucun gène spécifique

caractérisé et qui sont associés au DT2 ont été ainsi identifiés selon les populations concernées, sur les chromosomes 2, 11 et 20 [146].

4.4.5. Déterminants génétiques de l'insulinorésistance

Il existe des déterminants génétiques qui contrôlent le métabolisme énergétique, c'est-à-dire en pratique la plus ou moins grande susceptibilité à développer un excès pondéral dans une situation nutritionnelle donnée. Ces facteurs modulent ainsi l'insulinosensibilité [147]. La recherche des mutations en cause est elle aussi fondée sur la méthode des gènes candidats et le criblage du génome, cette recherche été ainsi incriminés des mutations ou des polymorphismes de gènes codant des protéines impliquées dans l'insulinosensibilité et la régulation du métabolisme énergétique. Les résultats du criblage du génome sont pour l'instant décevants, avec une seule association trouvée à ce jour (gène de la calpaïne 10 dans la population américano-mexicaine). Les régions du génome associées au DT2 varient en effet selon les populations étudiées, ce qui souligne le caractère hétérogène de la maladie, et sa nature polygénique. Le DT2 pourrait être lié à l'association de mutations ou de polymorphismes de gènes « mineurs », comme le suggèrent les modèles de souris transgéniques.

5. Conséquences de l'insulinorésistance au niveau des tissus cibles

5.1. Le foie

Dans le foie, l'insuline ne régule pas seulement la production et l'utilisation du glucose, mais affecte également le métabolisme lipidique. Lorsque le taux de glucose circulant augmente et que l'insuline est sécrétée par les cellules β pancréatiques, la liaison de l'insuline aux récepteurs au niveau du foie (INSR) induit à une autophosphorylation du récepteur. Par conséquent, les substrats des IRS sont recrutés et phosphorylés. À leur tour, les IRS activent la PI3K, qui phosphoryle le phosphatidylinositol (4,5) bisphosphate (PIP2), générant du phosphatidylinositol (3,4,5) triphosphate (PIP3). PIP3 active alors PDK1, qui phosphoryle AKT. De plus, l'AKT est phosphorylé par mTORC2. Une fois que l'AKT est complètement activé, il participe à plusieurs voies en aval qui régulent de multiples processus métaboliques, notamment la synthèse du glycogène, la gluconéogenèse, la glycolyse et la synthèse des lipides [148].

Dans les états physiologiques, l'action combinée du glucagon et de l'insuline permet une régulation précise de la production hépatique de glucose. Alors que le glucagon induit la production hépatique de glucose, l'insuline agit comme un puissant inhibiteur de la

production de glucose lorsque sa concentration dans le sang est élevée [149]. L'effet de l'insuline sur la production hépatique de glucose est dû à la fois à des mécanismes directs et indirects. Cependant, l'importance relative de chacun de ces mécanismes reste incertaine [150].

En plus d'induire la synthèse du glycogène, l'insuline inhibe également la production hépatique de glucose en activant le FOXO1, ce qui entraîne une réduction de la libération hépatique de glucose. FOXO1 est un facteur de transcription qui appartient à une sous-classe de la famille des facteurs de transcription forkhead qui possèdent un domaine de liaison à l'ADN de type forkhead box. FOXO1 reconnaît un élément régulateur spécifique appelé l'élément de réponse à l'insuline (IRE) sur les promoteurs des gènes de glucose-6-phosphatase (G6Pase) et de phosphoénolpyruvate carboxykinase (PEPCK), qui jouent tous deux un rôle important dans le maintien du taux de glucose dans les états de famine [151-152]. Ainsi, par l'inhibition de FOXO1, l'insuline favorise le stockage du glucose sous forme de glycogène et inhibe la synthèse du glucose et la production hépatique de glucose [153] (Figure 10).

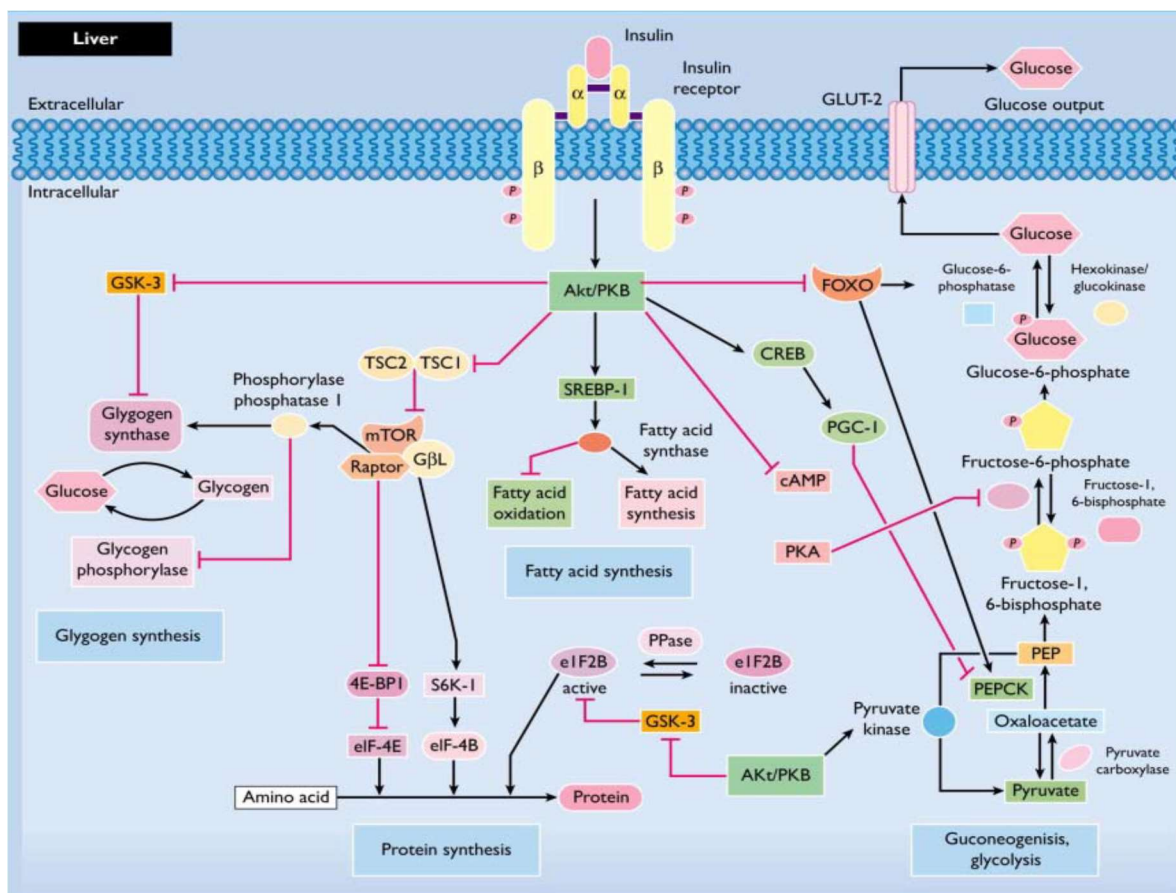


Figure 10: le mécanisme dans le foie [154]

A l'état basal, les protéines FOXO sont localisées dans le noyau et régulent de façon active la transcription des gènes. Après stimulation insulinique, l'activation de la voie de signalisation Akt / PKB entraîne la phosphorylation des FOXO, suivie de leur dissociation avec leur site de fixation à l'ADN, de leur expulsion du

noyau et *in fine* de la forte diminution de l'expression des gènes codant la G6Pase et la PEPCK. Par ailleurs, la protéine SREBP1 (*sterol regulatory element binding protein*), le récepteur nucléaire LXR (*liver X receptor*), le facteur de transcription Sp1 et la protéine co-activatrice PGC1 (*peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1*) contribuent de façon importante à la régulation des gènes impliqués dans la gluconéogenèse, en présence d'insuline.

Les DAGs, qui sont les précurseurs immédiats des triacylglycérols, activent la PKC dans le foie, qui se lie au récepteur de l'insuline et qui diminue la phosphorylation d'IRS2. Ceci entraîne une diminution de la synthèse de glycogène hépatique et une réduction de l'inhibition de la gluconéogenèse hépatique via les voies Akt / GSK3 et Akt / FOXO respectivement. L'activité de la PKC a été montrée augmentée dans le foie des patients atteints de DT2

5.2. Tissus adipeux

Le tissu adipeux est un tissu métaboliquement dynamique capable de synthétiser une large gamme de composés biologiquement actifs qui régulent l'homéostasie métabolique au niveau systémique [155]. En effet, le tissu adipeux participe à un large éventail de processus biologiques impliquant, entre autres, l'immunité, la coagulation, l'angiogenèse, la fibrinolyse, la reproduction, le contrôle du tonus vasculaire, la régulation de l'appétit, l'homéostasie du poids corporel et le métabolisme du glucose et des lipides [156].

L'insuline agit sur le tissu adipeux de deux manières différentes : (1) en stimulant l'absorption du glucose et la synthèse des triglycérides; et (2) la suppression de l'hydrolyse des triglycérides et l'induction de l'absorption d'acides gras libres FFA et de glycérol de la circulation [157].

À l'état nourri, GLUT4 permet l'absorption du glucose de la circulation sanguine dans les adipocytes, activant la glycolyse dans laquelle le glycérol-3-phosphate (glycérol-3-P) est produit et incorporé dans les voies lipogéniques. Le glycérol-3-P, ainsi que les acides gras provenant des VLDL, sont estérifiés, formant du triacylglycérol (TGA) qui est stocké dans des gouttelettes lipidiques. Lors d'un stress métabolique, les gouttelettes de TGA dans l'adipocyte sont épuisées, afin de fournir des acides gras libres à utiliser comme source d'énergie dans d'autres tissus.

Une réponse altérée à la stimulation de l'insuline par le tissu adipeux est connue sous le nom d'IR adipeux (Adipose-IR). L'adipose-IR peut entraîner une diminution de la suppression de la lipolyse, une diminution de l'absorption du glucose et une augmentation de la libération de acide gras libres dans le plasma, même en présence de taux d'insuline élevés [158]. Parmi les éléments de signalisation affectés par l'adipose-IR, nous avons trouvé que l'activation défectueuse de l'AKT altère la translocation de GLUT4 vers la membrane et favorise l'activation des enzymes lipolytiques qui aggravent l'hyperglycémie [159].

L'adipose-IR, comme mentionné précédemment, est associé à une intolérance au glucose et à une libération élevée d'acides gras libres dans un plasma qui s'accumule dans d'autres tissus

tels que les muscles ou le foie. Dans le cas du foie, l'accumulation d'acides gras libres entraîne une altération de la signalisation de l'insuline qui favorise la gluconéogenèse hépatique et altère la réponse insulinique stimulée par le glucose, induisant le développement de DT2.

Il a été démontré qu'une augmentation anormale de la masse du tissu adipeux et de la taille des adipocytes est corrélée à la vascularisation pathologique, à l'hypoxie, à la fibrose et à l'inflammation médiée par les macrophages [160].

Un régime riche en graisses et l'obésité peuvent activer l'adénine nucléotide translocase 2 (ANT2) stimulée par les acides gras libres, une protéine mitochondriale interne qui entraîne une hypoxie adipocytaire et déclenche le facteur de transcription inductible par l'hypoxie facteur-1 α (HIF-1 α). Cela aboutit à un dysfonctionnement du tissu adipeux et à une inflammation [161]. Les adipocytes hypertrophiés ainsi que les cellules immunitaires résidant dans les tissus adipeux contribuent à l'augmentation des taux circulants de cytokines pro-inflammatoires. Cette augmentation des molécules pro-inflammatoires circulantes, associée à une augmentation des libérations locales de cytokines telles que le TNF et l'IL-1 β et l'IL-6, facilite l'émergence d'un état chronique d'inflammation systémique de bas grade, également appelée inflammation métabolique [161]. Cet état inflammatoire chronique est considéré comme un élément clé dans la pathogenèse de l'IR et du DT2 [162]. Les effets de la stimulation de l'insuline sur le tissu adipeux sain et hypertrophique sont illustrés à la (Figure 11) [154].

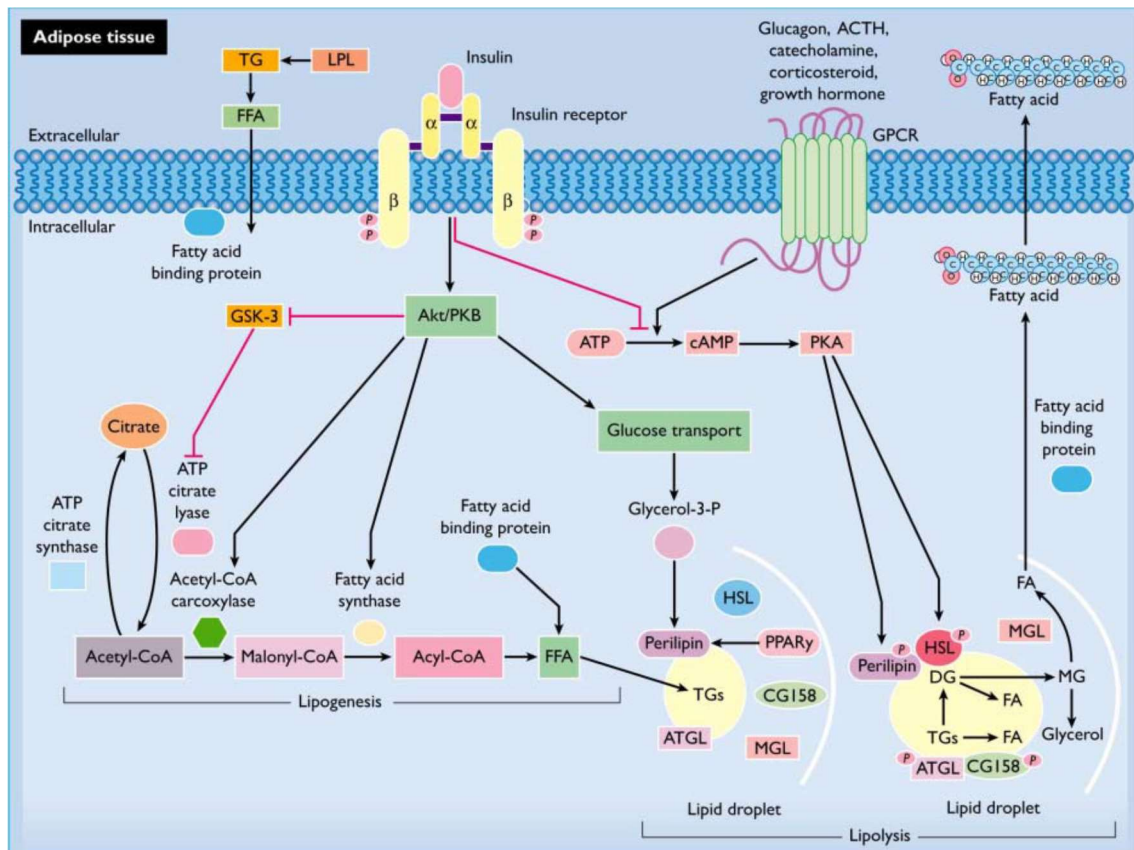


Figure 11: Le mécanisme dans le tissu adipeux [154]

Lipogenèse : l'insuline active la voie Akt / PKB par phosphorylation, inhibant GSK3 et augmentant constitutivement l'activité de l'ATP cytrate lyase qui stimule la conversion du citrate en acétyl-CoA dans le cytosol. L'acétyl-CoA peut ensuite être utilisé pour la synthèse d'acide gras. Par ailleurs, l'insuline induit l'expression de deux protéines clés de la lipogenèse : l'acide gras synthase (FAS pour *fat acide synthase*) et SREBP1 (*sterol regulatory element binding protein*). La FAS est l'enzyme centrale participant à la lipogenèse *de novo* et catalyse la conversion de malonyl-CoA et d'acétyl-CoA en acides gras à longues chaînes. La protéine SREBP1 active nombre de gènes impliqués dans la capture et la synthèse d'acides gras et de triacylglycérides.

Lipolyse : permet la mobilisation du stock de TG accumulé dans les adipocytes. L'action de 3 lipases est nécessaire à l'hydrolyse d'un triglycéride en 3 molécules d'AGNE et une molécule de glycérol. Adipose TG lipase (ATGL), hormone sensitive lipase (HSL) et monoacylglycerol lipase (MGL) permettent successivement d'hydrolyser le TG en diacylglycérol, monoacylglycérol, une molécule d'acides gras et de glycérol. Ces réactions libèrent 3 AG libres non-estérifiés qui seront soit ré-estérifiés en TG au sein de l'adipocyte même soit relargués dans la circulation et utilisés à des fins énergétiques par d'autres cellules.

5.3. Le muscle squelettique

La résistance à l'insuline des muscles squelettiques est considérée comme le facteur extra-pancréatique le plus important dans le développement du DT2 [163]. Physiologiquement, l'insuline stimule la synthèse du glucogène musculaire en augmentant l'absorption du glucose par le plasma. Il existe trois principaux facteurs limitant la vitesse de l'absorption impliqués dans la synthèse de glucose GLUT4 [164]. Lors de la liaison de l'insuline à son récepteur dans les cellules musculaires (endosomes précoces), compartiment de recyclage endosomal et

le réseau trans-golgi vers la membrane plasmique ce processus permet l'absorption du glucose et réduit le taux de glucose circulant [165]

Les mutations qui réduisent l'expression du récepteur de l'insuline ou GLUT4, ainsi que tout défaut dans la voie de signalisation en amont ou en aval, réduiraient l'apport de glucose dans le muscle entraînant un état hyperglycémique [159,166]. L'activation de l'activité de la tyrosine kinase INSR est essentielle pour l'action de l'insuline sur le métabolisme du glucose. La liaison de l'insuline à la sous-unité α de l'INSR provoque la phosphorylation de la sous-unité β sur plusieurs résidus tyrosine et permet une signalisation à médiation par l'insuline. Ainsi, des mutations dans l'un des principaux sites de phosphorylation peuvent altérer l'activité de la tyrosine kinase INSR, altérant ainsi l'action de l'insuline sur le muscle squelettique [167]. Comme mentionné ci-dessus, des mutations dans des protéines clés de la voie de signalisation en aval telles que IRS-1 et IRS-2 ou la phosphoinositide 3-kinase (PI3K) altèrent également l'action de l'insuline sur le muscle. Outre les mutations ou une régulation épigénétique défectueuse, les facteurs environnementaux peuvent également jouer un rôle important dans la captation du glucose par les muscles. L'activité physique augmente le flux sanguin dans les cellules musculaires squelettiques et améliore ainsi l'utilisation du glucose [168]. L'obésité, associée à une inflammation chronique, contribue à l'IR et au DT2. De plus en plus de preuves suggèrent qu'en raison de l'obésité, une augmentation de l'infiltration des cellules immunitaires et de la sécrétion de molécules pro-inflammatoires dans le tissu adipeux intermyocellulaire et péri musculaire entraîne une inflammation des muscles squelettiques. Cela conduit finalement à une inflammation des myocytes, une altération du métabolisme des myocytes et contribue à l'IR via des effets paracrines [169].

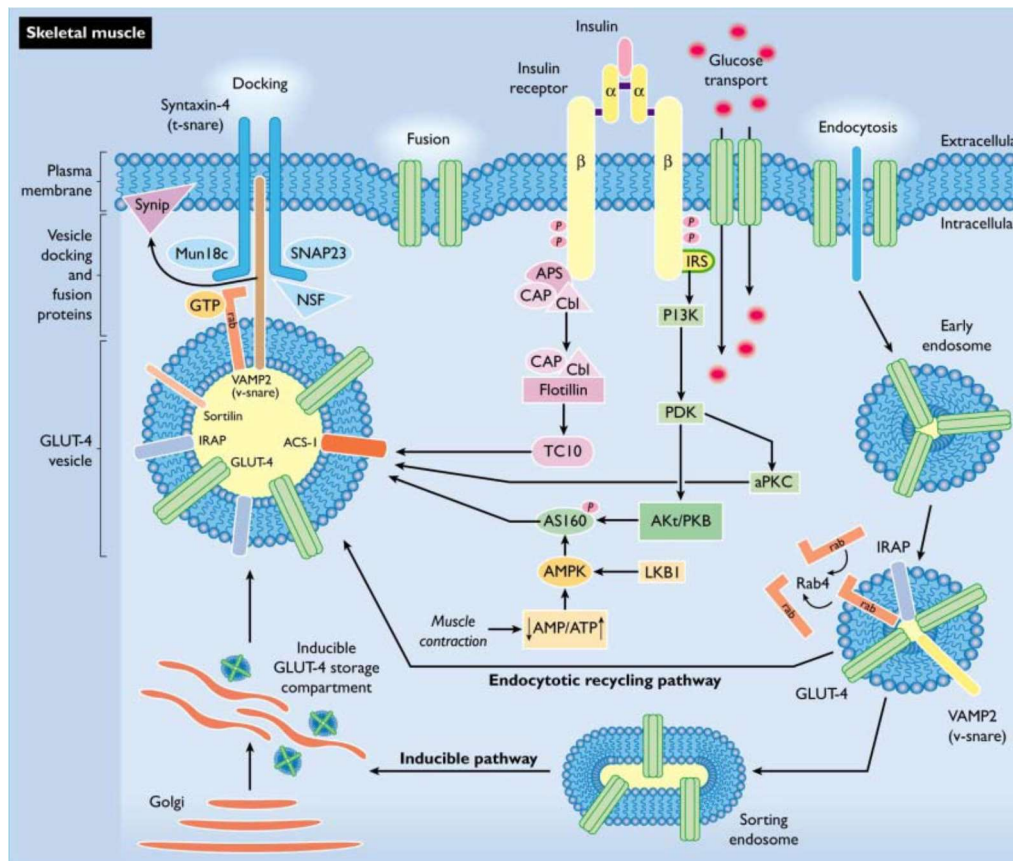


Figure 12: Mécanisme dans le muscle squelettique [154]

-phosphorylation des tyrosines situées dans IRS1 et l'activation de la voie de la PI3 kinase / PDK1 qui contribue à la translocation de GLUT4 à la surface de la cellule GLUT4 constitue le transporteur principal du glucose lors d'une stimulation insulínique. Une diminution de la translocation des transporteurs du glucose GLUT4 et GLUT1, consécutive d'une suractivation du métabolisme glucidique, et en particulier de la voie conduisant à la synthèse des hexosamines. Cette voie permet de former de l'UDP-N-acétylglucosamine utilisé comme substrat pour la synthèse de protéoglycannes, de glycoprotéines et de glycolipides.

-Les flèches représentent des activations alors que les flèches bloquées représentent une inhibition.

IV. LES COMPLICATIONS DU DIABETE DE TYPE 2

1. Les complications macrovasculaires :

L'hyperglycémie est un facteur de risque des maladies cardiovasculaires majeur. Les complications cardiovasculaires sont les plus communes et les plus dévastatrices conséquences du diabète, et sont la cause principale d'admission à l'hôpital et par la suite de décès chez les patients diabétiques [170]. Un attribut principal des complications cardiovasculaires diabétiques est une athérosclérose accélérée associée à un stress oxydatif, une résistance à l'insuline, et un syndrome métabolique [171].

L'athérosclérose se caractérise par le dépôt d'une plaque essentiellement composée de lipides (on parle d'athérome) sur la paroi des artères. À terme, ces plaques peuvent entraîner la lésion de la paroi artérielle (sclérose), conduire à l'obstruction du vaisseau, ou encore se rompre,

avec des conséquences souvent dramatiques. La première cause de mortalité chez le diabétique est d'ailleurs d'origine cardiovasculaire (infarctus du myocarde et accident ischémique vasculaire cérébral) .

Les connaissances actuelles suggèrent que l'évènement initial dans la pathogenèse de l'athérosclérose est une atteinte endothéliale, suivi par une adhésion et agrégation plaquettaire [172]. Des cytokines et d'autres médiateurs de l'inflammation sont produits en excès et stimulent la migration et la prolifération des cellules musculaires lisses dans l'intima vasculaire ainsi que le dépôt des constituants de la matrice extracellulaire tels que le collagène et l'élastine, conduisant à une formation fibreuse et à l'extension de la plaque d'athérome. Ces formations fibreuses peuvent s'affaiblir et céder, exposant ainsi des tissus extrêmement thrombogéniques. La rupture de plaque induit une formation de thrombus encore plus importante et le relargage de médiateurs inflammatoires encore plus poussé. Ceci cause la progression de la plaque athérosclérotique, ce qui finalement résulte en une occlusion luminale. Des évènements dramatiques tels qu'un infarctus du myocarde ou des accidents ischémiques peuvent apparaître [173]. L'athérosclérose est donc associée avec des dommages endothéliaux, un nombre réduit de progéniteurs endothéliaux circulant, un déficit dans la réparation vasculaire ainsi qu'une altération de la contraction ventriculaire [172]. Le diabète altère les fonctions de la paroi artérielle et est ainsi à l'origine d'une dysfonction endothéliale par diminution de la production de NO [174]. Il induit des phénomènes inflammatoires qui initient l'athérosclérose. De plus, les anomalies lipidiques qui accompagnent le DT2 participent majoritairement à tous les phénomènes d'athérogénèse.

2. Les complications micro-vasculaires :

À long terme l'hyperglycémie est néfaste pour nombreux types cellulaires, ce qui conduit à de nombreuses pathologies au niveau de plusieurs organes. Parmi les cibles principales des complications liées à l'hyperglycémie chronique on cite : l'endothélium vasculaire. On distingue les complications vasculaires du diabète en fonction du diamètre des vaisseaux atteints en macro et micro-vasculaires. Les complications macrovasculaires concernent la détérioration des vaisseaux par des mécanismes tels que l'athérosclérose et l'hypertension. Elles touchent principalement les artères coronaires et les artères des membres inférieurs. Les complications microvasculaires affectent la rétine (rétinopathie), le rein (néphropathie) et agissent sur la cicatrisation. L'hyperglycémie affecte également les nerfs conduisant à la neuropathie diabétique [175-176].

2.1. Complications chroniques :

2.1.1. Néphropathie

La néphropathie diabétique représente la principale cause d'insuffisance rénale dans les sociétés occidentales [177]. Cliniquement, elle se caractérise par l'apparition d'une protéinurie suivie d'une baisse du débit de filtration glomérulaire, qui progresse sur une longue période, souvent sur 10 à 20 ans. Si elle n'est pas traitée, l'urémie qui en résulte est fatale [178]. Il est important de noter que la maladie rénale est également un facteur de risque majeur pour le développement de complications macrovasculaires telles que les crises cardiaques et les accidents vasculaires cérébraux [179]. L'hypertension [180] et le mauvais contrôle de la glycémie précèdent souvent la néphropathie diabétique manifeste [181], bien qu'un sous-ensemble de patients développe une néphropathie malgré un bon contrôle de la glycémie [182], et une pression artérielle normale. Une fois la néphropathie établie, on observe souvent une augmentation de la pression artérielle, mais paradoxalement, à court terme, il peut y avoir des améliorations du contrôle glycémique en raison de la réduction de la clairance rénale de l'insuline par le rein [183].

Le développement et la progression de la néphropathie sont très complexes étant donné la diversité des populations cellulaires présentes dans le rein et les différents rôles physiologiques de cet organe. En effet, en dehors de la filtration des toxines du sang en vue de leur excrétion, le rein est un élément essentiel du système de santé. Pour être excrétées, il est difficile d'identifier les autres aspects fonctionnels du rein qui sont les plus touchés. Autres aspects fonctionnels du rein sont les plus affectés par le diabète. Il s'agit notamment de la libération d'hormones telles que l'érythropoïétine, de l'activation de la vitamine D et du contrôle aigu de l'hypoglycémie, en particulier dans les cas de diabète sucré. L'hypoglycémie, en plus du maintien de l'équilibre hydrique et de la pression sanguine par la réabsorption du sel [184]. Des concentrations élevées de glucose induisent des effets cellulaires spécifiques qui affectent diverses cellules rénales résidentes, notamment les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses, les cellules mésangiales, les podocytes, les cellules du système tubulaire et du canal collecteur, ainsi que les cellules inflammatoires et les myofibroblastes.

2.1.2. Rétinopathie

La rétinopathie diabétique se caractérise par un spectre de lésions au sein de la rétine et constitue la principale cause de cécité chez les adultes âgés de 20 à 74 ans [185-186]. Ces lésions comprennent des modifications de la perméabilité vasculaire, des microanévrismes capillaires, une dégénérescence capillaire et une formation excessive de nouveaux vaisseaux

sanguins (néovascularisation). La rétine neurale est également dysfonctionnelle avec la mort de certaines cellules, ce qui modifie l'électrophysiologie rétinienne et entraîne une incapacité à discriminer les couleurs. Sur le plan clinique, la rétinopathie diabétique se divise en deux stades, non prolifératif et prolifératif. Aux premiers stades, l'hyperglycémie peut entraîner la mort des péricytes intramuraux et l'épaississement de la membrane basale, ce qui contribue à modifier l'intégrité des vaisseaux sanguins dans la rétine, altérant la barrière hémato-rétinienne et la perméabilité vasculaire [185]. À ce stade initial de la rétinopathie diabétique non proliférante (NPDR), la plupart des gens ne remarquent aucune déficience visuelle.

La dégénérescence ou l'occlusion des capillaires rétiniens sont fortement associées à une aggravation du pronostic [187], ce qui est très probablement le résultat d'une ischémie suivie d'une libération ultérieure de facteurs angiogéniques, notamment ceux liés à l'hypoxie. Cela fait progresser la maladie vers la phase proliférative où la néovascularisation et l'accumulation de liquide dans la rétine, appelée œdème de la macula, contribuent à la déficience visuelle. Dans les cas plus graves, il peut y avoir des hémorragies avec une déformation associée de l'architecture rétinienne, y compris le développement d'une membrane fibrovasculaire qui peut ensuite entraîner un décollement de la rétine [185].

2.1.3. Neuropathie

Plus de la moitié des personnes atteintes de diabète finissent par développer une neuropathie [188], avec un risque à vie d'une ou de plusieurs d'une ou plusieurs amputations des membres inférieurs, estimé dans certaines populations à 15 %. La neuropathie diabétique est un syndrome qui englobe à la fois les divisions somatiques et autonomes du système nerveux périphérique. Cependant, on reconnaît de plus en plus que les lésions de la moelle épinière [189] et du système nerveux central supérieur [190] peuvent également survenir. et que la neuropathie est un facteur majeur dans les troubles de la cicatrisation des plaies, des troubles de l'érection et des dysfonctionnements cardiovasculaire observés dans le diabète. La progression de la maladie dans la neuropathie était traditionnellement caractérisée cliniquement par le développement d'anomalies vasculaires, telles que l'épaississement de la membrane basale capillaire et l'hyperplasie endothéliale avec une diminution ultérieure de la tension d'oxygène et une hypoxie. Les inhibiteurs du système rénine-angiotensine et les antagonistes des récepteurs 1- améliorent la vitesse de conduction nerveuse dans le contexte clinique, ce qui est supposé être le résultat d'une augmentation du flux sanguin neuronal. du flux sanguin neuronal.

La neuropathie avancée due à la détérioration des fibres nerveuses dans le diabète est caractérisée par des altération des sensibilités aux vibrations et des seuils thermiques, qui évoluent vers une perte de la perception sensorielle. L'hyperalgésie, la paresthésie et l'allodynie apparaissent également chez une partie des patients, avec une douleur évidente chez 40 à 50 % des personnes atteintes de neuropathie diabétique. La douleur est également présente chez certaines personnes diabétiques sans signe clinique de neuropathie (10-20%), ce qui peut sérieusement entraver la qualité de vie [191].

2.1.4. Maladies cardiovasculaires :

Le risque de maladie cardiovasculaire (MCV) est accru chez les diabétiques, de sorte qu'un individu diabétique présente un risque d'infarctus du myocarde équivalent à celui d'individus non diabétiques ayant déjà subi un infarctus du myocarde [192]. Les MCV représentent plus de la moitié de la mortalité observée dans la population diabétique [192-193] et le diabète équivaut à un risque d'infarctus du myocarde environ trois fois plus élevé que dans la population générale [194]. Dans le cas du diabète de type 1, il n'est pas courant de voir l'évolution vers une MCV sans une altération de la fonction rénale [195-196]. Dans le diabète de type 2, la maladie rénale reste un facteur de risque majeur de MCV prématurée, en plus de la dyslipidémie, d'un mauvais contrôle glycémique et d'une élévation persistante de la pression artérielle.

2.2. Les complications aiguës du diabète de type 2 :

2.2.1. L'acidocétose

L'acidocétose est une aggravation du diabète, associé à une déficience en insuline absolue ou relative [198]. Elle touche surtout les diabétiques de type 1 mais aussi certains diabétiques de type 2, elle peut apparaître en cas d'omission d'insuline, de stress physiologique (infection, chirurgie, infarctus du myocarde...) [199]. En absence d'insuline, les cellules du corps sont privées de glucose qui reste piégé dans le compartiment sanguin. En réaction, le tissu adipeux stimule la lipolyse, ce qui aboutit à une libération d'acides gras libres dans le sang [200]. Ces acides gras sont absorbés puis transformés en Acétyl-CoA par les cellules du corps, ce qui leur procure l'énergie dont elles ont besoin. L'Acétyl-CoA est dégradé en corps cétoniques libérés en quantité excessive dans le sang puis dans les urines [201]. Une acidocétose sévère peut entraîner une léthargie et une dépression du système nerveux central aboutissant éventuellement à un coma [202]

2.2.2. Coma hyperosmolaire

Le coma hyperosmolaire est une forme de coma qui touche essentiellement les diabétiques de type 2 d'un âge avancé. Il se caractérise surtout par une hyperglycémie, une polyurie, une insuffisance rénale et une forte déshydratation. Ces symptômes s'installent en plusieurs jours et conduisent à un collapsus, à des infections pulmonaires et à des convulsions. La première mesure consiste à traiter la baisse de volume sanguin (hypovolémie) en injectant un sérum salé isotonique [203].

2.2.3. Acidose lactique

L'acidose lactique est une complication grave, liée à l'emploi des antidiabétiques appartenant à la famille des biguanides. Elle consiste en l'accumulation d'acide lactique, responsable de crampes musculaires, de troubles digestifs, et de fatigue, de respiration difficile. Ces symptômes ne doivent pas être confondus avec les crampes observées après un effort ou après la prise de certains diurétiques. L'acidose lactique est favorisée par une insuffisance rénale, par une insuffisance hépatique grave, par un surdosage en biguanides, par les boissons alcoolisées ou par un jeûne prolongé [203].

CHAPITRE 2 : PRÉDISPOSITION GÉNÉTIQUE DU DIABÈTE DE TYPE DEUX

Comme déjà précisé, le DT2 est une maladie multifactorielle dont la génétique paraît jouer un rôle important. En effet plusieurs gènes ont été objet d'étude pour essayer de définir un profil de prédisposition génétique au DT2.

Ce pendant et afin de mieux comprendre les études qui ont été réalisées, quelque notion basique méritent d'être précisées.

I.POLYMORPHISME GENETIQUE

Les polymorphismes génétiques sont les formes différentes que peut prendre un même gène. Cela sous-entend la coexistence de plusieurs allèles pour un gène ou locus donné, dans une population [204]. Ces polymorphismes peuvent être qualitatifs par changement de la succession de bases et remplacement d'une ou de plusieurs bases par d'autres, quantitatifs par les délétions, les insertions ou les répétitions.

Le polymorphisme d'un seul nucléotide, ou SNP (prononcé "snip") est l'un de ces polymorphismes (Figure 13) ; cette variation doit être située à un endroit spécifique du génome et apparaître sur une proportion supérieure à 1 % de la population pour être caractérisée comme SNP. Pour cela il a été attribué un numéro unique d'identification dans le génome appelé « rs » qu'on peut ainsi trouver dans les bases de données génétique de références (dbSNP, 2017 ; HapMap, 2017 ; NCBI,2017). [205-206]. Il s'agit d'une variation très fréquente (environ une paire de bases sur mille dans le génome humain) [207]. Ces SNP peuvent parfois provoquer des changements qualitatifs et quantitatifs de certaines protéines (structurelles ou fonctionnelles) d'où l'intérêt de les étudier.

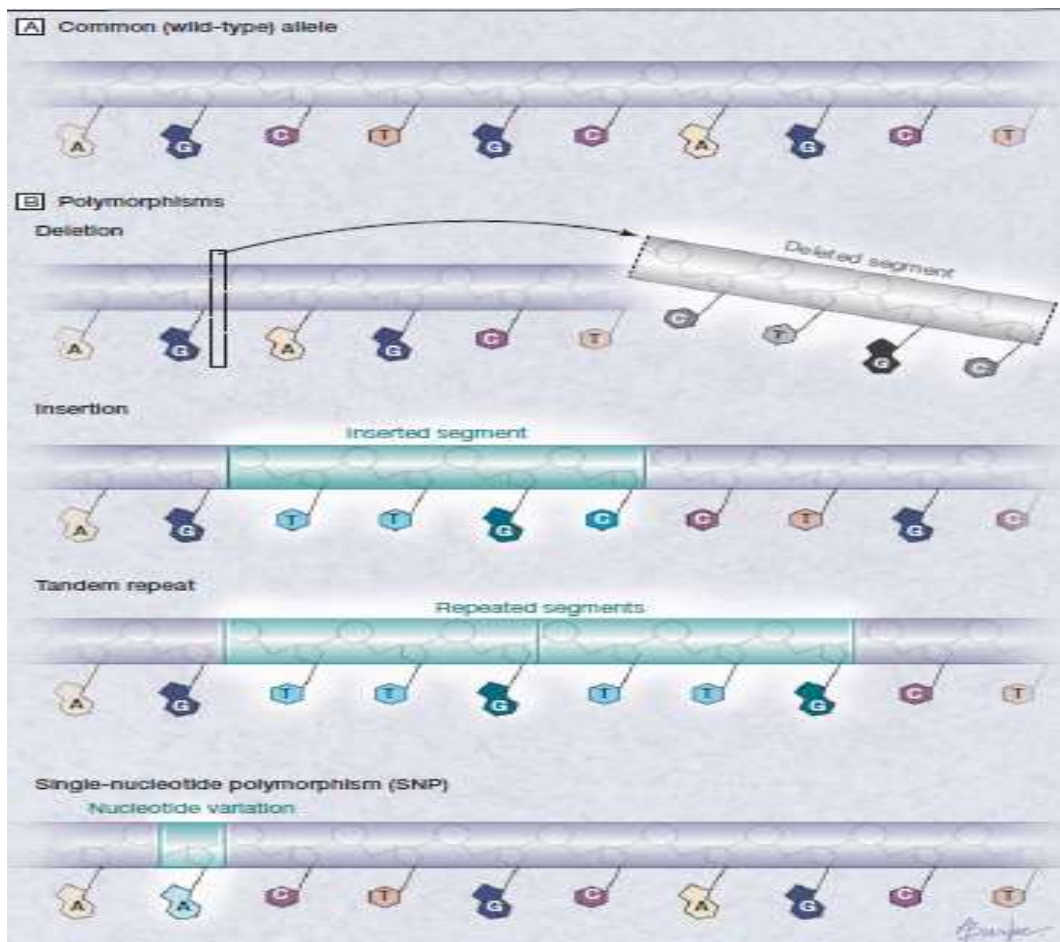


Figure 13: les 4 formes des polymorphismes

1. Les études d'association pangénomiques ou « Genome Wide Association Studies » ou GWAS

1.1. Qu'est-ce qu'une étude GWAS ?

Le développement de nouvelles technologies de génotypage (notamment les puces à ADN) et de séquençage à haut débit à partir des années 2000 a ouvert la voie à l'obtention rapide d'un très grand nombre de génotype. Il est alors devenu envisageable de génotyper un grand nombre de marqueurs génétiques chez un grand nombre de sujets. Cette opportunité technologique a ouvert la voie au Genome wide association study (GWAS) qui se résume à une étude d'association à très grande échelle. En effet la méthode consiste à génotyper un maximum de marqueurs génétiques (de 317.000 à 1.000.000 selon le type de puce à ADN) chez un grand nombre de sujets atteints de la maladie génétique « complexe » et un grand nombre de sujets témoins. Des études d'association sont alors réalisées entre un allèle donné d'un SNP et le phénotype « malade » ou « non malade » ; elle repose donc sur le déséquilibre de liaison génétique qui existe au sein du génome humain entre un allèle d'un marqueur génétique (SNP) et un variant génétique potentiellement impliqué dans la maladie, variant qui

constitue une partie du déterminisme génétique de la maladie « complexe ». La logique de GWAS est « une maladie commune, des variants communs » ; ce qui sous-entend que les maladies communes (comme DT2) sont probablement dues à plusieurs SNP présents chez la population étudiée.

1.2. Les gènes candidats à la prédisposition au DT2

Les chercheurs effectuant des études d'association génétique peuvent cibler des gènes à étudier en fonction de la biologie connue et des résultats antérieurs ; une approche connue sous le nom d'association de gènes candidats. Alternativement, ces dernières années, ils peuvent cribler le génome entier pour les associations, une approche qui a transformé le domaine des études d'association génétique.

Les chercheurs étudient désormais des centaines de milliers de SNP sur l'ensemble du génome, sans aucune hypothèse préalable sur les mécanismes ou les candidats potentiels. Ce type d'étude appelée "agnostique" ou "association à l'échelle du génome" ou GWAS, a considérablement accéléré le rythme de la découverte d'associations génétiques [208-209]. Le fait de tester simultanément un si grand nombre de gènes potentiels comporte le risque de trouver de nombreuses associations erronées. C'est pour cette raison, les SNP qui semblent avoir des signaux statistiques forts ou suggestifs dans une étude GWAS initiale sont ensuite testés pour être identifiés dans d'autres grands ensembles de données ou études. Pour s'assurer que les découvertes ne sont pas seulement statistiques, les études de confirmation sont souvent publiées en même temps que des données initiales. La différence entre les études gènes candidats et les études GWAS agnostiques peuvent devenir floues, et les 2 types d'études ne s'excluent pas mutuellement : Les études GWAS proposent de nouveaux candidats pour la réplication mais peuvent aussi interroger candidats traditionnels. [210]

Tableau III: les différents gènes étudiés par l'étude GWAS prédisposant au développement de DT2

gène	Chr	SNP	identification	OR	population	Année
KCNJ11	11	rs5219	Gene candidat	1.14	Europe	1998
PPARG	3	rs18012182	Gene candidat	1.14	Europe	2000
WFS1	4	rs10010131	Gene candidat	0.90	Europe	2002
HNF1B	17	rs7501939	Gene candidat	0.91	Europe	2006
TCF7L2	10	rs7901695	Gene candidat	1.37	Europe	2006
SLC30A8	8	rs13266634	Gene candidat	1.18	Europe	2007
HHEX	10	rs7923837	Gene candidat	1.22	Europe	2007
CDKN2A/ B	9 6	rs10811661 rs10946398	Gene candidat Gene candidat	1.20 1.12	Europe Europe	2007 2007
CDKAL1	3	rs4402960	Gene candidat	1.17	Europe	2007
IGF2BP2	16	rs9939609	Gene candidat	1.27	Europe	2007
FTO	11	rs2283228	Gene candidat	1.26	Europe	2008
KCNQ1	1	rs10923931	Gene candidat	1.13	Europe	2008
NOTCH2 CDC123	10	rs12779790		1.11	Europe	2008
ADAMTS 9	3 2	rs4607103 rs7578597	Gene candidat Gene candidat	1.09 1.15	Europe Europe	2008 2008
THADA	12	rs7961581	Gene candidat	1.09	Europe	2008
TSPAN8	7	rs864745	Gene candidat	1.10	Europe	2008
JAZF1	11	rs10830963	Gene candidat	1.09	Europe	2009
MTNR1B	2	rs2943641	Gene candidat	1.19	Europe	2009
IRS1 BCL11A	2	rs243021	Gene candidat	1.08	Europe	2010
ZBED3	5	rs4457053	Gene candidat	1.08	Europe	2010
KLF14	7	rs972283	Gene candidat	1.07	Europe	2010
TP53INP1	8	rs896854		1.06	Europe	2010
CHCHD9	9	rs13292136	Gene candidat	1.11	Europe	2010
KCNQ1	11	rs231362	Gene candidat	1.08	Europe	2010
CENTD2	11	rs1552224		1.14	Europe	2010
HMGA2	12	rs15313433		1.10	Europe	2010
HNF1A	12	rs7957197	Gene candidat	1.07	Europe	2010
ZFAND6	15	rs11634397	Gene candidat	1.06	Europe	2010
PRC1	15	rs8042680	Gene candidat	1.07	Europe	2010
DUSP9	X	rs5945326	Gene candidat	1.27	Europe	2010
UBE2E2	3	rs6780569	Gene candidat	1.21	Japon	2010
C2CD4A	15	rs7172432	Gene candidat	1.14	Japon	2010
RBMS1	2	rs7593730	Gene candidat	0.90	Europe	2010
13q31.1	13	rs1359790	Gene candidat	1.15	Asie de	2010
PTPRD	9	rs17584499	Gene candidat	1.57	l'Est	2010
SRR	17	rs391300	Gene candidat	1.28	Chine	2010
GCK	7	rs4607517	Gene candidat	1.07	Chine	2010
DGKB	7	rs2191349	Gene candidat	1.06	Europe	2010
GCKR	2	rs780094	Gene candidat	1.06	Europe	2010
ADCYS	3	rs11708067	Gene candidat	1.12	Europe Europe	2010
PROX1	1	rs340874	Gene candidat	1.07	Europe	2010
GRB14	2	rs3923113	Gene candidat	1.08	Asie de sud	2011
HMG20A	15	rs7178572	Gene candidat	1.08	Asie de sud	2011
ST6GAL1	3	rs16861329	Gene candidat	1.08	Asie de sud	2011
VPS26A	10	rs1802295c		1.07	Asie de sud	2011
AP3S2	15	rs2028299		1.08	Asie de sud	2011

HNF4A	20	rs4812829		1.09	Asie de sud	2011
MEAE	4	68815464	GWA meta-analysis	1,13	East Asian	2011
GLIS3	9	7041874		1,10	East Asian	2011
FITM2	20	6017317	GWA meta-analysis	1,09	East Asian	2011
GCCI	7	6467136	GWA meta-analysis	1,11	East Asian	2011
PSMD6	3	831571		1,09	East Asian	2011
ZFAND3	6	9470794	GWA meta-analysis	1,12		2011
PEPD	19	3786897		1,10		2011
KCNK16	6	1535500	GWA meta-analysis	1,08	East Asian	2011
ZMIZ1	10	12571751	- GWAs meta-analysis	1,08	Mostly european	2012
ANK1	8	516946		1,09	Mostly	2012
KLHDC5	12	10842994	GWAs meta-analysis	1,10		2012
TLE1	9	2796441	GWAs meta-analysis	1,07		2012
ANKRD55	5	459193		1,08		2012
CLIP2	19	10401996	GWAs meta-analysis	1,13		2012
MCR	18	12970134	GWAs meta-analysis	1,08	europe	2012
BCAR1	16	7202877		1,12	europe	2012
GATAD2A	19	3794991	GWAs meta-analysis	1,12	M. ancetres	2012
ANK1	8	515071	GWAs meta-analysis	1,18	japon	2012
RND3	2	7560163		0,75	afrique	2012
TMEM163	2	6723108	GWAs meta-analysis	1,31	inde	2013
PAX4	7	10229583	GWAs meta-analysis	1,18	chine	2013
GRKS	10	10886471	GWAs meta-analysis	1,12	Chine	2013
RASGRP1	15	7403531		1,10	Chine	2013
TMEM154	4	6813195	GWAs meta-analysis	1,08	M. ancêtres	2014
SSR1	6	9505118	GWAs meta-analysis	1,06	M. ancêtres	2014
FAF1	1	17106184		1,10	M. ancêtres	2014
POUSF1	6	3130501	GWAs meta-analysis	1,07	M. ancêtres	2014
LPP	3	6808574	GWAs meta-analysis	1,07	M. ancêtres	2014
ARL15	5	702634	GWAs meta-analysis	1,06	M. ancêtres	2014
MPHOSPH9	12	4275659		1,06	M. ancêtres	2014
MIR129	7	791595	GWAs meta-analysis	1,17	Japon	2014
GPSM1	9	11787792	GWAs meta-analysis	1,15	Japon	2014
SLC16A13	17	312457		1,20	Japon	2014
SLC16A11	17	(17p13.1)	GWAs meta-analysis	1,29	mexique	2014

Les études GWAS ont permis d'identifier des variants génétiques familiaux et de découvrir de nombreuses mutations causales pour les formes monogéniques de diabète tel que le diabète de type MODY. Le premier gène de susceptibilité au DT2 découvert par cette méthode en 2000 dans la population mexicaine-américaine, fut CAPN10 (Calpain-10) [211] mais cette association n'a jamais été répliquée. Reynisdottir et al. ont montré en 2003, également grâce à cette méthode, que des SNPs du gène TCF7L2 (Transcription factor 7-like 2) étaient associés au DT2 ainsi qu'à une diminution de la sécrétion d'insuline [212]. Ce type d'étude a permis

de montrer que les variants des gènes PPARG (P12A) (Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma) et KCNJ11 (E23K) sont deux gènes de susceptibilité au DT2 [213-214].

Sept gènes ont été identifiés comme étant liés aux résultats cliniques de la metformine avec le code de preuve le plus élevé, notamment SLC22A1, SLC22A2 et SLC47A1, ainsi que quatre gènes liés à la pharmacodynamique de la metformine (STK11, ATM, PRKAA2, SHBG). Quinze autres gènes étaient liés à la pharmacocinétique ou à la pharmacodynamique de la metformine, notamment SLC47A2, SLC22A3 et SLC29A4. Aucun de ces gènes n'a montré un enrichissement significatif dans l'ensemble de données GWAS, mais un ensemble de gènes dont l'expression est affectée par la metformine, qui était dans la catégorie la moins prioritaire, a montré un enrichissement significatif avec la réponse glycémique à la metformine. Cet ensemble de gènes comprenait de nouveaux gènes candidats tels que SLC2A4 et G6PC qui codent respectivement pour GLUT4 et la glucose 6-phosphatase.

Il existe d'autres gènes pour expliquer la variation génétique de la prédisposition au DT2. Ce sont des gènes dans la transduction des signaux, dans la prolifération cellulaire, la régulation du cycle circadien et la détection du glucose qui sont présentés dans le **tableau III**:

Il serait utopique et illusoire de vouloir traiter tous gènes candidats à la prédisposition du DT2 ; en conséquence nous allons nous limiter au gène le plus couramment étudié et dont les preuves d'association avec le DT2 sont puissantes. Nous nous limitons donc au gène TCF7L2 (Transcription Factor 7 Like 2).

1.3. Association du gène TCF7L2 et la prédisposition au diabète de type 2

TCF7L2 est un facteur de transcription nucléaire qui est impliqué dans une voie de signalisation wnt responsable de l'homéostasie et du développement cellulaire. Des anomalies dans cette signalisation, comme toute variation de ses composants, ont été impliquées dans divers dysfonctionnement de développement et des maladies humaines telles que le DT2 et le cancer [215-216]. Le gène Humain TCF7L2 s'étend sur 216063 nucléotides, il est localisé au niveau du chromosome 10 en région q25.3 5 [217], il est composé de 17 exons dont cinq sont alternativement épissés (4, 13, 14, 15 ; et 16) séparés par 16 introns. Ce gène peut générer 13 transcrit différents codant pour deux formes de la protéine TCF7L2, une forme courte de taille de 58kDa et une forme longue de 78kDa [218-219] (**figure 14**).

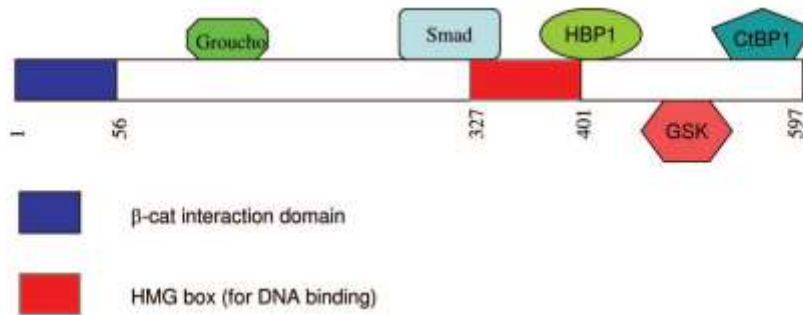


Figure 14: Structure de la protéine TCF [220]

La protéine TCF7L2 est constituée de deux domaines principaux, dont le domaine de liaison β -cat à l'extrémité N-terminale ainsi que la boîte HMG pour la liaison à l'ADN. En outre, TCF7L2 se lie à un certain nombre d'autres facteurs, tels que. SNP, HMG, et HBP1, facteur de transcription HMG-box 1.

Le TCF7L2 est un membre de la famille de TCF des facteurs de transcription impliqué dans le contrôle de la croissance cellulaire et la signalisation en aval de la famille de récepteur wnt [221]. Il était au paravent surtout connu pour son association avec le développement des cancers de prostate et du colon [222-223].

L'activation de la voie wnt entraîne la libération de la caténine d'un complexe inhibiteur et sa translocation vers le noyau, où elle se lie avec TCF7L2 et d'autres facteurs TCF similaires [224]. La fonction de ce complexe transcriptionnel peut agir comme un activateur ou répresseur de la transcription [224]. Au niveau du pancréas, le TCF7L2 et la voie de signalisation wnt sont essentiels à la prolifération de l'épithélium pancréatique [225]. Il a été démontré qu'une signalisation accrue conduisait à la prolifération des îlots [226], alors qu'un dysfonctionnement de la signalisation β -caténine conduit à une hypoplasie pancréatique [227], la stabilisation de β -caténine entraîne la formation de grandes tumeurs pancréatiques [228].

Peu d'études sont menées sur le rôle de TCF7L2 sur la sécrétion de l'insuline dans des îlots isolés. Une étude de Shu et al a rapporté que l'inhibition de TCF7L2 a entraîné une forte suppression de la sécrétion d'insuline dans les îlots de Langerhans chez les souris [229]. À l'inverse la surexpression de TCF7L2 a stimulé la sécrétion de l'insuline ce qui n'était pas démontré dans l'étude de Shu et al [230]. Une autre étude a évalué l'effet de la suppression et le blocage de TCF7L2 sur la fonction des cellules en utilisant une série impressionnante de techniques physiologiques cellulaires [231]. Ces études confirment que l'extinction de TCF7L2 exerce un fort effet inhibiteur sur la sécrétion d'insuline induite par le glucose. En revanche l'insuline déclenchée par un taux élevé de K^+ extracellulaire n'était pas affectée.

Contrairement à ce qui a été observé dans l'étude de Shu et al ; l'expression de TCF7L2 n'a pas influencé la sécrétion d'insuline (**Figure 15**).

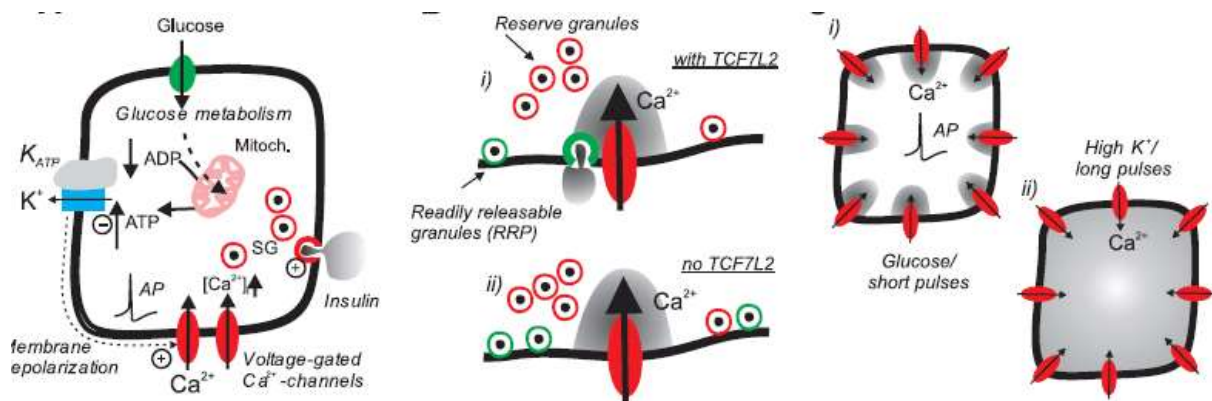


Figure 15: Mécanismes par lesquels l'extinction de TCF7L2 réduit la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose. [232]

A : Le glucose, via la production d'ATP par la mitochondrie (mitoch.) et l'augmentation du rapport ATP/ADP, provoque la fermeture des canaux K (K_{ATP}) sensibles à l'ATP et déclenche des potentiels d'action (PA) qui sont associés à l'ouverture des canaux Ca₂ dépendants du voltage. L'augmentation de [Ca₂] stimule l'exocytose des granules sécrétoires (SG) contenant de l'insuline.

B : Les granules d'insuline appartiennent à différents pools fonctionnels, qui diffèrent en ce qui concerne de la compétence de libération. La grande majorité des granules n'ont pas atteint la compétence de libération et appartiennent à un pool de réserve (granules rouges). Une petite fraction des granules est immédiatement disponible pour la libération : le pool facilement libérable (RRP) (granules verts). De nombreux granules du pool facilement libérable sont situés à proximité des canaux Ca₂ dépendant du voltage (i). En l'absence de TCF7L2, les canaux Ca₂ peuvent se détacher des granules sécrétoires. et le [Ca₂] augmente dans la mauvaise partie de la cellule (ii).

C : Augmentations de [Ca₂] localisées (zones grises) par une brève stimulation de type potentiel d'action (i) et l'élévation globale produite lors d'une stimulation prolongée (par exemple, à haute teneur en K) (ii).

L'inhibition de la sécrétion de l'insuline stimulé par le glucose produit par l'extinction de TCF7L2 n'était pas liée à une baisse de Ca²⁺ ; au contraire les réponse au glucose étaient plus importantes dans les cellules dépourvues de TCF7L2, cela suggère que la détection du glucose dans les cellules B n'a pas été affectée.

D'après ces données fonctionnelles, l'action inhibitrice de l'atténuation du gène TCF7L2 sur la sécrétion d'insuline induite par le glucose semble paradoxale dans la mesure ou aucune partie de la liaison stimulus-sécrétion des cellules bêta n'a été pas perturbée d'une manière qui aurait supprimé la libération d'insuline. Cela pourrait suggérer que l'événement intervenant dans la fusion des granules sécrétoires pourraient être impliqués. Ceci serait cohérent avec l'observation que le blocage de TCF7L2 a affecté les niveaux des protéines exocytotique syntoxin-1 et munc18-1. Cependant Il est peu probable que l'expression réduite de munc18-1 soit responsable du dysfonctionnement observé, car le blocage de cette protéine

dans les cellules inhibait la sécrétion induite par le glucose et le K^+ élevé et interférait avec la fixation des granules [233].

Jusqu'à la découverte de Grant et al, on n'avait jamais pensé que la voie wnt était impliquée dans l'homéostasie du glucose ; par conséquent, TCF7L2 n'avait jamais été envisagé comme un gène candidat à évaluer dans le DT2. Dans la population islandaise, les porteurs sains des variantes génétiques sont 1,5 fois plus susceptibles de développer un DT2 au cours de leur vie que les porteurs du gène normal [234]. Ces corrélations ont été reproduites à l'aide de GWAS dans diverses populations et groupes ethniques à travers le monde [219-235-236-237] À ce jour, il existe plusieurs SNP (rs7903146, rs12255372, rs7901695, rs11196205, rs4506565, rs7895340 et rs290487) dans ce gène qui se sont avérés conférer un risque accru de DT2, selon les groupes ethniques examinés. Dans la population caucasienne et indienne, les rs7903146 et rs12255372 confèrent les risques les plus élevés [238], tandis que dans la population chinoise, c'est le rs290487 qui confère le risque le plus élevé [218].

En ce qui concerne le rs7903146, la substitution allélique est de C à T, par rapport au rs12255372, dans lequel le changement est de G à T. Comme les humains portent 2 copies d'ADN, les combinaisons possibles, appelées génotypes, sont un mélange des deux allèles. Par conséquent, pour le gène rs7903146, les génotypes possibles sont CC (appelé type sauvage), CT (hétérozygote) et TT (homozygote). Dans le cas du rs12255372, les génotypes sont GG, GT et TT (type sauvage, hétérozygote et homozygote, respectivement). L'effet du port de l'allèle variant est observé dans les groupes hétérozygotes et homozygotes, avec un risque accru de développer un DT2 dans le génotype homozygote (en raison d'une plus grande "exposition" à l'allèle variant).

L'influence de ces variations génétiques diffère selon les groupes ethniques. Dans les groupes caucasiens et indiens, la fréquence de l'allèle variant pour les rs7903146 et rs12255372 est élevée (20 à 30 %). Cette situation diffère de celle des populations chinoises et japonaises atteintes de DT2, dans lesquelles la fréquence des allèles mineurs de ces SNP est très faible (2 à 6 %), ce qui atténue leur impact [239-240]. Les rs7903146 et rs12255372 ont fait l'objet de l'une de nos parties pratiques.

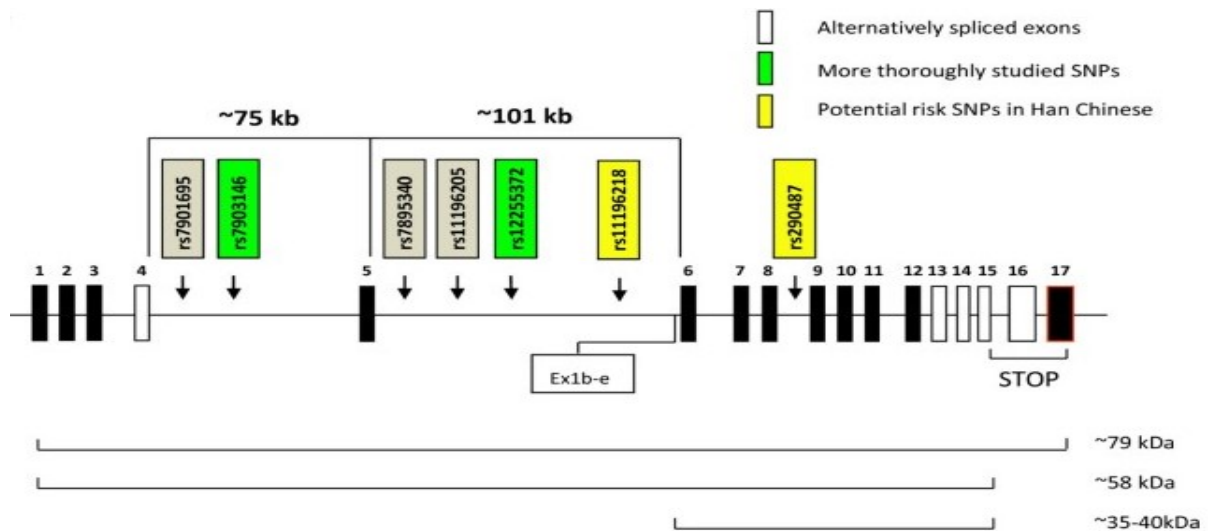


Figure 16: structure du gène TCF7L2 et localisation des polymorphismes [241]

Le gène humain TCF7L2, situé sur le chromosome 10q25.3, est constitué de 17 exons (cases). Au moins cinq exons sont épissés alternativement (cases blanches). Cinq SNP ont été déterminés à l'origine comme étant associés au risque de DT2 dans diverses origines ethniques, tous situés dans les grandes régions introniques entourant l'exon 5. Deux autres SNP de risque de DT2 (en vert) ont ensuite été identifiés dans les populations y compris la notre (voir la 2ème partie du manuscrit : travail personnel). Le gène TCF7L2 subit une quantité importante d'épissage alternatif qui produit un grand nombre de transcrits donnant lieu à un certain nombre d'isoformes. Les principales isoformes de taille 79 et 58 kDa résultent de codons stop alternatifs.

1.4. Famille de SCL : définition, structure, localisation et récepteur

La superfamille des transporteurs de solutés (SLC) est une grande famille de protéines membranaires qui possèdent 20 à 25 % d'homologie de séquence [242]. Cette famille de facilitateurs majeurs comprend plus de 300 membres regroupés en 51 classes. Les transporteurs SLC utilisent généralement un transport actif secondaire et tertiaire pour déplacer des produits chimiques à travers les membranes biologiques [243]. Ils sont protéines trans-membranaires dont la topologie membranaire prédite composé en 12 hélices α -hélicoïdales (TMH), un N-terminal intracellulaire, une grande boucle extracellulaire glycosylée entre les TMHs 1 et 2, une grande boucle intracellulaire avec des sites de phosphorylation entre les TMHs 1 et 2. intracellulaire avec des sites de phosphorylation entre les TMHs 6 et 7, et un C terminus intracellulaire [244].

Les SLC sont exprimés dans la majorité des tissus. Cependant, ces protéines sont exprimées le plus abondamment dans le foie, les reins et l'intestin où elles sont situées sur les membranes plasmiques basolatérales ou apicales des cellules polarisées [245]. Il est aujourd'hui connu que les membres de la famille SLC sont impliqués dans le transport facilité d'une variété de substances, y compris les médicaments, les toxines environnementales, les xénobiotiques et

les métabolites endogènes à travers les membranes plasmiques [246-242-244]. En outre, ces transporteurs SLC jouent un rôle essentiel dans l'absorption et l'excrétion des médicaments dans les reins, le foie et l'intestin, influençant ainsi les caractéristiques pharmacodynamiques et pharmacocinétiques de ces médicaments [247].

La famille des SLC peut être divisée en trois sous-groupes en fonction de la spécificité du substrat et de la fonction.: les transporteurs de cations organiques (OCTs), les transporteurs de cations organiques/zwitterions (OCTNs) et les transporteurs d'anions organiques (OATs). [244]. Le sous-groupe des OCT contient trois sous-types de transporteurs facilités appelés hOCT1 (codé par le gène SLC22A1), OCT2 (SLC22A2) et OCT3 (SLC22A3). Les gènes qui codent pour les trois isoformes OCT sont regroupés sur le bras long du chromosome 6 [248-249]. D'après leurs propriétés de leur substrat et de leur distribution tissulaire, on pense que les hOCT1, hOCT2 et hOCT3 jouent un rôle important dans le processus de biodégradation de l'ADN joueraient un rôle important dans l'excrétion biliaire et rénale de leurs substrats et la distribution des médicaments organiques cationiques dans le foie, les reins, le cœur et le cerveau. [250]. En outre, il existe plusieurs membres de la famille SLC dont la spécificité du substrat et/ou la fonction n'ont pas encore été élucidées [244].

1.4.1. Surexpression et inhibition SLC47A1

Le gène SLC47A1 code pour le transporteur MATE1 (multidrug and toxin extrusion 1).

Le gène humain MATE1 (SLC47A1) [251] est situé sur le chromosome 17p11.2 et code pour une protéine de 570 acides aminés [252]. MATE1 est principalement exprimé dans le foie et les reins et joue un rôle important dans l'excrétion rénale de la metformine. Plus de 70 polymorphismes ont été identifiés dans SLC47A1 (www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?locusId=55244) ; cependant, seuls quelques-uns d'entre eux semblent avoir une association avec la clairance et la réponse à la metformine.

Les résultats d'études portant sur des patients DT2 traités par la metformine montrent une association cohérente de deux variants hautement liés de MATE1 (rs2289669G>A et rs8065082C>T) avec la réduction de l'HbA1c et la réponse à la metformine.. Dans une étude portant sur 116 patients atteints de DT2 traités par la metformine, chaque allèle A de MATE1 rs2289669 A était associé à une réduction accrue de 0,30 % de l'HbA1c [253].

Les protéines MATE (Figure: 7) sont des transporteurs attendus depuis longtemps qui sont responsables de l'efflux des cations organiques des cellules. Elles ont été décrites pour la première fois chez des bactéries en 1998 et nommées NorMandYdhE [254]. En 2005, le premier orthologue humain, MATE1, a été identifié et décrit comme un transporteur médiant

l'étape finale d'excrétion des cations organiques [255] ; peu après, MATE2, MATE2-K et MATE2-B ont été découverts. Bien que les MATEs appartiennent à la famille des transporteurs de soluté (SLC), ils fonctionnent comme des transporteurs d'efflux qui pompent leurs substrats hors des cellules [256], La force motrice du transport médié par les MATE est fourni par un gradient de protons de direction opposée ; les MATE sont donc considérés comme des transporteurs actifs secondaires [257].

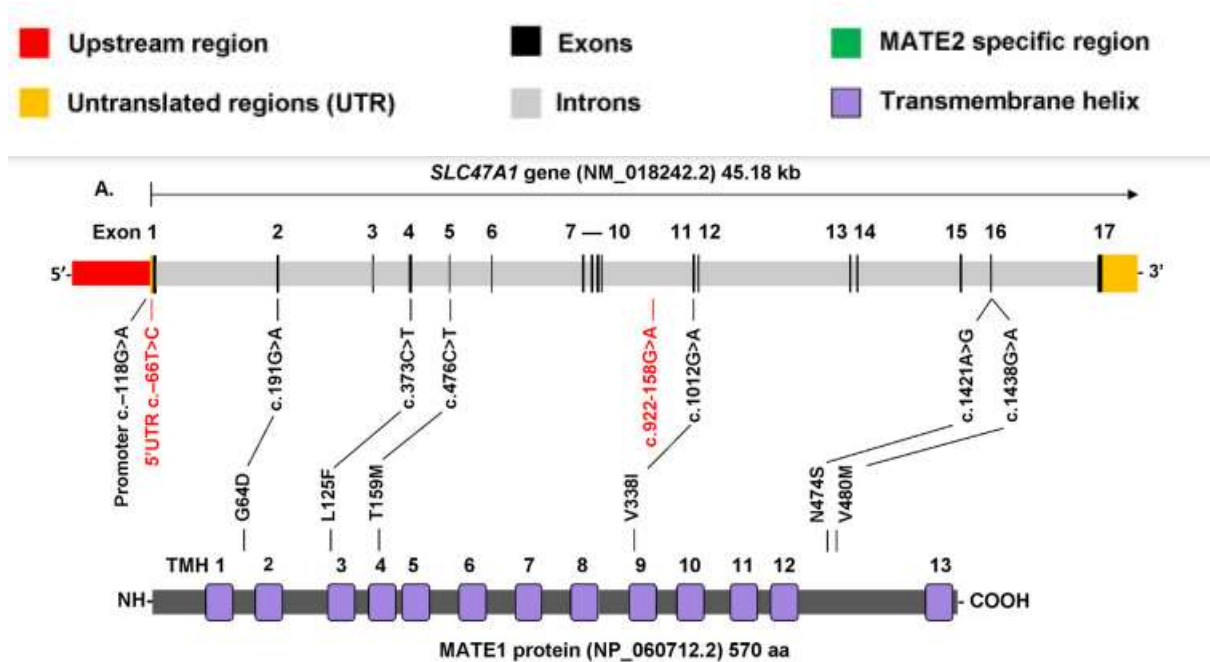


Figure 17: Schéma à l'échelle de l'organisation du gène et de la structure protéique primaire de la protéine humaine SLC47A1 (MATE1) [251]

Représentation schématique de l'organisation du gène et de la structure protéique primaire de la structure protéique de (A) SLC47A1 (hMATE1) (Le diagramme représente les exons (numérotés de 1 à 17) et les introns des deux gènes ainsi que la disposition des protéines transmembranaires. L'arrangement des hélices transmembranaires (TMH) (numérotées de 1 à 13) des protéines codées.

La large distribution des protéines MATE dans divers organismes vivants, y compris les procaryotes, les plantes et les mammifères, et leur capacité à transporter une grande variété de substrats endo-/exogènes indiquent l'importance de ces transporteurs dans les processus physiologiques et/ou pharmacologiques tels que la pharmacocinétique, la résistance dans les bactéries ou les tissus tumoraux, et la sécrétion hormonale. Bien que les MATE fassent partie des transporteurs de médicaments les plus "jeunes", leur importance est reconnue par les autorités réglementaires qui envisagent d'incorporer les MATE dans leurs directives pour les études d'interaction médicamenteuse [251].

L'analyse du promoteur du gène a révélé que SLC47A1 est dépourvu des boîtes TATA et CCAAT canoniques ; leur rôle est remplacé par la présence d'une région caractérisée par deux

sites riches en GC. La protéine spécifique 1 (Sp1) se lie aux sites riches en GC et recrute les protéines de liaison TATA pour fixer le site de début de transcription [258] Il a été démontré que d'autres facteurs, tels que la protéine d'activation-1 (AP-1) et la protéine d'activation-2-répresseur (AP-2rep), régulent la transcription de la protéine SLC47A1 humaine [259]. L'étude de la variabilité de la séquence du promoteur de SLC47A2 a contribué à l'identification du doigt de zinc myéloïde 1 (MZF-1) fonctionnant comme répresseur de transcription [260]. Parmi les récepteurs nucléaires, seul le facteur nucléaire hépatocytaire 4 alpha (HNF4) a été suggéré pour réguler Slc47a2 chez les souris dépourvues de HNF4 [261] Bien que le(s) pharmacophore(s) caractérisant les substrats/inhibiteurs de MATE n'aient pas été caractérisés de manière approfondie à ce jour, des modèles combinés in vitro/in silico et QSAR laissent penser que MATE se lie préférentiellement à des molécules de grande taille, lipophiles et chargées positivement. [262-263] Ces études proposent en outre la présence de plusieurs sites de liaison pour les ligands dans la molécule MATE. En conséquence, les substrats actuellement identifiés des MATE sont de caractère cationique (TEA, MPP+), des bases faibles à charge positive (metformine, cimetidine, procaïnamide), des zwitterions (céphalexine, céphradine) ou même des anions (estrone-3-sulphane). anions (estrone-3-sulfate) de poids moléculaire allant de 50 à plus de 500 (Figure : 16).

Comme les MATE et les OCT coopèrent dans le passage transcellulaire, il y a un chevauchement considérable dans la spécificité du substrat. transcellulaire, un chevauchement considérable dans la spécificité du substrat doit exister entre ces transporteurs [263] ont récemment identifié plusieurs inhibiteurs sélectifs de MATE1 parmi les médicaments utilisés en clinique. Il convient de souligner que les composés qui inhibent préférentiellement les transporteurs MATE pourraient perturber l'équilibre entre l'absorption médiée par les OCT et l'absorption médiée par les MATE et l'efflux médié par MATE de leurs substrats communs, ce qui peut éventuellement conduire à une accumulation intracellulaire des médicaments. Par exemple, la cimétidine a longtemps été considérée comme un inhibiteur de l'OCT2 rénal. Cependant, [264] ont récemment suggéré que l'inhibition de l'OCT2 rénal était un facteur de risque. Cependant, ont récemment suggéré que l'inhibition des MATE, et non de l'OCT2, est le mécanisme qui sous-tend les réactions médicamenteuses de la cimetidine dans l'élimination rénale. Préférentiel MATE peuvent donc non seulement diminuer la clairance rénale mais aussi également entraîner une néphrotoxicité [264].

1.4.2 Polymorphisme de gène SLC47A1 et Multidrug and Toxin Extrusion 1 (MATE-1)

SLC47A1 est exprimé dans les membranes lumineuses des tubules proximaux rénaux et les membranes des canaux biliaires des hépatocytes et est responsable de l'évacuation des composés cationiques, dont la metformine [265]. Des résultats antérieurs ont indiqué que MATE1 joue un rôle important dans la pharmacodynamique de la metformine et que son dysfonctionnement peut entraîner une augmentation marquée de la concentration de metformine dans le foie [266].

Dans la recherche de Becker et de ses collègues, 11 SNP dans le gène SLC47A1 dans la région de 10 kbp en aval ont été étudiés. Une variante intronique rs2289669 (G > A) a été associée de manière significative à une diminution plus importante de 0,30 % du taux d'HbA1c après le début du traitement à la metformine [267]. Cette association a été reproduite dans des populations iraniennes [268], chinoises [269] et européennes [270]. Alors que dans une étude de génotypage à grande échelle réalisée par DPP, l'association du variant rs2289669 dans le gène SLC47A1 avec une réponse plus faible à la metformine a été déterminée [271].

Cependant, dans certaines populations, l'influence du rs2289669 sur la réponse à la metformine n'a pas été confirmée [272-273]. Il a également été prouvé que les variants rs2289669 dans le gène SLC47A1 et rs594709 dans le gène SLC22A1 pourraient fonctionner ensemble dans l'efficacité de la metformine [274].

CHAPITRE 3: LA PRISE EN CHARGE DE DIABÈTE DE TYPE 2

I. TRAITEMENT NON MÉDICAMENTEUX

1. Objectifs

Le traitement des patients diabétiques a pour objectif de réduire l'hyperglycémie et ainsi de prévenir les complications chroniques du diabète énoncées précédemment. La prise en charge des patients sera individualisée.

Le diabète non insulino-dépendant est une maladie métabolique complexe concernant non seulement le métabolisme glucidique mais aussi le métabolisme lipidique.

Traiter un diabétique non insulino-dépendant, c'est chercher non seulement à baisser les valeurs glycémiques mais aussi à corriger les autres facteurs de risque vasculaire souvent associés.

- La prise en charge de DT2 et basée sur trois piliers

2. Les mesures hygiéno-diététique : Diétothérapie+Activité physique

2.1. l'impact des Mesures hygiéno-diététique

La diétothérapie est la pierre angulaire du traitement des patients diabétique, elle s'impose dès que le diagnostic de DT2 est confirmé, Elle a aussi un but préventif chez les sujets ayant un risque élevé de développer un DT2 en raison d'une obésité viscérale ou d'un syndrome métabolique, et des antécédents familiaux de diabète, comme l'a démontré l'étude nord-américaine Diabetes Prevention Program (DPP) [275].

L'objectif à long terme de la diétothérapie est souvent de normaliser durablement l'HbA1c. Elle permet toute son importance lorsque l'évolution de la maladie impose le recours à des traitements médicamenteux. Le but est d'obtenir un meilleur contrôle de l'équilibre glycémique en diminuant la production élevée hépatique de glucose quasi-constante au cours du DT2, en freinant l'évolution de la dysfonctionnement-cellulaire, et en luttant contre l'insulino-résistance. L'autre objectif est de corriger un surpoids ou une obésité en réduisant les apports énergétiques, cet objectif étant synergique du précédent. Enfin, un choix adéquat des aliments contribue à maîtriser le risque cardiovasculaire qui obère le pronostic du DT2. Ces considérations supposent des modifications parfois profondes de l'alimentation, sans bouleverser les principes d'une alimentation séquentielle, structurée, diversifiée, suffisante, et équilibrée avec une bonne qualité de vie. Dans tous les cas, une prescription nutritionnelle personnalisée est souhaitable pour améliorer l'adhésion au projet thérapeutique, après avoir évalué la capacité des sujets au changement de leurs habitudes.

2.2. La restriction calorique

La réduction de l'apport calorique est indispensable dès lors que l'IMC et/ou le périmètre abdominal sont élevés (plus de 85 % des personnes DT2 ont un IMC > 25 kg/m²). L'apport calorique est à adapter à la dépense énergétique, au statut pondéral, et aux objectifs glycémiques. Il est bien démontré que la réduction pondérale conduit à une amélioration de la sensibilité à l'insuline des tissus périphériques, ainsi qu'une diminution de la production hépatique du glucose. La correction durable des paramètres anthropométriques est cependant difficile à atteindre. Des études à court terme ont montré qu'une perte de poids de 5 % suffisait pour obtenir une bonne amélioration de la résistance à l'insuline, de la glycémie, et du profil lipidique [276-277].

2.3. Activité physique

En facilitant l'utilisation du glucose et en augmentant la sensibilité à l'insuline endogène, l'activité physique participe au contrôle de la glycémie chez le diabétique de type 2. Elle améliore aussi la dyslipidémie en augmentant les HDL (High density lipoprotein) et en diminuant les triglycérides.

L'activité physique consiste en des modifications réalistes du mode de vie quotidien et repose sur trois séances de 45 minutes par semaine d'activité plus intensive adaptée au profil du patient. Elle entretient l'appareil ostéo-articulaire et permet le maintien d'une masse musculaire satisfaisante, et contribue à l'hygiène de vie générale. [278]

L'exercice physique doit être régulier, adapté, prescrit après une évaluation cardiovasculaire et représenter une certaine détente pour le patient.

Les patients atteints de maladies chroniques sont volontiers sédentaires. Le DT2 ne déroge pas à ce constat, l'activité physique (AP) se limitant souvent à des activités domestiques. Pourtant, plusieurs méta-analyses et revues systématiques ont clairement démontré les bénéfices de l'AP en termes d'équilibre glycémique [279-280]. L'activité thérapeutique de l'AP s'exerce indépendamment de la perte de poids et des modifications nutritionnelles, et la diminution de l'HbA1c est constante. Dans un essai contrôlé randomisé comparant un groupe de DT2 bénéficiant de séances d'activité d'endurance ou de résistance à un groupe contrôle, elle atteint -0,6 % [intervalle de confiance à 95 % : -0,9 à -0,03 % ; p < 0,05], et est du même ordre que celle observée avec la plupart des médicaments [281]. Des résultats comparables ont été observés dans la plupart des études, sans diminution concomitante du poids, ce paradoxe s'expliquant par une augmentation de la masse maigre qui compense la diminution de la masse grasse. Tous les programmes d'AP sont efficaces, qu'il s'agisse d'endurance, de

renforcement musculaire, ou de la combinaison des deux. L'effet bénéfique est maximal lorsque la durée de l'AP atteint ou dépasse 150 minutes par semaine à raison d'au moins cinq séances [279]

2.3.1. Arguments physiopathologiques de l'AP

Le tissu musculaire est quantitativement le tissu le plus important pour le métabolisme du glucose. En effet, les muscles oxydent et stockent environ 70 % des glucides ingérés.

Le tissu musculaire est le siège d'une compétition de substrats énergétiques entre acides gras libres et glucose, qui se fait physiologiquement au détriment du glucose. Ce déséquilibre compétitif est en fait corrigé au cours de l'exercice physique où le glucose devient un carburant indispensable.

L'insulino-résistance des tissus cibles à l'insuline, comme nous l'avons vu, joue un rôle essentiel dans la physiopathologie du diabète non insulino-dépendant. Mais cette insulino-résistance est hiérarchisée. Elle prédomine au niveau du tissu musculaire, alors que la lipoprotéine lipase adipocytaire et la lipogénèse restent relativement sensibles à l'insuline. C'est pourquoi l'insulinothérapie ne saurait être le traitement idéal du diabète non insulino-dépendant. En effet, si l'insuline augmente le transport intra-musculaire du glucose, elle facilite en même temps la prise de poids. Il est injuste de soupçonner, voire d'accuser le diabétique insulino-nécessitant qui prend 4 kgs depuis la mise à l'insuline, de manquements diététiques [282].

A vrai dire, le médicament idéal du DNID devrait avoir les mêmes effets que l'insuline sur le tissu musculaire, en particulier sur le transport du glucose et avoir des effets opposés à ceux de l'insuline sur le tissu adipeux. C'est le cas de l'exercice musculaire ! En effet, l'augmentation des besoins en ATP de la cellule musculaire, entraîne une glycolyse musculaire, puis une activation et une translocation des transporteurs du glucose dits GLUT4 comme le fait l'insuline. A l'inverse, l'augmentation des hormones de contre-régulation glycémique et la diminution de l'insulino-sécrétion due notamment à la réponse adrénérgique, sont responsables d'un accroissement de la lipolyse fournissant des acides gras libres, substrats énergétiques devenant indispensables lors de la prolongation de l'effort.

L'augmentation du transport intramusculaire du glucose persiste 12 à 24 heures après un effort suffisamment intense. En effet, la diminution du stock du glycogène musculaire, entraîne une activation de la glycogène synthase et une augmentation du transport intramusculaire du glucose, et ce jusqu'à réplétion des stocks glycogéniques [282].

2.3.2. Arguments cliniques de l' AP

Les motifs cliniques sont au nombre de quatre :

- l'activité physique a une action hypoglycémiante nette et donc évaluable par le malade lui-même grâce à la mesure de la glycémie capillaire au bout du doigt avant effort et 1 à 2 heures après effort, pour un effort soutenu d'au moins 30 minutes.
- la prescription de l'activité physique permet de « rompre » avec l'obsession calorique en orientant le malade vers une prise en charge plus globale de la santé. Mais cela suppose une réappropriation du corps obèse et/ou vieilli, souvent rejeté par le malade.
- l'activité physique a un bénéfice psychologique. Elle peut être le moyen de retrouver un plaisir corporel oublié ou négligé. Elle peut être l'occasion de sortir d'un processus d'isolement et de résignation grâce au développement d'activités collectives plus ou moins ludiques. Globalement, l'activité physique a un effet antidépresseur.
- les activités d'endurance ont de plus une action bénéfique sur l'ensemble des paramètres du syndrome d'insulino-résistance en particulier ses conséquences cardiovasculaires (hypertension artérielle) et métaboliques (abaissement des triglycérides et augmentation du HDL cholestérol) [283].

3. les antihyperglycémiants

3.1. Les différents type de traitement du diabète de type 2

Jusqu'en 2008, 5 types d'agents hypoglycémiants oraux étaient disponibles : les sulfonylurées (ou sulfamides), les glinides, les biguanides, les thiazolidinediones et les inhibiteurs des alphaglucosidases. L'action hypoglycémiante de ces 5 classes de médicaments est bien établie, leurs mécanismes d'action différents. Ces 5 classes ont été prises en compte dans les recommandations HAS 2006.

Trois autres classes thérapeutiques ont été récemment mises à disposition, il s'agit des analogues du GLP1, DPP4 et SGLT2, cette dernière agit indépendamment de l'insuline.

3.2.Recommandations officielles pour la stratégie thérapeutique hypoglycémiante du DT2

Les stratégies de prise en charge préventive, diagnostique et thérapeutique des diabétiques changent constamment suite à l'évolution des connaissances en la matière. Les innovations sont publiées sur différents supports. Dès lors, il est très difficile pour chaque professionnel de santé d'assimiler toutes les informations nouvelles apportées par la littérature scientifique, d'en faire la synthèse critique et de l'incorporer dans sa pratique quotidienne [284]. Pour

promouvoir la démarche d'évaluation dans le domaine des techniques et des stratégies de prise en charge des diabétiques, la plus part des pays se sont dotés d'entités compétentes (sociétés savantes) engagés par leurs impartialités dans les domaines de la consultation. Ces consultants ont le devoir d'élaborer des protocoles sous formes de propositions développées méthodiquement pour aider le praticien et le patient à rechercher les soins les plus appropriés dans des circonstances cliniques spécifiques. Le contenu de telles « normes ou directives », souvent inspiré à partir de documents édités par des organisations internationales, rapporte la synthèse du niveau de preuve scientifique et l'opinion des experts sur le thème considéré. Or, dans un domaine trop influencé par les conflits d'intérêts, il est du devoir de l'état de s'assurer de la pertinence des recommandations à adopter sur son territoire et d'examiner ce qui plaident spécialement en faveur de certaines prescriptions [285]. Les directives rapportant des modifications de seuils critiques devront elles aussi être analysées avant de les recommander aux professionnels. Une infime variation d'un seuil introduirait une grande population dans la catégorie des malades. En soumettant ces personnes au traitement, probablement en surmédicalisation suite au sur-pronostic, l'industrie génère des profits considérables [285].

Au Maroc, le protocole thérapeutique de prise en charge du diabète de type 2 a été validé et approuvé en juin 2015 dans le cadre d'une convention de partenariat signée entre le ministère de la santé, l'Agence nationale de l'assurance maladie (ANAM), la Société marocaine des sciences médicales (SMSM) et le Conseil de l'Ordre des médecins chargé de l'élaboration des protocoles thérapeutiques. Ce protocole fait partie d'une série de référentiels de bonnes pratiques pour assurer la qualité des soins de six pathologies chroniques fréquentes et coûteuses (DT2, asthme, polyarthrite rhumatoïde, cancer du sein, insuffisance rénale aiguë et insuffisance rénale chronique terminale) [286]. D'autres recommandations de bonnes pratiques médicales (plus de 28 protocoles) sont en cours d'élaboration ou en phases de validation [287].

4. L'insulinothérapie

4.1. L'insuline

Le maintien de l'homéostasie glucidique est primordial au bon fonctionnement de l'organisme. Il est assuré par différents signaux endocriniens, métaboliques ou nerveux. A jeun, le glucagon, les glucocorticoïdes, les catécholamines et certaines hormones telles que l'hormone de croissance permettent de maintenir l'homéostasie glucidique, grâce à leur action hyperglycémiant. Lors d'une prise alimentaire, le glucose est absorbé par le tractus digestif : une hyperglycémie est alors détectée dans la veine porte hépatique [288], et plusieurs

mécanismes entrent en jeu pour rétablir rapidement une glycémie normale. L'insuline est alors la principale hormone impliquée dans cette régulation. Le gène de l'insuline est très conservé au cours de l'évolution. Chez la souris et le rat, on retrouve deux copies de ce gène, localisées sur le chromosome 1 chez le rat et sur les chromosomes 9 et 19 chez la souris. Chez l'Homme, il n'en existe qu'un exemplaire, de 1355 paires de bases, situé sur le bras court du chromosome 11. Sa région codante comporte 3 exons séparés par 2 introns. Ce gène contrôle la synthèse d'un précurseur de haut poids moléculaire, la pré-pro-insuline qui, après maturation, donne la protéine d'insuline active. Il a été montré que des mutations sur le gène de l'insuline peuvent conduire à différentes formes de diabète, à l'hyperinsulinémie ou à l'hyperproinsulinémie.

➤ **Formule chimique et origines**

En 1920 un chirurgien canadien de 29 ans, Frederick Grant Banting (1891-1941), travaille sur l'hypothèse que le pancréas possède deux fonctions distinctes. La première déjà bien connue est la fonction exocrine, c'est-à-dire la production d'enzymes agissant au niveau du tube digestif sur la digestion. La seconde est une fonction endocrine, ce qui signifie la sécrétion d'une hormone dans le sang. Cette hormone qui proviendrait de la partie du pancréas encore mal connue à l'époque, les îlots de Langerhans, serait capable de réguler la glycémie sanguine.

Afin de démontrer sa théorie, il va tenter d'extraire et de purifier l'hormone dans le but de l'utiliser pour traiter le diabète. Pour cela il va se procurer, à l'aide de son mentor le Dr John James Rickard Macleod (1876-1935), un professeur renommé de physiologie à l'université de Toronto, un petit laboratoire ainsi que 10 chiens pour les expériences. Il va alors être assisté de Charles Best (1899-1978) un jeune étudiant en médecine de 22 ans, diplômé de physiologie et de biochimie [289].

En 1921 ils testent les premiers extraits pancréatiques hypoglycémisants obtenus et jusqu'alors nommés « soletine », sur des chiens rendus diabétiques par pancréatectomie. Cependant, les résultats n'étaient pas brillants étant donné le taux important d'impuretés présentes dans cette substance dont la couleur était brune. Le biochimiste James Bertram Collip (1892-1965) rejoint alors l'équipe car il faut isoler une grande quantité d'insuline, mais avec moins d'impuretés. Il va ainsi produire la première insuline raffinée pouvant être injectée à l'homme. Le médecin roumain Nicolas Paulesco, a isolé en même temps ce principe actif, d'origine pancréatique, capable de baisser la glycémie du chien dépancréaté. Mais il ne fera pas d'essai chez l'homme en raison des effets secondaires. Tous ces résultats sont présentés à la Société

place. De nos jours, on trouve ainsi majoritairement des stylos, contenant des cartouches pré-remplis d'insuline et pouvant être jetables ou réutilisables, et des pompes à insuline.

➤ **Mécanisme d'action**

L'insuline se lie à son récepteur spécifique situé sur la membrane plasmique des cellules cibles. Après sa résorption, ce récepteur est présent sur presque toutes les cellules, à des concentrations allant jusqu'à 20 000 par cellule. La cascade biochimique aboutissant aux effets de l'insuline est incomplètement connue. L'insuline se fixe à son récepteur et augmente ainsi l'activité tyrosine kinase. Ceci provoque une déphosphorylation conduisant à la stimulation du glycogène synthétase (pour la glycogénèse), car sa forme active est la forme déphosphorylée. La déphosphorylation conduit à l'inhibition des deux enzymes de la glycogénolyse dont les formes actives sont phosphorylées. Cette phosphorylation est suivie par d'autres événements endocellulaires complexes. [290-291]

➤ **Pharmacocinétique**

Les études de la pharmacocinétique et de la pharmacodynamie ont montré que l'action de l'insuline NPH est relativement courte : de l'ordre de 12 heures [292]. Dans ces conditions, l'insuline NPH bedtime n'arrive pas à contrôler le phénomène de l'aube, ce qui se traduit par une glycémie trop élevée avant le petit-déjeuner. C'est pour cette raison que d'autres insulines (les analogues de l'insuline d'action prolongée : glargine et détémir) ont été proposées pour l'insulinothérapie basale. Avant de décrire les avantages indiscutables des analogues de l'insuline d'action prolongée, il convient de rappeler brièvement les principes de la pharmacocinétique et de la pharmacodynamie.

Les études de pharmacocinétique consistent à injecter une dose d'insuline donnée et à mesurer l'évolution de la concentration plasmatique de l'insuline dans les heures qui suivent. Les insulinémies moyennes obtenues après injection des trois variétés d'insuline (insuline NPH, insuline glargine et insuline détémir) montrent que l'insuline glargine a une résorption plus étalée dans le temps que l'insuline détémir et l'insuline NPH [292-293].

➤ **Indication**

Si l'insuline est principalement indiquée dans le traitement du diabète de type 1, elle peut être parfois utilisée dans le diabète de type 2. En effet, en cas d'échec des règles hygiéno-diététiques et des traitements antidiabétiques oraux associés, elle peut faire partie, en dernière ligne, de la stratégie médicamenteuse [294-295]. Certaines situations cliniques imposent toutefois le passage d'emblée à l'insuline :

➤ **contre-indication** des antidiabétiques oraux ;

- décompensation aiguë d'un diabète de type 2
- diabète gestationnel et projet de grossesse chez une femme diabétique de type 2 ;
- glycémie à jeun supérieure à 3 g/L ;
- hémoglobine glyquée (HbA1c) supérieure ou égale à 10 %, supérieure à 1 % de la cible ;
- diabète de type 2 insulino-dépendant. La survenue d'événements transitoires tels qu'une infection, une corticothérapie ou une chirurgie peuvent également conduire à placer le patient sous insulinothérapie.

➤ **Effets indésirables**

Les insulines entraînent peu d'effets indésirables, même si une prise de poids (action anabolisante), des réactions allergiques locales et générales, des lipodystrophies et des hypokaliémies sont parfois rapportées. Il faut surtout craindre l'hypoglycémie, notamment chez les personnes âgées.

4.1.1 Production de l'insuline par biotechnologie

➤ **Progrès dans la production d'insuline recombinante**

La production d'insuline humaine recombinante se fait principalement dans les systèmes d'expression *E. coli* ou *Saccharomyces cerevisiae* [296]. Au départ, *E. coli* était le système d'expression préféré pour la production d'insuline recombinante à grande échelle en raison de son rendement élevé et de sa rentabilité [296]. La méthode de production de Genetech utilisait un ADNc synthétisé chimiquement codant pour les chaînes A et B de l'insuline séparément [297]. Ainsi, les deux chaînes ont été purifiées et co-incubées dans des conditions privilégiées pour accélérer la croissance de la génération de la formation de liaisons disulfure intactes [298]. Par ailleurs, Eli Lilly a utilisé un seul ADNc synthétisé chimiquement codant pour la proinsuline humaine avec purification ultérieure et excision du peptide C, ce qui a permis d'obtenir une insuline active [298]. Les systèmes d'expression de *S. cerevisiae* contiennent des constructions d'insuline modifiées avec des chaînes A et B natives dépourvues de la thréonine B30 C-terminale, fusionnées ou liées par un petit peptide C synthétique [296]. La construction est faite par la séquence d'ADNc fusionnée avec la séquence signal du facteur alpha dans *S. cerevisiae* pour l'expression de la proinsuline [299]. Ce produit de proinsuline est purifié et transformé en insuline active par une réaction de transpeptidation médiée par la trypsine en présence d'ester de thréonine [299]. Les plantes transgéniques sont utilisées comme systèmes d'expression en raison de leur rentabilité, de la haute qualité du traitement des protéines, de l'absence d'agents pathogènes humains et de la présence de mécanismes eucaryotes pour les

modifications post-traductionnelles [300]. L'insuline humaine recombinante a été produite dans la plante *Arabidopsis thaliana* par l'intermédiaire des corps huileux [301]. Les corps huileux sont situés à l'intérieur des graines oléagineuses et sont composés d'un noyau hydrophobe de triacylglycérol encapsulé dans une membrane phospholipidique et d'une paroi externe de protéines appelées oléosines [301-302]. Les graines oléagineuses sont génétiquement modifiées avec la protéine recombinante ciblant les corps oléagineux comme fusion d'oléosine [301-302]. Le traitement ultérieur consiste à séparer les corps huileux par une séparation de phase liquide-liquide afin de réduire les étapes de chromatographie dans la purification de l'insuline [296]. Ensuite, le corps huileux est purifiée, puis l'insuline recombinante est séparée du partenaire de fusion oléosine et mûrie par digestion à la trypsine, ce qui donne une insuline active. Une autre approche consiste à transformer les chloroplastes du tabac et de la laitue avec de la proinsuline humaine composée des chaînes A, B et C fusionnées avec la sous-unité B de la toxine du choléra [303]. La production peut donner jusqu'à 47 % de proinsuline dans les feuilles de laitue, tandis que la proinsuline des feuilles de tabac a été extraite avec une pureté de 98 % [296]. Le niveau élevé de proinsuline biologiquement active exprimée dans les plantes transgéniques permet une production à faible coût de proinsuline injectable et orale [296].

➤ **Progrès dans l'application de l'insuline**

L'insuline est principalement administrée par voie sous-cutanée au moyen de flacons et de seringues [304]. Cependant, en raison des limites de l'utilisation d'un flacon ou d'une seringue pour l'injection, le développement des stylos à insuline a commencé à se développer. Les stylos à insuline sont réutilisables, augmentent l'observance du patient et sont plus précis [305-306]. Les stylos à insuline avancés comprennent une technologie intelligente qui permet de suivre les 16 dernières doses du patient grâce à des calculateurs intégrés [307]. L'insuline injectable présente encore des inconvénients, ce qui a conduit les chercheurs à adopter de nouvelles approches pour administrer l'insuline. Les produits d'insuline inhalée sont actuellement examinés par la FDA en vue de leur approbation, car les voies pulmonaires présentent des avantages. L'insuline humaine inhalée est d'origine ADNr et utilise l'administration de médicaments par la technosphère pour atteindre les poumons [308]. Les détails de cette administration d'insuline par voie pulmonaire comprennent des inhalateurs activés par la respiration contenant des doses unitaires d'insuline pré-dosées. Lorsque celle-ci rencontre le pH neutre de l'épithélium alvéolaire, elle se dissipe sous forme liquide [308]. L'un des avantages de cette méthode est l'absence de peptidases gastro-intestinales qui

dégradent l'insuline dans le tube digestif, contournant ainsi le système de métabolisme de premier passage [309]. L'administration transdermique de l'insuline est une approche plus récente qui fait appel à des techniques d'ionophorèse, de sonophérèse ou de phonophérèse [310]. Contrairement à l'administration d'insuline, la thérapie par cellules souches fait l'objet de recherches comme option pour inverser la résistance à l'insuline. Les cellules souches ont la capacité de se différencier en cellules productrices d'insuline (CPI), d'améliorer la régénération du pancréas et d'atténuer la résistance à l'insuline - offrant ainsi une alternative à la transplantation de cellules d'îlots de Langerhans [311]. Plus précisément, les cellules souches mésenchymateuses (CSM) ont acquis une certaine notoriété en raison de leur capacité à régénérer les cellules β des îlots pancréatiques, à les protéger de l'apoptose et à améliorer l'insulinorésistance des tissus périphériques en créant un environnement optimal par la sécrétion de facteurs paracrines [312]. De point de vue moléculaire, les CSM se différencient en CIP en reprogrammant des facteurs de transcription clés tels que Pdx-1, Ngn-3, NeuroD1, Pax4 et Pax6 situés dans la section endocrine du pancréas [313]. Plusieurs expériences ont été menées pour démontrer l'efficacité de l'utilisation des CSM, Moriscot et al. étant les premiers à induire la différenciation de CSM de moelle osseuse humaine (CSM-MM) en CIP [314-315]. Des études comparatives ont réussi à différencier des CSM dérivées de la gelée de Wharton (WJ-MSC) en phénotypes de cellules β matures [316]. La capacité des CSM à promouvoir la régénération des cellules β des îlots pancréatiques endogènes via la sécrétion de cytokines et de facteurs de croissance qui ont des activités paracrines et autocrines [317]. Lee et al. ont observé la migration de CSM vers l'îlot de souris diabétiques induites par la streptozocine (STZ) où les CSM ont accéléré la réparation des tissus en permettant aux cellules endogènes de proliférer et de retrouver leur fonction normale [318]. Ces applications alternatives de l'insuline ont conduit à la mise sur le marché de nouveaux produits à base d'insuline.

II. LES ANTIHYPERGLYCEMIANTS ORAUX

Les antidiabétiques oraux sont introduits après trois mois d'échec de régime. Un des critères de choix des antidiabétiques oraux est la surcharge pondérale. On distingue les antidiabétiques qui ont une action sur l'insulinorésistance (biguanides, thiazolidinediones) principalement indiqués chez les patients diabétiques obèses, ceux qui ont une action sur l'insulinosécrétion (sulfamides, glinides) indiqués en première intention chez les patients présentant une obésité peu sévère et les antidiabétiques réduisant l'absorption des sucres

(inhibiteurs de l'alpha-glucosidase) indiqués chez les patients présentant des glycémies à la limite supérieure.

Deux nouvelles classes d'agents antidiabétiques viennent d'être présentées : les antidiabétique qui agissent par le biais des incrétines, et les inhibiteurs du cotransporteur sodium-glucose de type 2 (SGLT2).

Les paragraphes suivants seront consacrés à la monographie de chaque classe d'antidiabétiques citées.

III. LES FAMILLES DES ANTIDIABETIQUES AUGMENTANT LA SECRETION D'INSULINE

1. Les Sulfonylurées

Il s'agit des sulfamides hypoglycémiantes qui sont les plus anciens ADO utilisés dans le traitement du DT2 (depuis les années cinquante). Depuis la publication des résultats en 1998 de l'étude UKPDS, ils ont fait la preuve de leur efficacité dans la prévention du risque de la microangiopathie diabétique. Il existe dans cette famille de médicaments plusieurs molécules qui se différencient par leur demi-vie biologique et leur durée d'action (de par la présence de métabolites actifs ou non); Les plus utilisés sont le glibenclamide (Daonil^o), le gliclazide (Diamicron^o) et le glimépiride (Amarel^o). Plus précisément, Les sulfonylurées agissent au niveau du canal potassique des cellules bêta. Leur fixation sur un récepteur membranaire entraîne une dépolarisation membranaire provoquant un influx du calcium. Cette augmentation du calcium intracellulaire induit une exocytose des granules d'insuline. La résultante de cette cascade est une augmentation de la réponse de la cellule bêta entraînant une plus grande sécrétion insulinaire suite à une stimulation glycémique [319].

Le choix du traitement va tenir compte des caractéristiques du patient, à savoir essentiellement son âge, sa fonction rénale ainsi que la compliance médicamenteuse supposée. On tiendra également compte des caractéristiques du médicament à savoir son effet hypoglycémiant, sa demi-vie et sa durée d'action biologique ainsi que ses effets secondaires. Les molécules qui ont une longue demi-vie d'action biologique (le glibenclamide, le glimépiride) peuvent être données une fois par jour ; elles sont donc des molécules de choix dans les situations de mauvaise compliance médicamenteuse.

Elles entraînent une plus grande inhibition de la production hépatique nocturne de glucose et permettent par ce mécanisme un meilleur contrôle de la glycémie à jeun. Ces bénéfices sont cependant contrebalancés par un risque accru d'hypoglycémie (particulièrement avec le

glibenclamide). Chez les personnes âgées, il faut utiliser de préférence des molécules de courte demi-vie sans métabolites actifs (glipizide, gliclazide). Chez les patients présentant une insuffisance rénale (clairance de la créatinine toutefois > 30 ml/min), des molécules sans métabolites actifs (glipizide, gliclazide) ou dont l'élimination n'est pas exclusivement rénale (glimépiride) peuvent être utilisés. [320]

➤ **Formule chimique et origines**

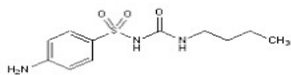
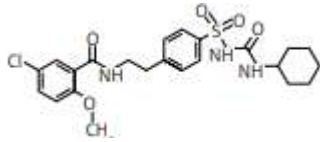
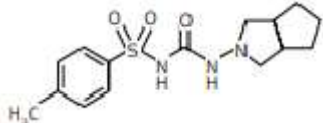
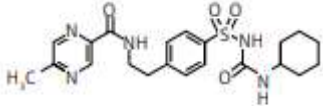
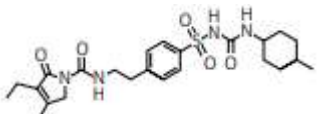
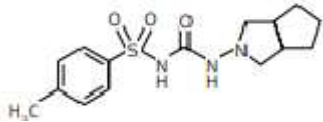
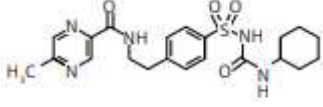
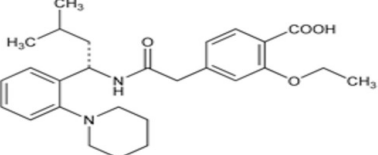
Les sulfonylurées ont été découvertes, en 1942, par le chimiste Marcel Janbon et ses collègues [321] qui étudiaient les antibiotiques sulfamides et ont découvert que le composé sulfonylurée induisait une hypoglycémie chez les animaux. [322] (**figure 21**)

La recherche et le développement (recherche translationnelle et développement d'applications commerciales) pour les sulfonylurées en tant que produits pharmaceutiques (en tant qu'agents diagnostiques et thérapeutiques dans le prédiabète et le diabète) ont eu lieu dans les années 1950 et 1960, comme exploré à *Tolbutamide*

La recherche et le développement (recherche translationnelle et développement d'applications commerciales) pour les sulfonylurées en tant qu'herbicides ont eu lieu dans les années 1970 et 1980, comme exploré par exemple dans un volume de la Sloan Technology Series axé sur les aspects sociotechnologiques de l'agriculture [323]

➤ **Classification du sulfonylurées**

Tableau IV: Classification et produit commercialisés de sulfonolyruées [319]

	Dose (mg)	Demi vie	Métabolites	Voie d'élimination	Structure
Sulfonolyruées de la 1ere génération					
Glucidoral (carbutamide)	300	45	Actif+inactif	Rénal	
Sulfamides de 2e génération					
Daonil (glibenclamide)	2.5-15	10-16	Actif (10h)	Urine	
Diamicron (gliclazide)	40-320	Libération prolongée	Inactif	Urine	
Glibenèse (glipizide)	2.5-20	3-7	inactif	Urine	
Sulfamides à libération prolongée					
Amarel (glimépiride)	1-6	>24	Actif (3 à 6h)	Urine	
Diamicron 30 (gliclazide 30)	4.-320	Libération prolongée	Inactif	Urine	
Ozidia (glipizide)	2.5-20	3-7	inactif	urine	
Glinides					
Novonorm (repaglinide)	0.5-1-2	1	inactif	foie	

➤ Mécanisme d'action

L'effet principal des sulfonylurées est l'augmentation des concentrations plasmatiques d'insuline ; par conséquent, ils sont efficaces seulement lorsque des cellules β pancréatiques résiduelles sont présentes. L'augmentation du taux d'insuline plasmatique se produit pour deux raisons. Premièrement, il y a une stimulation de la sécrétion d'insuline par les cellules β pancréatiques, et deuxièmement, il y a une diminution de la clairance hépatique de l'insuline. En particulier, ce second effet apparaît principalement après que l'augmentation de la sécrétion d'insuline ait eu lieu. En effet, au cours du premier mois de traitement, le taux d'insuline et la réponse insulinique au glucose augmentent rapidement, entraînant une baisse de la glycémie. Après cette période, les taux d'insuline de base et d'insuline stimulée deviennent plus faibles par rapport à ceux mesurés au début du traitement, mais En effet, au cours du premier mois de traitement, le taux d'insuline et la réponse insulinique au glucose augmentent rapidement, entraînant une baisse de la glycémie. Après cette période, les taux d'insuline de base et d'insuline stimulée deviennent plus faibles par rapport à ceux mesurés au début du traitement, mais les valeurs de la glycémie restent inchangées. La raison de cette cette observation n'est pas claire. En ce qui concerne l'activité sécrétoire des sulfonylurées, le mécanisme est maintenant connu. [324]

Elles agissent en se liant au récepteur spécifique des sulfonylurées sur les cellules β -pancréatiques, bloquant l'entrée de potassium (K^+) à travers le canal dépendant de l'ATP : le flux de K^+ à l'intérieur de la cellule β s'annule, la membrane cellulaire se dépolarise, ce qui supprime la tension électrique dépolarisée, qui empêche la diffusion du calcium dans le cytosol. L'augmentation du flux de calcium dans les cellules β provoque la contraction des filaments d'actomyosine responsables de l'exocytose de l'insuline, qui est donc rapidement sécrétée en grandes quantités (Figure 19) [324-325].

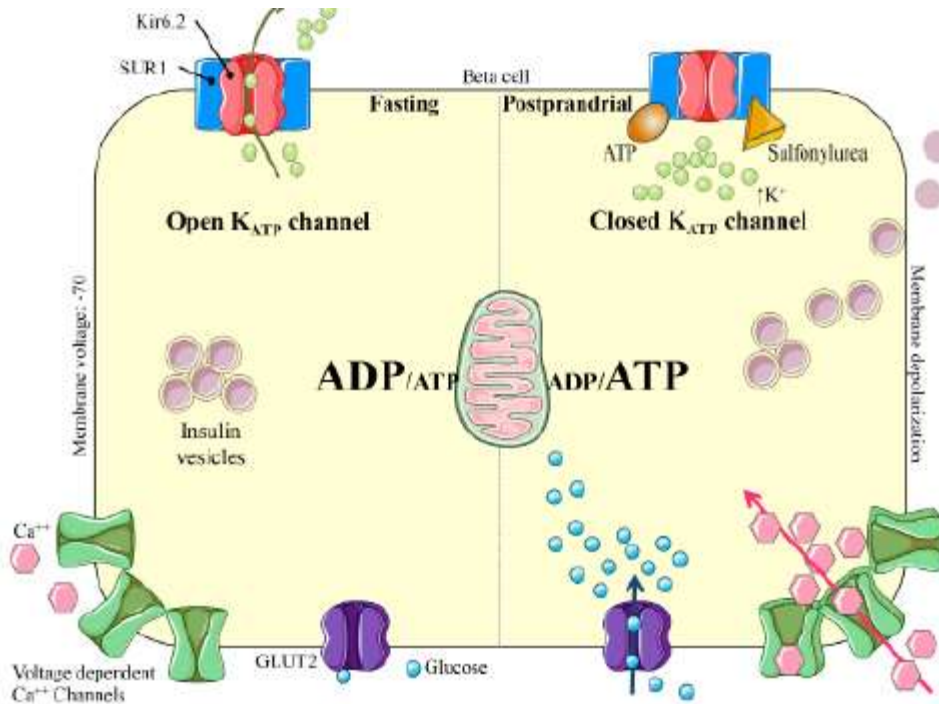


Figure 19: Le récepteur des sulfonyles dans la cellule bêta du pancréas. [326]

Le dessin est divisé en deux périodes : le jeûne et la période postprandémique ; à cette dernière s'ajoute l'utilisation de la sulfonyles. Pendant le jeûne, il y a un faible afflux de glucose via le GLUT2 en raison d'un faible taux de glucose plasmatique ; par conséquent, il y a des niveaux plus élevés d'ADP à l'intérieur des cellules, ce qui permet au canal K_{ATP} d'être ouvert. Une fois que l'alimentation a eu lieu, il y a une augmentation du niveau de glucose intracellulaire via GLUT2 et une production régulière d'ATP, qui ferme le canal ionique K_{ATP}, augmentant ainsi la concentration de potassium intracellulaire, ce qui entraîne une dépolarisation cellulaire, l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants et l'exocytose de l'insuline. Les sulfonyles peuvent induire une sécrétion d'insuline en raison de la fermeture du canal K_{ATP}, imitant ainsi la voie de sécrétion d'insuline induite par le glucose.

➤ Pharmacocinétique :

Bien qu'avec le temps et des quantités différentes, toutes les sulfonyles sont absorbées par l'intestin après une prise orale, chacune ayant un temps d'absorption et de biodisponibilité. L'hyperglycémie peut réduire l'absorption des sulfonyles car elle altère la motilité intestinale, réduisant ainsi l'absorption de tous les médicaments administrés par voie orale. Ce même phénomène se produit également pour la prise alimentaire. Pour cette raison, afin d'optimiser leur absorption, les sulfonyles doivent être prises 30 minutes avant les repas. La posologie doit être augmentée toutes les 2 semaines si le contrôle glycémique n'a pas été atteint. La dose initiale typique doit être faible (par exemple, glibenclamide 2,5 mg ou glimépiride 2 mg). Des doses plus élevées (par exemple, plus de 10 mg de glibenclamide) améliorent rarement le contrôle glycémique et doivent être évitées [327]. En raison de leur effet biologique prolongé, les sulfonyles sont administrées une ou deux fois par jour.

Après absorption, les sulfonylurées se lient presque entièrement aux protéines plasmatiques, en particulier à l'albumine. (en moyenne 95%, allant de 90% pour le chlorpropamide à 99% pour le glibenclamide). Le volume de distribution est d'environ 0,2 l/kg.

L'effet biologique des sulfonylurées dure souvent beaucoup plus longtemps que leur demi-vie plasmatique. en raison de l'interaction avec les récepteurs et de la formation de métabolites actifs [328-329]. , persistant pendant 24 heures ou plus. De plus, leur demi-vie est prolongée en cas d'insuffisance rénale. Outre les altérations possibles de l'absorption et du métabolisme, les différences génétiques peuvent également modifier la réponse aux sulfonylurées. Des défaillances génétiques des cellules β ont été démontrées. Ces variantes génétiques modifient évidemment l'efficacité des sulfonylurées. Certains de ces gènes polymorphismes ont été identifiés dans les gènes qui codent pour le canal K^+ ATP (KCNJ11 et ABCC8). Ces mutations entraînent une modification de la sécrétion d'insuline et de la réponse insulinaire aux sulfonylurées. D'autres polymorphismes ont été trouvés sur des gènes codant pour des enzymes ou des facteurs de transcription [330].

Pour toutes les raisons mentionnées ci-dessus, les sulfonylurées ne se ressemblent pas toutes : elles diffèrent par leur dosage, leur taux d'absorption, leur durée d'action, leur voie d'élimination et leur site de liaison sur leur récepteur cible des cellules β pancréatiques. Les propriétés pharmacocinétiques sont donc le facteur déterminant de ces différences. Les sulfonylurées réduisent les concentrations de glucose dans le sang d'environ 20% et l'HbA1c de 1 à 2% [331] : elles exercent sur l'HbA1c des effets similaires à ceux de la metformine, mais leur utilisation comporte un risque plus élevé d'hypoglycémie et d'effets indésirables d'hypoglycémie et de prise de poids non désirée, d'environ 2 kg en moyenne [331].

➤ Indications

Les sulfonylurés sont indiqués comme traitement d'appoint au régime alimentaire, à l'exercice physique et à la perte pondérale dans le but d'abaisser la glycémie chez les patients atteints de diabète de type 2 lorsque le régime alimentaire et l'exercice physique ne permettent pas à eux seuls de rétablir l'équilibre glycémique.

Les sulfonylurés peuvent être utilisés en association avec la metformine lorsque l'administration de l'un ou l'autre de ces médicaments en monothérapie à des patients soumis à un régime alimentaire et à un programme d'exercice physique ne permet pas de rétablir l'équilibre glycémique.

Ils sont également indiqués en association avec l'insuline dans le but d'abaisser la glycémie chez les patients atteints de diabète de type 2 lorsque le régime alimentaire et l'exercice

physique associés à un hypoglycémiant oral ne permettent pas de rétablir l'équilibre glycémique

➤ **Contre indication**

Ils sont contre-indiqués dans les situations suivantes :

- Diabète de type 1 (auparavant appelé diabète insulino-dépendant ou DID);
- Hypersensibilité ou allergie connue, aux sulfonylurées, aux sulfamides ou à l'un des ingrédients entrant dans la composition du médicament (pour obtenir une liste complète, voir la section de la monographie de produit portant sur les formes posologiques, la composition et le conditionnement.)
- Acidocétose diabétique, accompagnée ou non de coma; cet état doit être traité par insulinothérapie;
- Grossesse ou allaitement. On ne dispose d'aucune donnée relative à l'utilisation de sulfonylurées chez les patients qui présentent une altération grave de la fonction hépatique ou chez ceux qui sont sous dialyse. On doit opter pour une insulinothérapie chez les patients qui présentent une altération grave de la fonction hépatique ou rénale pour obtenir un contrôle métabolique optimal [332].

➤ **Effets indésirables**

Les sulfonylurées sont généralement bien tolérées. L'effet secondaire le plus courant est l'hypoglycémie, plus fréquente avec les sulfonylurées à longue durée d'action, comme le chlorpropamide et le glibenclamide [333-334]. Cependant, toutes les sulfonylurées peuvent provoquer des hypoglycémies, généralement en raison d'un dosage excessif. Il est important de se rappeler que l'hypoglycémie peut persister pendant plusieurs heures et nécessiter un traitement hospitalier.

Les patients doivent être mis en garde contre les situations dans lesquelles l'hypoglycémie est le plus susceptible de se produire : après un exercice physique ou un repas manqué, ou lors de la prise d'une dose excessive. Outre l'utilisation de médicaments à action prolongée tels que le glibenclamide ou le chlorpropamide, il est nécessaire de reconnaître d'autres situations à risque d'hypoglycémie. Par exemple, les sulfonylurées doivent être utilisées avec prudence chez les patients sous-alimentés ou alcooliques, chez les patients présentant une altération de la fonction rénale ou cardiaque ou une maladie gastro-intestinale, chez les patients traités simultanément par des salicylés, des sulfamides, des dérivés de l'acide fibrique (tels que le gemfibrozil) et la warfarine [335-336].

➤ Pharmacogénétique

L'identification de variantes de gènes candidats qui modifient la réponse glycémique aux SU a connu un succès limité. Les résultats répétés concernent les variants dans ABCC8/KCNJ11 qui modifient la fonction des canaux KATP, et le variant de risque de diabète dans TCF7L2.

Le variant E23K (rs5219) dans KCNJ11 et le variant S1369A (rs 757110) dans ABCC8 sont étroitement liés, l'haplotype K23/A1369 étant associé au risque de diabète de type 2. Les sulfonyles diffèrent dans la manière dont elles interagissent avec le canal KATP, et des études fonctionnelles ont établi que cet haplotype a un effet frappant sur l'efficacité des différentes sulfonyles [337]. Les canaux KATP contenant l'haplotype K23/A1369 étaient plus sensibles à l'inhibition (fermeture) par le gliclazide, mais moins sensibles à la fermeture par le tolbutamide, le chlorpropamide et le glimépiride. L'haplotype K23/A1369 n'avait aucun impact sur l'action du glipizide ou du glibenclamide. Ce travail fonctionnel se traduit, en partie, par ce qui est observé dans les études cliniques. Trois études chinoises rapportent que l'haplotype K23/A1369 est associé à une plus grande réponse au gliclazide [338-339]. La plus importante de ces études était une étude prospective portant sur 1 268 patients atteints de diabète de type 2, traités au gliclazide pendant 8 semaines. Les personnes homozygotes pour l'haplotype K23/A1369 présentaient une réduction faible mais significativement plus importante de la glycémie à jeun, sur 2 heures et de l'HbA1c par rapport aux personnes présentant l'haplotype E23/S1369 [340]. D'autres études ne montrent pas d'association entre l'haplotype K23/A1369 et la réponse au SU, ce qui peut refléter un manque d'efficacité dans les différentes sulfonyles utilisées. Par exemple, l'étude UKPDS (où le chlorpropamide et le glibenclamide étaient les deux SU utilisés) n'a pas montré d'impact de cet haplotype sur la variation de la glycémie à jeun à 1 an chez 363 patients randomisés pour le SU [341]. Cela pourrait s'expliquer par le fait que l'absence prévue d'effet du génotype sur la réponse au glibenclamide masque toute efficacité réduite prévue pour la réponse au chlorpropamide.

La variante du risque de diabète rs7903146, un SNP intronique dans le gène TCF7L2, a le plus grand effet génétique sur le risque de diabète dans la population à ce jour [342]. Cette variante de risque est associée à une réduction de la fonction de la cellule bêta et est donc un candidat plausible pour modifier la réponse glycémique aux sulfonyles. Dans l'étude GoDARTS basée sur la population, les patients atteints de diabète de type 2 homozygotes pour le rs1225372 (en LD étroit avec le rs7903146) étaient plus susceptibles de ne pas atteindre un traitement HbA1c <7%, OR 2,16 (1,121-3,86), p=0,009, que les patients sans variante de risque.

L'effet le plus important sur la réponse aux sulfonylurées rapporté à ce jour est lié à la variation génétique de la pharmacocinétique des SU, plutôt que de la pharmacodynamique. Les SU sont métabolisés en une forme inactive, en grande partie par le cytochrome P450 2C9. Des études fonctionnelles et pharmacocinétiques ont établi que les allèles *2 et *3 sont associés à une fonction réduite du CYP2C9 et à une clairance réduite du glibenclamide [343], du tolbutamide [344], du glimépiride [345] et du gliclazide MR [346]. Chez les 1073 utilisateurs occasionnels de SU (>90% de gliclazide) de l'étude GoDARTS, les 8% de la population porteurs de deux allèles à fonction réduite au niveau du CYP2C9 (*2 ou *3) avaient 3,4 fois plus de chances d'atteindre la cible thérapeutique que ceux porteurs de deux allèles à fonction normale ; ceci équivaut à une différence de 0,5% de l'HbA1c. Une augmentation similaire de l'efficacité du SU a été observée pour le tolbutamide dans l'étude de Rotterdam [347], où une dose plus faible de tolbutamide était nécessaire pour une efficacité similaire chez les porteurs d'allèles CYP2C9 à fonction réduite. Ces effets importants suggèrent certainement que, si le génotype d'un patient est connu, une modification de la dose d'initiation du médicament peut être bénéfique pour obtenir une efficacité similaire à des doses plus faibles et réduire ainsi l'hypoglycémie.

1.1. Particularité pharmacologique des glimepirides :

Le glimépiride agit en stimulant la sécrétion de granules d'insuline par les cellules bêta des îlots pancréatiques en bloquant les canaux potassiques sensibles à l'ATP (canaux KATP) et en provoquant une dépolarisation de la cellule β . Comparé au glipizide, un autre médicament de deuxième intention, le glimépiride a une durée d'action plus longue. Il est parfois classé comme un SU de troisième génération parce qu'il présente des substitutions plus importantes que les autres SU de deuxième génération [348]. Par rapport aux autres SU, le glimépiride a été associé à un risque plus faible de développer une hypoglycémie et une prise de poids dans les essais cliniques 2 ainsi qu'à moins d'effets cardiovasculaires que les autres SU en raison d'effets minimes sur le préconditionnement ischémique des myocytes cardiaques [348]. Il est efficace pour réduire la glycémie à jeun, la glycémie postprandiale et les taux d'hémoglobine glycosylée et est considéré comme une option thérapeutique utile et rentable pour la gestion du diabète sucré de type 2 [349]. Le glimépiride a été approuvé par la FDA aux États-Unis en 1995 pour le traitement du DT2. Il est couramment commercialisé sous le nom de marque Amarel sous forme de comprimés oraux et est généralement administré une fois par jour. [350]

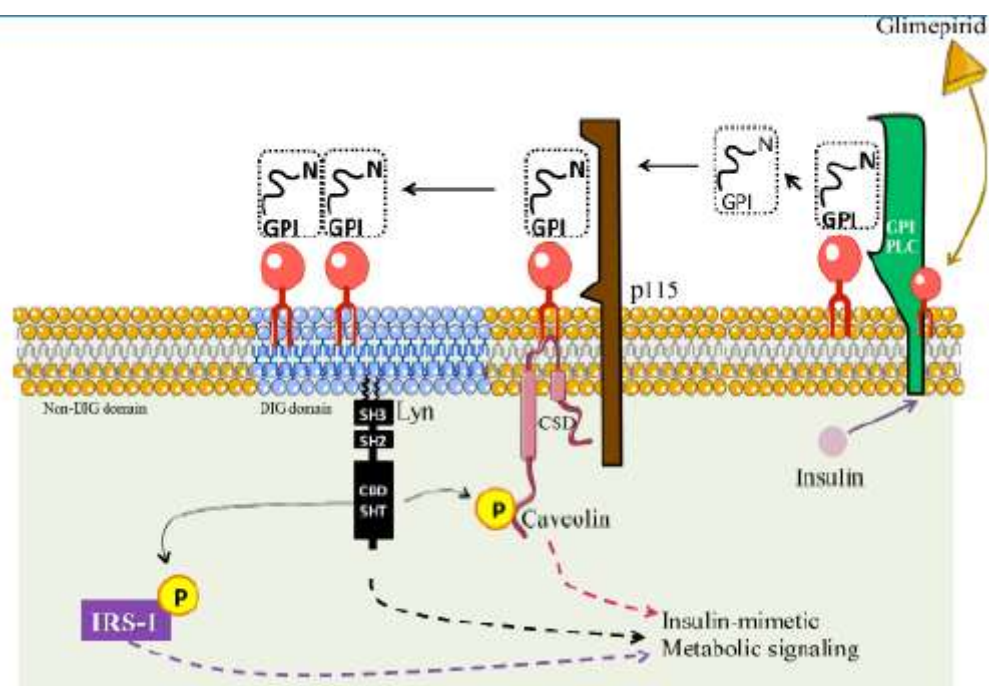


Figure 20: Propriétés insulino-mimétiques du Glimepiride. [326]

Le glimepiride peut modifier la dynamique de la membrane plasmique, en stimulant les PLC associés aux GPI, en réorganisant la composition des radeaux lipidiques, en activant des tyrosine kinases non réceptrices comme Lyn et en activant des cascades en aval qui imitent les effets métaboliques de l'insuline. CSD : domaine d'échafaudage de la cavéoline ;DIG : domaines de radeaux enrichis en glycolipides détergents et insolubles.

Le glimepiride est une substance hypoglycémisante active par voie orale appartenant à la classe des sulfonyles. Le médicament peut être utilisé dans le diabète non insulino-dépendant. Le glimepiride stimule principalement la libération d'insuline par les cellules bêta du pancréas. Comme avec les autres sulfonyles, cet effet repose sur une augmentation de la réponse de ces cellules bêta pancréatiques au stimulus physiologique du glucose [351-352]. De plus, le glimepiride, comme d'autres sulfonyles, exerce d'importants effets extra-pancréatiques ; régule la sécrétion d'insuline en fermant les canaux potassiques dépendants de l'ATP au niveau de la membrane cellulaire des cellules bêta. La fermeture de ces canaux potassiques induit une dépolarisation des cellules bêta et entraîne, par ouverture des canaux calciques, un influx de calcium dans la cellule. Ceci stimule la libération d'insuline par exocytose. Le glimepiride se lie avec une vitesse de renouvellement rapide à une protéine membranaire de la cellule bêta, qui est associée à un canal potassique dépendant de l'ATP, mais qui diffère du site de liaison habituel des sulfonyles [353-354].

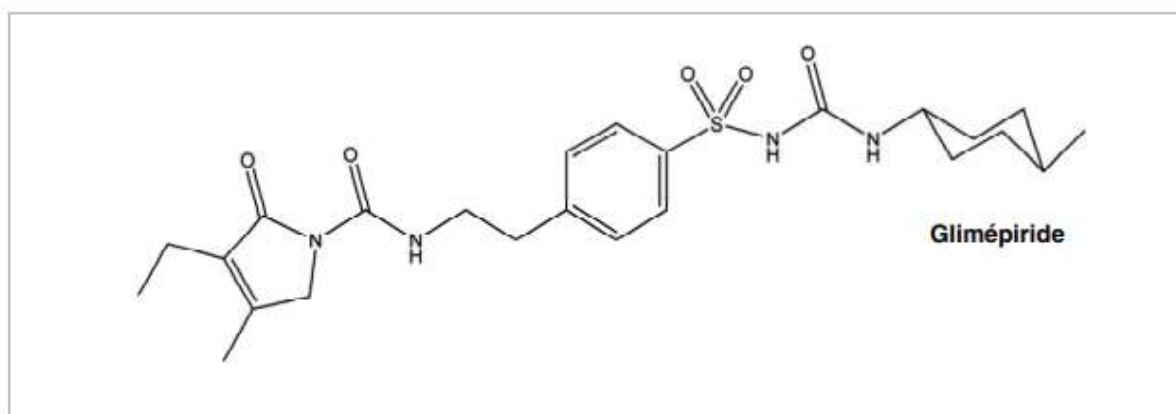


Figure 21: structure chimique de Glimépiride [355]

2. Les glitinides

La découverte, à la fin des années 1970, d'un composé, le HB 699 (appelé par la suite méglitinide), très étroitement lié aux nonsulfonylurée du glibenclamide était hypoglycémique par blocage des canaux KATP et augmentation de la sécrétion d'insuline. La sécrétion d'insuline a stimulé le développement des glitinides. Deux glitinides, le répaglinide et le natéglinide, sont actuellement utilisés pour traiter les patients atteints de diabète de type 2. et un troisième (mitiglinide) a été lancé au Japon [356].

➤ Classification et produit commercialisée

Le repaglinide NOVONORM est les seul représentant commercialisé de cette classe.il peut être associé à la metformine lorsque celle-ci ne suffit pas.

➤ Contre-indications

Diabète de type 1, hypersensibilité, acidocétose diabétique, insuffisance hépatique sevére, grossesse, allaitement.

➤ Effets indésirables :

Des cas d'hypoglycémie ont été signalés, mais ils sont beaucoup moins fréquents qu'avec les sulfonylurées [357].

➤ Mécanisme d'action :

Pour diverses raisons, ces agents sont moins susceptibles que les sulfonylurées de produire une hypoglycémie comme effet indésirable. ils ont des demi-vies courtes, présentent une glycémie dans la stimulation de la sécrétion d'insuline et peuvent, du moins dans le cas du

natéglinide, se dissocier plus rapidement du récepteur et permettre une réactivation plus rapide des canaux KATP [358]. En raison de leur courte durée d'action et de leur ciblage de la phase précoce de la sécrétion d'insuline, ils sont administrés avant chaque repas, ce qui permet un schéma plus physiologique de la sécrétion d'insuline et élimine la nécessité de prendre des repas réguliers.

Cela semble également entraîner une prise de poids moindre que celle observée lors d'un traitement par sulfonylurée. Seuls des essais cliniques à long terme montreront si les avantages théoriques d'une sécrétion d'insuline plus physiologique se traduisent par un contrôle plus efficace à long terme et une réduction des complications du diabète. Des chercheurs mettent au point des composés à molécules mixtes qui combinent, par exemple, l'ester diméthyle de l'acide succinique, qui exerce un effet indépendant du glucose en stimulant la libération d'insuline, avec le natéglinide. Ces composés ont des effets *in vitro* et *in vivo* dans la stimulation de la sécrétion d'insuline [359].

➤ Pharmacocinétique

Le répaglinide est rapidement absorbé à partir du tractus gastro-intestinal, se lie à environ 97 % aux protéines plasmatiques, et est largement métabolisé dans le foie par l'isoforme CYP3A4 du cytochrome P450, ce qui lui donne une demi-vie très courte [357-360-361]. Globalement, 90 % est excrété par la voie biliaire. Le natéglinide est rapidement absorbé (90 %) avec un pic de concentrations plasmatiques maximales 1 heure après l'administration. Il est rapidement éliminé après une administration orale ou intraveineuse, avec une demi-vie d'élimination terminale d'environ 1,5 à 1,7 heures [362]. Le natéglinide est largement métabolisé dans le foie (principalement par le CYP2C9 et, dans une bien moindre mesure, par le CYP3A4) en neuf produits. Le médicament et ses métabolites sont principalement excrétés dans l'urine, avec une excrétion fécale mineure [362]. Un seul métabolite, qui est un produit relativement mineur, a une activité semblable à celle de la molécule mère.

➤ Pharmacogénétique

Le métabolisme hépatique du répaglinide dépend des cytochromes CYP3A4 et CYP2C8 ; celui du natéglinide dépend des cytochromes CYP3A4 et CYP2C9. Certains polymorphismes modifient l'activité des cytochromes et, par conséquent, ont des effets importants sur la pharmacocinétique des glinides *in vivo*. L'allèle 3 du CYP2C8 présente deux substitutions d'acides aminés (Arg139Lys et Lys399Arg) par rapport à l'allèle 1. Après prise de répaglinide, l'AUC de la concentration circulante du glinide est 45 % plus basse chez les

sujets présentant un variant 1/3 du CYP2C8, par rapport aux sujets homozygotes 1/1 [363]. De même, l'AUC du natéglinide est deux fois supérieure chez les sujets présentant le variant 3/3 du CYP2C9, par rapport aux sujets homozygotes 1/1 [364]. De nombreux composés modifient la pharmacocinétique des glinides en interagissant avec CYP3A4, CYP2C8 et CYP2C9. Ainsi, le gemfibrozil augmente de 8 fois l'AUC du répaglinide, en inhibant fortement le CYP2C8 [363]. OATP1B1 (*organic anion transporting polypeptide 1B1*) est un transporteur sodium indépendant exprimé à la surface baso-latérale des hépatocytes, qui facilite la captation de nombreux composés pharmacologiques (répaglinide, pravastatine, métabolite M1 de la troglitazone, β -estradiol 17-(β -d-glucuronide), prostaglandine E2, thyroxine, bilirubine) ou endogènes du sang vers le foie. Des polymorphismes du gène *SLCO1B1* (521 C/C) augmentent, chez les sujets sains, l'AUC du répaglinide de 188 % et la Cmax de 15 %, en comparaison aux sujets T/T [365]. Les mêmes auteurs ont montré que le polymorphisme 11187 G > A du gène *SLCO1B1* était un facteur indépendant d'augmentation de l'effet hypoglycémiant du répaglinide [366].

IV. LES FAMILLES D'ANTIDIABETIQUES AUGMENTANT LA SENSIBILITE A L'INSULINE

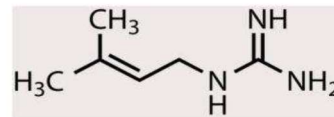
1. Biguanides : Metformine

Les biguanides représentent une des principales classes des antidiabétiques oraux. La seule molécule de cette classe médicamenteuse actuellement disponible est la metformine. Son utilisation est privilégiée dans les situations d'insulinorésistance, notamment chez les sujets obèses ou en surpoids.

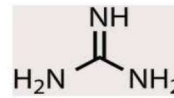
Lorsque les mesures hygiéno-diététiques ne sont pas suffisantes pour rétablir l'équilibre glycémique, le traitement médicamenteux de première intention du diabète de type 2 repose sur l'utilisation de la metformine. Cette monothérapie entraîne une baisse de 1 à 1,5% de l'HbA1c à terme en diminuant la production hépatique de glucose et en augmentant l'insulinosensibilité et l'utilisation périphérique du glucose [367]. L'intérêt indéniable de la metformine est l'absence de risque d'hypoglycémie (action normoglycémiante) ainsi que son action sur la perte de poids (1 à 2 kg) du fait de son effet légèrement anorexigène. La metformine présente des propriétés protectrices sur le plan cardiovasculaire avec la diminution du risque d'infarctus du myocarde. Elle pourrait aussi avoir une action anticancéreuse [368]. La prise de metformine se fait préférentiellement en fin de repas pour limiter les effets secondaires digestifs (douleurs abdominales, diarrhées et nausées notamment). De plus, les patients ressentent souvent un goût métallique à l'origine de

désagréments. Les troubles digestifs associés à la metformine, pourtant transitoires, restent la première cause d'arrêt du traitement [369]. La contre-indication principale de la prise de metformine est la présence d'une insuffisance rénale sévère qui entraîne un risque important d'acidose lactique par accumulation de biguanides. Les signes cliniques qui doivent alerter de cet effet indésirable rare mais grave sont les crampes musculaires, les douleurs abdominales ou thoraciques et l'asthénie. La prise en charge de l'acidose lactique requière une hospitalisation en urgence, 30 à 50% des cas d'acidose lactique étant mortels [370]. Le traitement par metformine doit être interrompu pour une durée de 48 heures après l'injection d'un produit de contraste iodé mais il n'est plus recommandé de l'interrompre 48 heures avant l'examen. Le traitement sera réintroduit après contrôle de la fonction rénale [371].

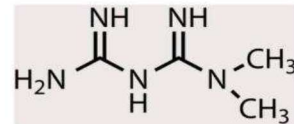
➤ **Formule clinique et origine**



Galéguine



Guanidine



Metformine
(1,1-diméthylbiguanide)

Figure 22: structure de la metformine. La metformine est un biguanide dérivé de la galéguine, extraite du lilas français [372]

➤ **Classification et produit commercialisés**

La metformine est le seul biguanide disponible sur le marché. Cependant, il existe deux versions différentes de ce médicament ;

Metformine IR (libération immédiate) - à prendre jusqu'à trois fois par jour

Metformine SR (libération lente) - généralement prise une fois par jour

➤ **Mécanisme d'action**

La metformine, agent antidiabétique de la famille des biguanides, est l'agent antidiabétique oral le plus couramment prescrit. selon les directives consensuelles [373]. Malgré son utilisation intensive, le mécanisme d'action de la metformine et sa ou ses cibles médicamenteuses sont restés largement inconnus depuis son introduction [374]. Cependant, il est désormais généralement admis que la metformine active la protéine kinase activée par l'adénosine monophosphate (AMPK) dans le foie [374]. Les principales actions pharmacodynamiques de la metformine sont de supprimer la production hépatique de glucose, d'augmenter l'absorption du glucose, d'améliorer la sensibilité à l'insuline dans les tissus périphériques, de diminuer la synthèse des acides gras et de réduire l'absorption intestinale du glucose [375]. Il existe une importante variabilité interindividuelle dans la réponse à la metformine. Des études cliniques ont démontré qu'environ 36% des patients ne parviennent pas à atteindre une glycémie à jeun de <140mg/dL avec la metformine seule [376]. En outre, on estime que jusqu'à 50 % des patients ne parviennent pas à obtenir un taux d'HbA1C <7 % après un an de monothérapie par la metformine [377]. Des recherches considérables ont été menées afin d'identifier les prédictors génétiques de la disposition et de la réponse à la metformine. Bien que la plupart des recherches se soient principalement concentrées sur les gènes candidats des transporteurs de médicaments, des études récentes ont adopté une approche GWAS pour interroger largement la pharmacogénomique de la réponse à la metformine [377] (Figure 23).

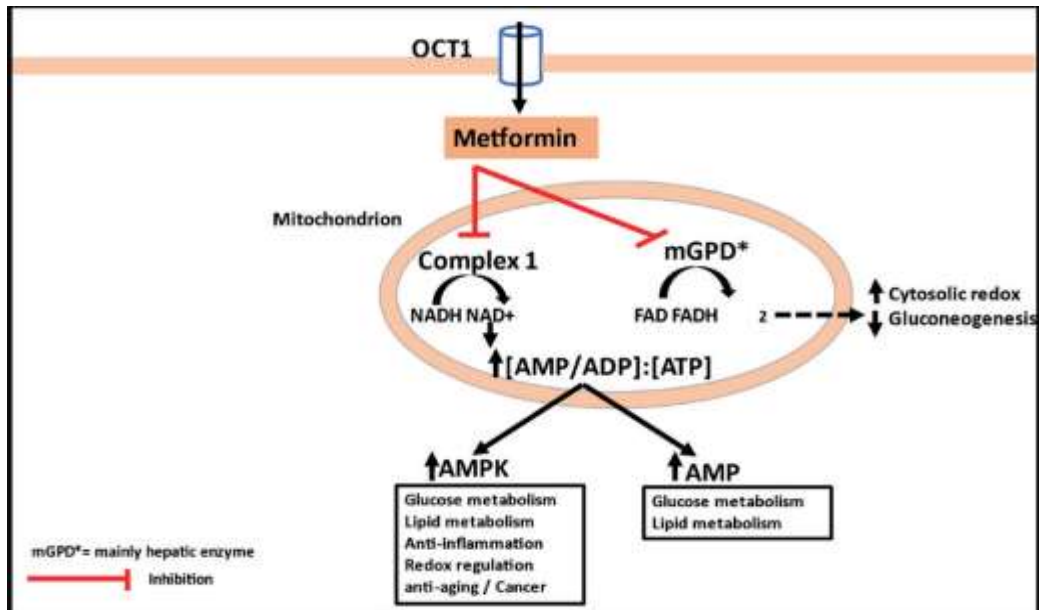


Figure 23: mécanisme d'action de la metformine

L'inhibition de la production hépatique de glucose par la metformine. La metformine est un inhibiteur modéré du complexe 1 de la chaîne respiratoire qui altère la balance énergétique cellulaire. La réduction de la disponibilité en ATP et l'élévation de l'AMP cellulaire induisent une inhibition de la production de glucose. L'activation de l'AMPK par l'augmentation du rapport AMP/ATP conduit à une réduction de la lipotoxicité et à une amélioration de la sensibilité à l'insuline (via la diminution de la lipogénèse et l'activation de la β -oxydation), permettant ainsi de rétablir le contrôle de la gluconéogenèse par l'insuline. AMPK : AMP-activated protein kinase; OCT1: organic Cation Transporter 1.

➤ Pharmacocinétique

La metformine n'est pas métabolisée [378], et est excrétée sous forme de particules dans l'urine, avec une demi-vie de ~5 h [379]. La moyenne de la clairance rénale (CL_r) chez une population est de 510±120 ml/min. La sécrétion tubulaire active dans le rein est la principale voie d'élimination de la metformine.

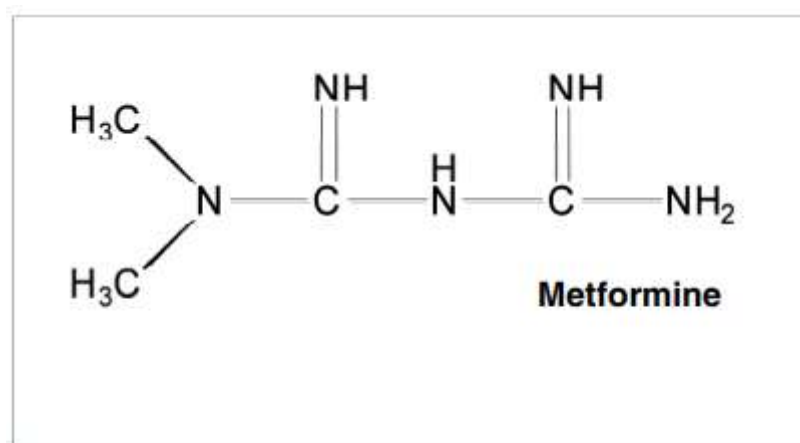


Figure 24: Structure chimique de la metformine [380]

L'absorption intestinale de la metformine peut être principalement médiée par le transporteur de monoamine de la membrane plasmique (PMAT), codé par le gène SLC29A4, qui est exprimé

sur le côté luminal des entérocytes [381]. Cependant, il n'existe pas actuellement de données in-vivo sur le rôle de la PMAT dans l'élimination et l'effet pharmacologique de la metformine. OCT3 (gène SLC22A3) est également exprimé sur la bordure en brosse des entérocytes et peut contribuer à l'absorption de la metformine [379-382]. En outre, OCT1 (gène SLC22A1), qui est exprimé sur la membrane basolatérale et le cytoplasme des entérocytes, pourrait faciliter le transfert de la metformine dans le liquide interstitiel [382]. Le rôle des OCT1 et OCT3 dans le transport intestinal de la metformine reste à déterminer.

L'absorption hépatique de la metformine est médiée principalement par OCT1 (SLC22A1) et éventuellement par OCT3 (SLC22A3). Les deux transporteurs sont exprimés sur la membrane basolatérale des hépatocytes. [379-383-384]. Chez les souris déficientes en Oct1, la concentration hépatique de metformine dans le foie est significativement plus faible que celle des souris témoins, ce qui suggère que OCT1 est essentiel pour l'absorption hépatique de la metformine [385]. En outre, les effets hypoglycémiques de la metformine ont été complètement abolis chez les souris déficientes en Oct1. La metformine est également un bon substrat pour l'extrusion de toxines et de drogues multiples 1 (MATE1, codé par le gène SLC47A1) et MATE2-K (gène SLC47A1). MATE2-K (gène SLC47A2) [383-386-387]. MATE1 (SLC47A1) est fortement exprimé dans le foie, les reins et les muscles squelettiques [388], et peut contribuer à l'excrétion de la metformine dans le foie et les reins. Cependant, le rôle de MATE1 dans la sécrétion hépatique a été mis en doute, car l'excrétion biliaire de la metformine semble être insignifiante chez l'homme [388]. Des données provenant d'une étude sur MATE1 des souris suggèrent que, au moins chez les rongeurs, l'excrétion biliaire de la metformine se produit [389].

➤ **Indication**

La metformine est indiquée en première intention dans le traitement du diabète non insulino-dépendant (type 2), en particulier en cas de surcharge pondérale (indice de masse corporelle [IMC] > 25 kg/m²), à partir de l'âge de 10 ans, lorsque l'exercice physique et le régime alimentaire sont insuffisants pour rétablir l'équilibre glycémique. Elle permet de diminuer le taux d'hémoglobine glyquée (HbA1c) d'environ 1,5 % (encadré 3). Ce traitement a démontré son efficacité dans la protection des risques cardiovasculaires chez le patient diabétique (survenue d'infarctus, d'accident vasculaire cérébral [AVC]), mais aussi dans la prévention des complications microvasculaires (rétinopathie, néphropathie, néphropathie...). Globalement, il permet une réduction significative de la mortalité globale et de la mortalité due au diabète. La metformine peut également être utilisée en dernier recours chez le patient

insulinodépendant (diabète de type 1 ou diabète de type 2 devenu insulinorequérant), en association avec l'insuline [390].

➤ **Contre indication**

Les contre-indications retenues par le fabricant sont les insuffisances rénales, hépatocellulaire, cardiaques et pulmonaires. Il ne faudrait pas les mettre sur le même plan, car la première conditionne le risque d'accumulation de metformine tandis que les suivantes conditionnent celui d'hyperproduction de lactate (insuffisances cardiaque et pulmonaire) ou de défaut d'épuration du lactate (insuffisance hépatocellulaire) et en définitive le pronostic. Notre analyse personnelle de la pharmacovigilance montre que, dans l'absolu, les tares viscérales, régulièrement associées au décès dans l'acidose lactique du sujet traité par metformine en dehors de l'insuffisance rénale, sont l'insuffisance cardiaque et l'insuffisance hépatocellulaire ; cependant, si l'on considère le pronostic relatif au nombre total des patients présentant ces pathologies, c'est dans l'insuffisance hépatocellulaire qu'il est le plus défavorable [391].

➤ **Effets indésirables**

Les effets secondaires les plus courants sont d'ordres gastro-intestinaux avec des douleurs abdominales, et des diarrhées. Ces effets secondaires sont le plus souvent transitoires et cessent à l'arrêt du traitement. La complication principale de l'intoxication par la metformine est la survenue d'une acidose lactique. Le mécanisme de survenue d'une acidose lactique chez les patients traités par metformine est complexe et multifactoriel. L'inhibition de la néoglucogenèse hépatique empêche la métabolisation du lactate produit par le muscle et surtout l'inhibition du complexe I de la chaîne respiratoire accélère la glycolyse, oriente le métabolisme vers un fonctionnement anaérobie et aboutit à une baisse de la consommation d'oxygène et à la production de lactates [392].

➤ **Pharmacogénétique**

La pharmacogénétique de la metformine est principalement axée sur les variants génétiques de ses transporteurs. Les SNP au sein du transporteur de cations organiques (OCT) 1-3 (codé par SLC22A1, SLC22A2, SLC22A3), de l'extrusion de toxines et de drogues multiples (MATE) (codé par SLC47A1/ SLC47A2), du transporteur de monoamines plasmatiques (PMAT, codé par SLC29A4), le transporteur de recapture de la sérotonine (SERT ; codé par SLC6A4) ainsi que le transporteur de la thiamine (THTR-2 ; codé par SLC19A3) ont été

signalés comme participant au processus d'élimination de la metformine [393-394]. Ainsi, les variantes génétiques des transporteurs mentionnés ci-dessus ont probablement un impact sur la pharmacocinétique de la metformine, accompagné ou non d'une influence sur la pharmacodynamique.

Au cours des dernières décennies, on a découvert une cinquantaine de SNP susceptibles d'affecter la réponse glycémique, dont plusieurs variantes génétiques identifiées par une GWAS. Il s'agissait des rs11212617 proches de l'ATM (un régulateur de la cible de la metformine, AMPK), rs8192675 dans SLC2A2 (le gène codant pour un transporteur de glucose, GLUT2), rs254271 dans PRPF31 (pre-mRNA processing factor 31) et rs2162145 dans CPA6 (carboxypeptidase A6) [395-396].

Les résultats des différentes études ne sont pas concluants et présentent des conclusions divergentes. Prenons l'exemple du rs11212617 près de ATM : plusieurs chercheurs ont tenté de réaliser une réplique et une méta-analyse de ce locus pour confirmer son influence, mais les résultats étaient incohérents [397]. De plus, ces recherches sur le criblage à haut débit ont toutes été menées dans une population multiethnique, parmi laquelle les Asiatiques représentaient une faible proportion ou n'étaient pas inclus. [398]

Cependant, les résultats d'études portant sur des patients DT2 traités par la metformine montrent une association cohérente de deux variants hautement liés de SLC22A1 (rs2289669G>A et rs8065082C>T) avec la réduction de l'HbA1c et la réponse à la metformine.. Dans une étude portant sur 116 patients atteints de DT2 traités par la metformine, chaque allèle A de MATE1 rs2289669 A était associé à une réduction accrue de 0,30 % de l'HbA1c. Le rs8065082C>T a fait objet de notre deuxième travail pratique. [252].

2. Thiazolidinediones ou glitazones

Les thiazolidinediones (ou glitazones) sont des agonistes du récepteur γ activé par le peroxisome proliferator (PPAR γ). PPAR γ régule le stockage des acides gras et le métabolisme du glucose par la modulation de divers gènes. Les gènes qui stimulent l'absorption des lipides et l'adipogenèse par les cellules graisseuses. Les thiazolidinediones sont les ligands les plus puissants du PPAR γ et sont des sensibilisateurs à l'insuline car ils augmentent la sensibilité des muscles, de la graisse et du foie à l'insuline exogène. Elles abaissent le taux de HbA1c de 0,5 à 1,4 % et semblent avoir un effet plus durable sur le contrôle de la glycémie par rapport à d'autres médicaments ADO à l'origine, les thiazolidinediones utilisées en clinique comprenaient trois médicaments, à savoir la pioglitazone, la rosiglitazone et la troglitazone. Cependant, la troglitazone a été retirée du marché il y a plus de dix ans en raison

d'une réaction idiosyncrasique entraînant une hépatite médicamenteuse ; plus récemment, la rosiglitazone et son produit combiné avec la metformine ont également été officiellement retirés du marché par la FDA et l'Agence européenne des médicaments. FDA et l'Agence européenne des médicaments (EMA) en raison d'une augmentation apparente du risque cardiovasculaire. La pioglitazone est donc la seule thiazolidinedione actuellement disponible sur le marché.

Cependant, des études pharmacogénomiques ont été menées pour l'ensemble des ADO cités. ils sont incluses et discutées dans le tableau suivant qui résume les études pharmacogénomiques et le devenir des ADO et la réponse thérapeutique) [399].

➤ Formule clinique et origine

Dérivés comportant la pharmacophore thiazolidine-2,4-dione et un chaînon benzylique diversement substitué par un groupe éther. Ces dérivés sont employés sous forme racémique (pioglitazone) ou sous forme d'énantiomère (rosiglitazone ; Forme R)

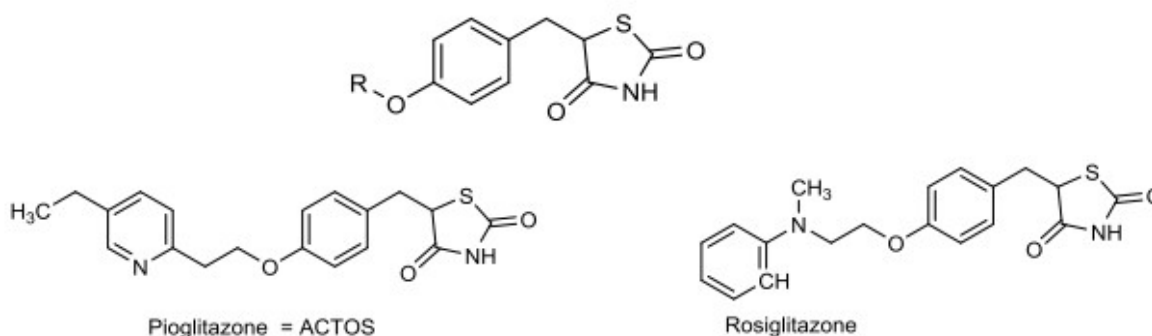


Figure 25: Formule chimique de Thiazolidione [400]

➤ Classification et produit commercialisés

Les thiazolidinediones (TZD) constituent une classe d'agents antidiabétiques.

La troglitazone (Rezulin®), la rosiglitazone (Avandia®) et la pioglitazone (Actos®), ainsi que plusieurs autres qui n'ont fait l'objet que d'études précliniques. Les TZD ont été initialement découverts en recherchant des composés ayant une action hypoglycémiant chez la souris [400], modèles animaux obèses et diabétiques présentant une résistance à l'insuline [401].

➤ Mécanisme d'action

Les TZDs corrigent l'hyperglycémie, l'hyperinsulinémie et l'insulino-résistance dans un grand nombre de modèles animaux de diabète non insulino-dépendant d'origine génétique (rats Zucker Diabetic Fatty, rats Goto- Kakizaki) ou expérimentale (rats nourris avec un régime hyperlipidique ou un régime riche en fructose, rats traités par la glucosamine) [402-403]. Les premiers essais cliniques réalisés chez l'homme ont montré que ces médicaments diminuaient la glycémie postprandiale et réduisaient l'insulinémie [404-405]. Les TZDs n'ont pas d'effet immédiat et un traitement d'une à trois semaines est nécessaire pour observer la diminution de la glycémie [405]. Ce sont des activateurs du peroxyosome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ), récepteur appartenant à la superfamille des récepteurs nucléaires, surtout exprimé dans le tissu adipeux, mais aussi dans le rein, l'intestin grêle, le colon, le poumon et dans les macrophages. Les récepteurs PPAR γ existent sous forme d'hétérodimères avec le récepteur des rétinoïdes (RXR=9-cis retinoic acid receptor). Une fois activés par leurs ligands, les PPAR γ forment des hétérodimères avec le récepteur nucléaire RXR et modulent la transcription après s'être fixés sur des séquences spécifiques PPRE (peroxisome proliferator response elements) localisées dans les régions régulatrices de leurs gènes cibles. Ainsi, l'expression des gènes impliqués dans le métabolisme des lipides et du glucose est sous le contrôle de l'activation des PPAR γ . La liaison à ces récepteurs entraîne une stimulation de la synthèse de la protéine de transport du glucose (Glut-4) et favorise l'incorporation de celle-ci dans la membrane des cellules insulino-sensibles, ce qui diminue la résistance à l'insuline au niveau des tissus périphériques (muscles, tissus adipeux) et diminue la gluconéogenèse hépatique. L'activation de PPAR γ , par les glitazones entraîne la lipolyse des triglycérides plasmatiques et leur stockage dans les adipocytes. De plus, elles induisent l'expression de la glycérol-kinase adipocytaire, qui stimule l'incorporation du glycérol dans les triglycérides et réduit la sécrétion d'acides gras libres par les adipocytes. Ces actions entraînent une réduction de la quantité d'acides gras et de triglycérides circulants. Les adipocytes produits sont de taille plus petite, et plus sensibles à l'action de l'insuline. Ainsi, les TZDs réduisent l'hyperglycémie et améliorent le profil lipidique chez les patients diabétiques de type 2 [406].

➤ Pharmacocinétique

Les thiazolidinediones sont rapidement absorbées et atteignent un pic de concentration en quelques heures. L'état d'équilibre est généralement atteint en une semaine, mais peut-être en raison de l'importance de la redistribution des graisses. L'importance de la redistribution des graisses, le bénéfice complet peut prendre 4 à 12 semaines pour se manifester. La

rosiglitazone et la pioglitazone sont fortement liées aux protéines dans la circulation, principalement à l'albumine. Aucune interaction médicamenteuse significative n'a été signalée avec les thiazolidinediones, mais il faut noter qu'en association avec les sulfonyles, une hypoglycémie peut survenir en raison de l'association d'une meilleure sensibilité accrue à l'insuline (thiazolidinediones) et d'une sécrétion accrue d'insuline (sulfonyles). Les thiazolidinediones sont métabolisées par le CYP P450 2C8 (et par le CYP3A4 pour la pioglitazone), mais à des doses conventionnelles, elles n'ont apparemment pas d'effet sur l'insuline. aux doses conventionnelles n'affectent apparemment pas l'activité de ces enzymes. La prudence reste de mise lors de l'utilisation thiazolidinediones en association avec des médicaments métabolisés par ces enzymes [407].

➤ Indication

L'utilisation de thiazolidinediones, également appelées "glitazones", dans la prise en charge du diabète de type 2 peut aider à contrôler la glycémie et la résistance à l'insuline. Il existe deux thiazolidinediones, la rosiglitazone et la pioglitazone, actuellement approuvées par la FDA en monothérapie ou en association avec la metformine ou les sulfonyles pour la prise en charge du diabète de type 2. L'utilisation de ces médicaments doit être associée à des modifications du mode de vie telles que le régime alimentaire, l'exercice physique et la réduction du poids. Les thiazolidinediones peuvent également être utilisées pour traiter le syndrome des ovaires polykystiques, car elles peuvent entraîner une amélioration de la fonction endothéliale, une amélioration de l'ovulation et une réduction de la résistance à l'insuline [408]. La pioglitazone réduit spécifiquement la graisse hépatique et peut améliorer la fibrose hépatique chez les patients atteints de stéatohépatite non alcoolique (NASH) ; toutefois, des variables et des risques supplémentaires doivent être évalués chez les patients atteints de NASH [409]. L'avantage le plus important des TZD est qu'ils ne provoquent pas d'hypoglycémie en monothérapie et qu'ils ne sont pas contre-indiqués chez les patients atteints de maladie rénale [410].

➤ Contre indication

Il existe plusieurs contre-indications à l'utilisation des thiazolidinediones, notamment :
L'Insuffisance cardiaque (New York Heart Association classe III, IV) : ont déclaré que les patients souffrant d'insuffisance cardiaque symptomatique de classe III, IV à New York Heart Association doivent utiliser les TZD à la dose la plus faible possible, voire pas du tout, en raison du risque de rétention d'eau et de dysfonctionnement cardiaque diastolique [411].

L'Insuffisance hépatique modérée à sévère : La troglitazone a été retirée du marché en raison de son hépatotoxicité. Bien que la rosiglitazone ou la pioglitazone n'aient pas montré les mêmes effets hépatotoxiques, la recommandation est toujours que les patients subissent une surveillance de base et périodique de la fonction hépatique. Les patients dont l'ASAT ou l'ALAT est supérieur ou égal à 3 fois la limite supérieure de référence doivent interrompre le traitement par TZD [412].

Le Cancer de la vessie : La pioglitazone ne doit pas être utilisée chez les patients atteints d'un cancer actif de la vessie. Chez les patients ayant des antécédents de cancer de la vessie, le risque de récurrence par rapport aux avantages du contrôle glycémique doit être pris en considération avant de commencer un traitement par la pioglitazone. La rosiglitazone n'a pas montré de risques similaires de cancer de la vessie [413].

La Grossesse : La FDA classe les TZD dans la catégorie de grossesse C avec potentiel tératogène, car le PPAR-gamma est nécessaire à la différenciation terminale du trophoblaste et à la vascularisation du placenta. Les patientes enceintes doivent passer à un autre insulinosensibilisateur, comme la metformine [414].

Un risque élevé de fractures : En raison de l'augmentation du risque de fractures, les patients qui présentent un risque élevé de fractures, tels que ceux ayant des antécédents d'ostéoporose, les femmes ménopausées ou les patients prenant d'autres médicaments qui augmentent le risque de fractures (tels que les glucocorticoïdes et les IPP), ne doivent pas commencer un traitement par TZD [415][416][417][418][419].

Les cytochromes CYP 2C8 et CYP 3A4 sont nécessaires au métabolisme des TZD ; par conséquent, les inducteurs et les inhibiteurs de cytochromes doivent être utilisés avec prudence car ces médicaments peuvent affecter les concentrations plasmatiques des TZD.

➤ Effets indésirables

Les thiazolidinediones présentent plusieurs effets secondaires indésirables, en particulier lors d'une utilisation à long terme. Les risques par rapport aux avantages doivent être discutés avec les patients et des agents alternatifs de première ligne doivent être essayés avant d'utiliser les TZD. Parmi ces effets :

- ✓ Œdème et insuffisance cardiaque congestive

Il a été démontré que les TZD provoquent une rétention hydrique liée à la dose jusqu'à 20 % des patients. Les méthodes de rétention de liquide comprennent les récepteurs PPAR-gamma dans le néphron distal et les canaux sodiques épithéliaux activés par l'insuline dans les tubules collecteurs. L'activation de PPAR-gamma stimule la réabsorption du sodium, agissant au

même endroit que l'aldostérone. Les patients présentant un œdème préexistant ou une insulinothérapie concomitante sont plus exposés au risque d'œdème et doivent commencer par la dose la plus faible disponible [420-421-422] Chez la plupart des patients, la rétention hydrique répondra aux diurétiques tels que les thiazides ou la spironolactone si l'œdème est léger ou aux diurétiques de l'anse pour les cas graves. De plus, des doses plus faibles de 15 et 30 mg par jour diminuent le risque d'œdème et de prise de poids.

Il existe des rapports faisant état d'une augmentation du volume intravasculaire au point de provoquer une insuffisance cardiaque congestive. Les TZD doivent donc être utilisés avec prudence chez les patients présentant une dysfonction diastolique ou des antécédents d'ICC. Le risque d'insuffisance cardiaque et de décès est plus élevé avec la rosiglitazone qu'avec la pioglitazone [423].

➤ Pharmacogénétique

Les études pharmacogénétiques sont limitées et se sont concentrées sur la pharmacocinétique des TZD et la variation du gène cible clé PPAR γ .

Comme pour les sulfonylurées, les effets les plus importants sont observés pour les variantes modifiant la pharmacocinétique des TZD. L'absorption hépatique des TZD est médiée par l'OAT1B1 et leur métabolisme est principalement assuré par le CYP2C8. Ces éléments ont été évalués ensemble dans une étude d'observation de taille modérée, toujours dans la cohorte GoDARTS44 : 833 patients ont été identifiés comme ayant commencé un traitement par TZD, dont 273 ont été traités par la pioglitazone et 519 par la rosiglitazone. Pour ceux traités par la rosiglitazone, ceux porteurs de l'allèle CYP2C8*3 à fonction accrue présentaient une réduction de l'HbA1c inférieure à celle du type sauvage (β allélique = -0,21 %, P = 0,01) et connaissaient une moindre prise de poids (β allélique = -0,93 kg, P = 0,02). Le variant SLCO1B1 521C (rs4149056) a été associé à une plus grande réduction de l'HbA1c (β allélique = 0,18 %, P = 0,04), mais pas à une prise de poids, après un traitement à la rosiglitazone [424]. Lorsque les deux variants ont été considérés ensemble, les patients qui avaient un transport réduit de l'OAT1B1 et un métabolisme normal du CYP2C8 avaient une réduction de l'HbA1c de 0,39 % (4 mmol/mol ; P = 0,006) supérieure à celle des mauvais répondeurs [424]. Il est intéressant de noter qu'aucun effet de ces variantes n'a été observé avec la pioglitazone, ce qui est probablement dû au fait que, contrairement à la rosiglitazone, les métabolites de la pioglitazone sont actifs, de sorte que les variantes du CYP2C8 ne devraient pas modifier la réponse.

La variante Pro12Ala (rs1801282) de PPAR γ a été l'une des premières variantes de risque de diabète de type 2 reproduites de manière robuste. Étant donné qu'il s'agit du gène cible des thiazolidinediones, il s'agit d'un candidat solide pour la modification de la réponse glycémique aux TZD. Cependant, peu d'études ont fait état de cette variante. L'étude la plus solide rapportée est encore de petite taille, examinant la réponse aux TZD chez 250 patients chinois. Par rapport aux individus de type sauvage, les 104 porteurs de l'allèle mineur avaient un OR de 2,32 ((IC 95 % = 1,10-4,87) P = 0,03) d'être un répondeur [425]. L'association de la même variante avec une réduction linéaire de l'HbA1c et de la glycémie à jeun après un traitement par la pioglitazone a été reproduite dans une cohorte indépendante de 67 patients [426]. Une tendance similaire a été rapportée chez 198 patients coréens traités par 4 mg de rosiglitazone par jour pendant 3 mois [427].

V.LES MEDICAMENTS QUI REDUISENT L'ABSORPTION DES SUCRES

1. Inhibiteurs des alpha-glucosidases.

Les inhibiteurs de l'alpha glucosidase sont représentés par 2 molécules, l'acarbose et le miglitol. Il s'agit de produits qui inhibent l'action des α -glucosidases digestives utilisés dans la digestion des sucres complexes. Cette propriété entraîne un retard à l'absorption des glucides et produit donc un retard de la montée glycémique postprandiale. Ce mode d'action fait de ces molécules d'excellents hypoglycémisants pour la période postprandiale. Cependant, ce retard de la digestion entraîne une accumulation anormale de glucides dans le côlon et favorise les fermentations bactériennes entraînant la production de gaz parfois très gênantes pour les patients. L'avantage de ces molécules est qu'ils diminuent le risque cardiovasculaire et n'entraînent pas d'hypoglycémie. Leur coût reste modéré. En raison de leur mode d'action, l'administration est recommandée en début des repas. En cas d'hypoglycémie sous traitement, il est recommandé d'administrer du glucose pour obtenir une augmentation rapide de la glycémie (monosaccharide directement absorbable par l'intestin lorsque les alpha-glucosidases sont inhibées). Chez l'insuffisant hépatique une surveillance des transaminases doit être réalisée en cas de traitement par l'acarbose [428].

➤ Formule clinique et origine

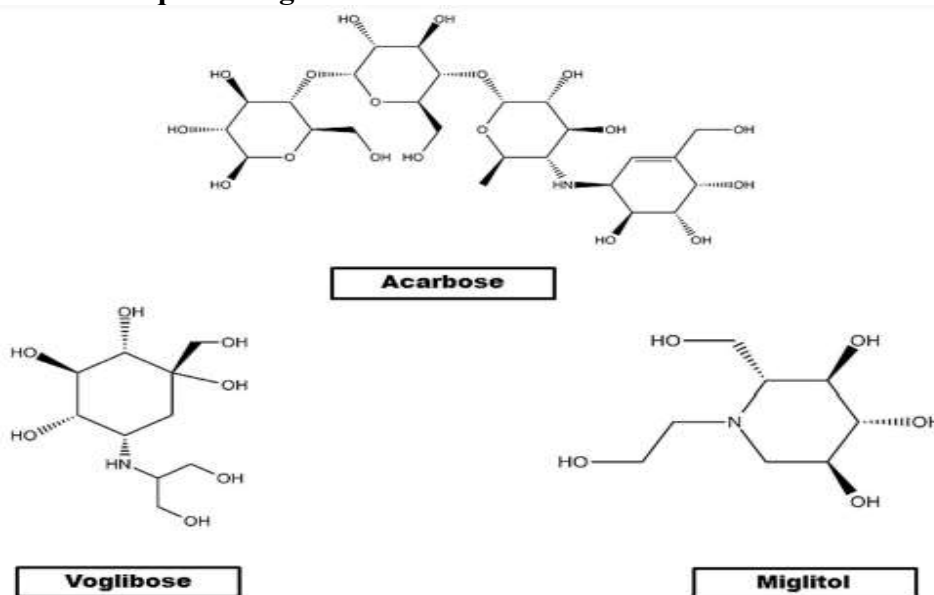


Figure 26: structures chimiques des inhibiteurs des α -glucosidase [429]

➤ Classification et produits commercialisés

Cette classe thérapeutique compte deux représentants commercialisés en France :

-l'acarbose GLUCOR cp 50 ou 100mg

-le miglitol DIASTABOL cp 50 ou 100mg

L'acarbose a été découvert dans les années 70 mais la suspicion d'un effet carcinogène, Ensuite démenti, a retardé son apparition sur le marché français, qui n'a eu lieu qu'en 1994, suivie 4 ans plus tard de celle du miglitol.

En permettant un contrôle glycémique post-prandial, les inhibiteurs des α -glucosidases ont représenté, à leur apparition, une innovation thérapeutique depuis la découverte des SH et de la metformine [429].

➤ Mécanisme d'action

Les α -glucosidases sont des enzymes de la bordure en brosse intestinale. Elles assurent l'hydrolyse des résidus de la digestion de l'amidon et des disaccharides alimentaires (à l'exception du lactose), étape préliminaire à l'absorption des glucides issus de l'alimentation. Il existe plusieurs α -glucosidases : la glucomylase, la saccharase, la maltase, l'isomaltase, et la tréhalase.

Les IAG inhibent de façon compétitive et réversible les α -glucosidases, principalement la saccharase et la gluco-amylase. Il en résulte un retard à l'absorption des glucides alimentaires, permettant une baisse du pic d'hyperglycémie post-prandiale [429].

➤ Pharmacocinétique

Les inhibiteurs des alpha-glucosidases sont administrés par voie orale. L'acarbose subit un fort effet de premier passage hépatique

Tableau V: les étapes de la pharmacocinétique des inhibiteurs des α -glucosidases

Etapes	effets
Biodisponibilité	Très faible (1 % pour l'acarbose) à élevée (60 à 90 % pour le miglitol)
Biotransformation	Métabolisation intestinale pour l'acarbose Pas de métabolisation pour le miglitol
Élimination	Urinaire sous forme inchangée (miglitol) ou mixte urinaire/biliaire (acarbose)
Demi-vie	Six à huit heures pour l'acarbose Deux à trois heures pour le miglitol

➤ Indication

◆ Les inhibiteurs des alpha-glucosidases sont indiqués dans le traitement du diabète de type 2, en complément du régime alimentaire, en monothérapie (en cas d'intolérance à la metformine et aux sulfamides hypoglycémiants) et en association aux autres thérapeutiques antidiabétiques (sulfamides uniquement pour le miglitol, biguanides ou insuline).

◆ Ils ont une indication particulière lorsque l'hyperglycémie est essentiellement post-prandiale [430].

◆ Haute Autorité de santé (HAS), Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM). Recommandation de bonne pratique. Stratégie médicamenteuse du contrôle glycémique du diabète de type 2.

➤ Contre indication

Les inhibiteurs des alpha-glucosidases sont contreindiqués en cas :

◆ D'insuffisance rénale sévère (clairance à la créatinine)

◆ De pathologies chroniques de l'appareil digestif associant des troubles de la digestion et de l'absorption, maladies inflammatoires chroniques des intestins, hernies intestinales majeures, antécédents de syndromes subocclusifs.

◆ Quelques précautions d'emploi doivent être respectées :

◆ l'administration est recommandée au début des repas en raison de leur mode d'action ;

◆ en cas d'hypoglycémie sous traitement, il faut administrer du glucose (et non du saccharose) afin d'obtenir une augmentation rapide de la glycémie (mono saccharide directement absorbable par l'intestin lorsque les alpha-glucosidases sont inhibés) [430].

➤ Effets indésirables

Les effets indésirables les plus fréquents (près d'un tiers des patients) concernent des affections gastro-intestinales (en raison de l'augmentation de la fermentation des hydrates de carbone dans le côlon) : flatulence, météorisme, dyspepsie, diarrhées, nausées, douleurs abdominales et occlusions. Ces symptômes dépendent de la posologie et du régime alimentaire. Ces effets sont généralement réversibles au cours du traitement et diminuent également lorsque le régime hypoglucidique prescrit est respecté. L'étalement progressif de la posologie jusqu'à la dose souhaitée permet de les prévenir ou de les diminuer. Si les symptômes persistent, la posologie doit être temporairement ou définitivement réduite. Des affections hépatobiliaires peuvent survenir, telles qu'une augmentation transitoire des enzymes hépatiques, un ictère et de rares hépatites potentiellement graves.

Des affections de la peau et du tissu sous-cutané sont susceptibles d'apparaître : éruption, érythème, exanthème et urticaire [431-432].

➤ Pharmacogénétique

Les interactions entre l'acarbose et les loci PPARA, HNF4A, LIPC, PPARG2 et PPARGC1A ont été évaluées dans l'essai STOP-NIDDM avec un suivi de 3,3 ans pour le risque de diabète. Deux des 11 SNP du locus PPARA étaient associés à la réponse à l'acarbose [431]. Sur six SNP du locus HNF4A, deux étaient associés à la réponse à l'acarbose [433]. Des SNP uniques au niveau des loci LIPC et PPARGC1A ont également été associés à la réponse à l'acarbose [434-432].

VI. LES MÉDICAMENTS QUI AGISSENT PAR LE BIAIS DES INCRÉTINES

1. Les inhibiteurs de la dipeptidylpeptidase-4 (ou gliptines)

➤ Formule clinique et origine

La DPP-IV est composée de 776 acides aminés.

C'est une glycoprotéine transmembranaire. Son extrémité carboxy-terminale est présente à l'extérieur des membranes cellulaires tandis que son extrémité amino-terminale forme une petite extension cytoplasmique.

Dans la classification, elle se situe dans les groupes suivants :

- ◆ Peptidases=enzymes protéolytiques : elle coupe les liaisons peptidiques
- ◆ Exopeptidases : elle détache des acides aminés au niveau d'une extrémité
- ◆ Clan SC : elle est constituée d'un noyau central de feuille β entourés d'hélices α
- ◆ Famille S : sérine peptidase : son site catalytique est constitué d'une sérine
- ◆ Sous famille S9B : le motif autour du site actif constitué par la sérine est le suivant : Gly-Trp-Ser-Tyr-Gly-Gly-Tyr [435]

➤ **Classification et produit commercialisés**

Deux inhibiteurs de la DPP-4, actifs par voie orale, sont déjà commercialisés, la sitagliptine (Januvia®) [436] et la vildagliptine (Galvus®) [437]. Ces médicaments, dits incrétinopotentiators [438], sont actuellement utilisés après échec d'une monothérapie par metformine [439] et sont aussi disponibles sous forme d'une combinaison fixe avec la metformine, sous les noms de Janumet® [440] et d'Eucreas® [437], respectivement. Ils se distinguent des médicaments dits incrétinomimétiques qui, après injection sous-cutanée, agissent directement comme agonistes des récepteurs au GLP-1 [438]. Deux incrétinomimétiques sont commercialisés actuellement et ils ont déjà été présentés dans la rubrique «Le Médicament du mois», l'exénatide (Byetta®, Eli Lilly) [441] et, récemment, le liraglutide (Victoza®, NovoNordisk) [442].

➤ **Mécanisme d'action**

La saxagliptine est un puissant inhibiteur compétitif de la DPP-4 dont l'action est sélective et réversible. Elle a une plus grande affinité sélective pour la DPP-4 que pour les autres enzymes DPP, dont la DPP-8 et la DPP-9. La saxagliptine se fixe au site de liaison de la DPP-4 durant une longue période et inhibe cette enzyme pendant au moins 24 heures après une dose orale unique. L'inhibition de la DPP-4 entraîne une moindre dégradation du GLP-1 et du GIP, sécrétés naturellement en réponse aux repas, en produits inactifs, ce qui augmente les taux circulants des deux incrétines biologiquement actives. Ce mécanisme d'action de la saxagliptine, partagé par tous les inhibiteurs de la DPP-4, explique pourquoi la sécrétion d'insuline est stimulée de façon gluco-dépendante. La réponse insulinosécrétoire est amplifiée en cas d'hyperglycémie (comme après un repas), mais elle n'est plus stimulée en cas de valeurs glycémiques basses. Dès lors, cette classe de médicaments n'expose pas à un risque accru d'hypoglycémie, contrairement aux sulfamides. Ces derniers stimulent la sécrétion d'insuline en fermant les canaux potassiques de la cellule β , indépendamment du niveau de la

glycémie ambiante, ce qui peut entraîner une sécrétion inappropriée d'insuline en cas de glycémie relativement basse.

➤ **Pharmacocinétique :**

La pharmacocinétique de la saxagliptine a été caractérisée de manière exhaustive chez des sujets sains et des patients atteints de diabète de type 2 [443]. Nous avons eu l'occasion de comparer les caractéristiques pharmacocinétiques [444] et le risque d'interactions médicamenteuses [445] de la saxagliptine et des autres inhibiteurs de la DPP-4 dans deux articles de revue récente. La saxagliptine est rapidement absorbée. Après administration par voie orale, la concentration plasmatique maximale (C_{max}) est habituellement atteinte dans les 2 heures chez le sujet à jeun. Lorsque la saxagliptine est prise avec un repas, le T_{max} est retardé de 0,5 heures. L'aire sous la courbe (ASC) des concentrations plasmatiques de la saxagliptine est augmentée de 27% après un repas gras. Ces deux modifications sont, cependant, considérées comme sans signification clinique. En conséquence, la saxagliptine peut être administrée avec ou sans aliments. La C_{max} et l'ASC augmentent en proportion de la dose et les coefficients de variation de la C_{max} et de l'ASC chez un même sujet sont inférieurs à 12 %.

Le taux de liaison de la saxagliptine aux protéines plasmatiques est très faible. Le métabolisme de la saxagliptine dépend principalement des isoenzymes 3A4 et 3A5 du système du CYP P450 (CYP 3A4 et CYP 3A5). Le principal métabolite de la saxagliptine est également un inhibiteur compétitif de la DPP-4 dont l'action est sélective et réversible, mais qui a deux fois moins de pouvoir inhibiteur que la molécule mère. Après la prise orale d'une dose unique de 10 mg de saxagliptine à jeun, la demi-vie (t_{1/2}) terminale moyenne du principal métabolite s'est élevée à 3,1 heures; aucune accumulation notable du métabolite n'a été observée après l'administration unique quotidienne pendant plusieurs jours.

La saxagliptine est éliminée tant par voie rénale que par voie hépatique. Après l'administration d'une dose unique de 50 mg de saxagliptine marquée au ¹⁴C, 24, 36 et 75 % de la dose ont été récupérés dans les urines sous forme de saxagliptine, de son métabolite principal et de radioactivité totale, respectivement. La clairance rénale moyenne de la saxagliptine (~230 ml/min) est plus rapide que le taux de filtration glomérulaire estimé moyen (~120 ml/min), ce qui suggère qu'une fraction du médicament est excrétée activement par les reins. La clairance rénale du principal métabolite est comparable au taux de filtration glomérulaire estimé. La récupération dans les fèces de 22 % de la radioactivité de la dose

administrée correspond à la fraction de la dose de saxagliptine excrétée par voie biliaire et/ ou non absorbée par le tube digestif.

➤ **Indication**

- ◆ En monothérapie pour la Sitagliptine, uniquement si la metformine est contreindiquée ou non tolérée,
 - ◆ En bithérapie, en association à la metformine, à un sulfamide hypoglycémiant, ou à une glitazone, lorsque les règles hygiéno diététiques et la monothérapie ne donnent pas un bon contrôle glycémique,
 - ◆ En trithérapie en association avec la metformine et avec un sulfamide hypoglycémiant.
- L'utilisation des gliptines est à privilégier pour les patients pour qui la prévention du risque d'hypoglycémie est importante, et une prise de poids potentiellement délétère.

➤ **Contre indication**

- Hypersensibilité au principe actif ou à l'un des excipients, - femme enceinte ou allaitante, - enfant et adolescent, - diabète de type 1 et personnes en acidocétose diabétique, - insuffisance rénale modérée (DFG < 50 ml/mn) - anomalies hépatiques, - insuffisance hépatique sévère pour la sitagliptine, - transaminases > 3N pour la vildagliptine.

➤ **Effets indésirables**

Les principaux effets secondaires décrits avec les gliptines sont : - infections des voies aériennes supérieures, - réactions d'hypersensibilité (anaphylaxie, angioœdème et lésions cutanées exfoliatives y compris le syndrome de Stevens-Johnson), - élévation des transaminases (vildagliptine), - troubles digestifs (nausées, constipation, diarrhée, douleurs abdominales), - troubles musculo-squelettiques, - toxicité sur la reproduction chez l'animal, - passage dans le lait maternel.

➤ **Pharmacogénétique**

La seule étude pour les inhibiteurs de la DPP-4 a identifié qu'une variante (rs7202877) près du gène du chymotrypsinogène B1/2 (CTRB1/2) était associée à la réponse glycémique aux inhibiteurs de la DPP-4. Le signal initial a identifié la variante génétique comme étant associée à la sécrétion d'insuline induite par le glucagon-like peptide-1. Le gène CTRB1/2 code pour la chymotrypsine, et l'allèle rs7202877G était associé à une augmentation de

l'activité de la chymotrypsine fécale. Une étude de suivi a identifié la même variante comme étant associée à la réduction de l'HbA1c chez 49 patients des Pays-Bas et 305 patients de l'étude GoDARTS : les porteurs de l'allèle rs7202877G ont montré une réduction de l'HbA1c de $0,51 \pm 0,16$ % inférieure à celle du génotype rs7202877 TT ($P = 0,0015$) après avoir été sous gliptine pendant au moins 3 mois [446].

2. les analogues de la glucagon-like peptide (GLP-1).

➤ Formule clinique et origine

Il a été montré, il y a plus de 40 ans, que deux délivrances orales de glucose, l'une double de l'autre, déclenchaient une sécrétion d'insuline différente, alors même que les évolutions de la glycémie au cours du test restaient similaires [447] : cette observation démontrait que la glycémie n'est pas le seul facteur contrôlant la sécrétion d'insuline. D'autres travaux montrèrent ultérieurement que, pour une même charge de glucose, la quantité d'insuline sécrétée différait selon que le glucose était administré par voie orale ou par voie intraveineuse, et cela avec des valeurs de glycémie égales au cours du test [448-449] : c'est « l'effet incrétine », dont l'existence avait été pressentie dès 1906 [404]

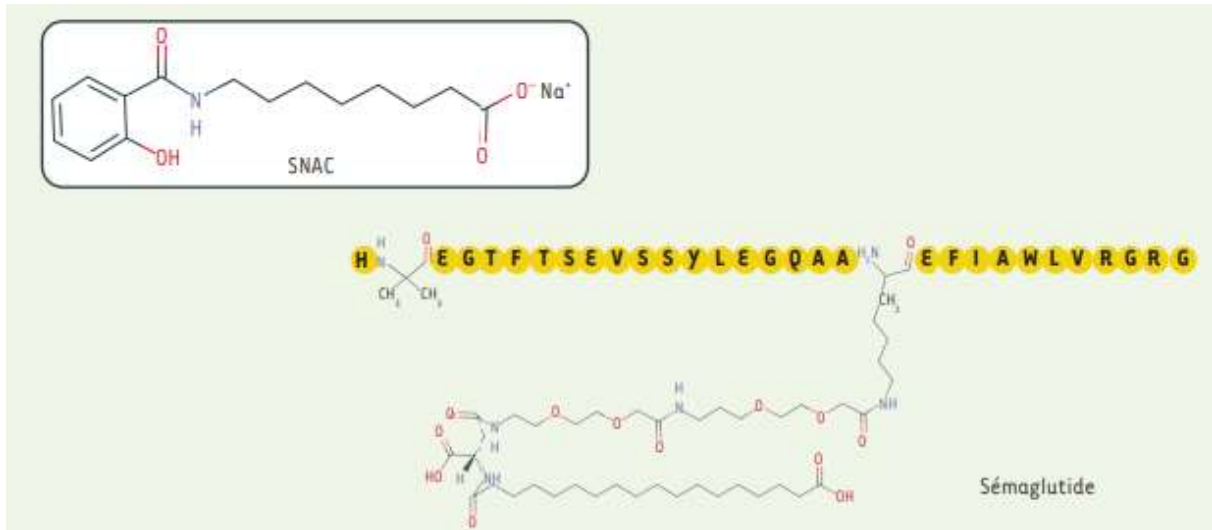


Figure 27: Formules du N- [8 (2-hydroxybenzoyl) amino] caprylate de sodium (SNAC) et des sémaglutide. [450]

➤ Classification et produit commercialisés

Le sémaglutide en solution injectable (Ozempic®) est commercialisé en France (AMM de l'agence européenne des médicaments en 2018) sous forme de trois doses injectables possibles (0,25 mg, 0,5 mg, 1 mg), et avec une recommandation d'administration

hebdomadaire par voie sous-cutanée. Cette fréquence d'administration est similaire à celle indiquée pour le dulaglutide, tandis que le liraglutide et l'exénatide dans sa forme princeps doivent respectivement être administrés quotidiennement et biquotidiennement. La séquence peptidique du sémaglutide présente 94 % d'identité avec celle du GLP1, et comporte notamment deux modifications d'acides aminés : la première abolit le site de liaison à la DPP4, la seconde permet le branchement d'un acide stéarique en position C26. Ces deux modifications contribuent à prolonger la durée d'action du peptide, qui est de 8 jours pour le sémaglutide injectable, alors qu'elle n'est que de quelques minutes pour le GLP1 natif. [451-452]

➤ **Mécanisme d'action**

L'effet incrétine est décrit par trois équipes entre 1964 et 1967, qui mettent en évidence une réponse insulinique plus importante à une charge glucidique donnée per os par rapport à la même quantité donnée par voie intraveineuse. Les incrétines sont des hormones du tractus digestif sécrétées en réponse à un apport glucidique oral (repas contenant des hydrates de carbone). Les deux hormones les mieux connues sont le GLP-1 et le GIP (glucose-dependent insulinotropic peptide). Elles sont désactivées en une minute après leur sécrétion par l'enzyme DPP-4 (d'où l'intérêt des inhibiteurs de la DPP-4) [453]. Ces incrétines stimulent la sécrétion d'insuline, inhibent celle du glucagon et ralentissent la vidange gastrique. Dans le diabète de type 2, le GIP perd son activité insulino-sécrétante en réponse à une charge glucidique alors que la GLP-1 la conserve. Les analogues du GLP-1 permettent d'améliorer l'équilibre glycémique par les effets précités, ainsi qu'en diminuant la motilité gastrique, l'appétit, et en augmentant la satiété.

➤ **Pharmacocinétique**

L'acarbose, de structure pseudotétracosaccharidique, n'est que très faiblement absorbé (1 à 2 de la dose). Il est métabolisé par des enzymes endogènes et bactériennes en métabolites trisaccharidique partiellement.

➤ **Indication**

Les agonistes du GLP-1 peuvent être prescrits en association à la metformine, aux sulfonylurées ou aux thiazolidinediones, ainsi qu'à l'insuline. L'usage en première intention n'est pas recommandé en Suisse. [454]

➤ **Contre indication**

BYETTA ou VICTOZA sont contre-indiqués en cas d'hypersensibilité à la substance active ou à un des excipients.

Ils ne doivent pas être utilisés chez le diabétique de type 1, en cas d'acidocétose, ou encore chez le diabétique de type 2 nécessitant une insulinothérapie en raison du non fonctionnement des cellules β .

➤ **Effets indésirables**

Ils sont dominés par les troubles digestifs, surtout à l'initiation du traitement, à type de nausées, vomissements, diarrhées, reflux gastro-oesophagien et dyspepsie. Dans les cas extrêmes, les vomissements et/ou diarrhées peuvent conduire à un état de déshydratation, pouvant se compliquer d'une insuffisance rénale fonctionnelle aiguë. Mais dans la majorité des cas les troubles digestifs s'estompent avec le temps.

Les autres effets secondaires courants sont :

- ◆ Une baisse de l'appétit
- ◆ Une perte de poids, mais celle-ci est souvent bénéfique
- ◆ Des céphalées et des vertiges
- ◆ des réactions locales aux points d'injections

Les analogues du GLP-1 agissant de façon glucodépendant, ils n'exposent pas à un risque d'hypoglycémie, sauf en cas d'association aux SH

De rares cas de pancréatites aiguës ont été enregistrés. Celles-ci sont le plus souvent d'évolution favorable, malgré quelques cas de pancréatite nécrosante et/ou hémorragique ou de décès.

Le liraglutide pourrait être responsable d'événement thyroïdiens (augmentation de la calcitoninémie, goitre, néoplasme thyroïdien), en particulier chez des sujets avec une maladie thyroïdienne préexistante. Cependant, d'après Buysschaert (2011), les données objectivant une hausse des taux de calcitonine et une hyperplasie des cellules C thyroïdiennes chez le rongeur n'ont pas été retrouvées chez l'Homme, chez qui les récepteurs thyroïdiens au GLP-1 ne sont pas fonctionnels. [455]

➤ Pharmacogénétique

Les actions du GLP-1 (principalement la stimulation de la sécrétion d'insuline et la suppression de la sécrétion de glucagon) sont médiées par la liaison à son récepteur apparenté. L'exénatide, un agoniste du récepteur GLP1, se lie au récepteur GLP-1 avec une plus grande affinité que son ligand naturel grâce à une séquence COOH-terminale de neuf acides aminés qui est absente du GLP-1 natif [456].

Des études constaté que la substitution de la glycine par l'alanine en position huit du GLP-1 diminuait son affinité pour le récepteur [457], ce qui suggère que les extrémités N- et COOH-terminales du GLP-1 se lient au récepteur. L'utilisation de peptides chimériques GLP-1/GIP et la modélisation moléculaire suggère que His1 du GLP-1 interagit avec Asn302 du GLP1R, et que Thr7 du GLP-1 est en contact étroit avec une poche de liaison formée par Ile196, Leu232, et Met233 du GLP1R [458]. La localisation de la STR liée à la non-réponse de l'analogue du GLP-1 se situe autour de la région codante dans les Exons 9- 10 responsables des sites de liaison. D'autres études évaluant la fonction de régulation des gènes pourraient aider à clarifier la relation entre cette nouvelle variation génétique et la réponse aux médicaments.

VILLES INHIBITEURS DE SGLT2

➤ Classification et structures

Un accord a été trouvé en 2020 pour la dapagliflozine (FORXIGA®), qui devient alors la première gliflozine disponible en France, indiquée chez les patients adultes atteints de diabète de type 2, en bithérapie en association à la metformine ou en trithérapie en association à la metformine et aux sulfamides hypoglycémifiants. Une spécialité en association avec la metformine est également commercialisée (XIGDUO®), avec une indication supplémentaire en association avec l'insuline. [459]

➤ Mode d'action

Le rein exerce un rôle physiologique essentiel dans l'homéostasie glucidique. D'une part, il est à la fois producteur (au niveau du cortex) et consommateur (au niveau médullaire) de glucose. D'autre part, les tubules contournés proximaux ont la capacité de réabsorber le glucose sanguin filtré chaque jour par les glomérules (180 à 200 g). Cette réabsorption tubulaire du glucose est effectuée par deux co-transporteurs spécifiques sodium-dépendants (SGLT pour Sodium-Glucose Co-Transporter). Les transporteurs SGLT-2 sont présents dans la partie initiale des tubes contournés et responsables de 90 % de cette réabsorption. Les SGLT-1 sont des vecteurs de plus faible capacité localisés dans la partie plus distale des tubes

contournés et responsables de la « récupération » des 10 % de glucose tubulaire résiduel [460].

Les gliflozines sont une classe de médicaments oraux qui inhibent exclusivement ou principalement (pour la canagliflozine) les transporteurs SGLT-2, et en conséquence, la réabsorption tubulaire du glucose [460]. En d'autres termes, ils réduisent le seuil rénal et favorisent ainsi une excrétion accrue de glucose dans les urines (de l'ordre de 70 g/j) avec, en conséquence, une réduction de la glycémie plasmatique. Cet effet « glucorétique » est associé à une perte calorique d'environ 280 kcal/j (4 kcal par gramme de glucose « uriné »). Par leur mode d'action, les gliflozines provoquent également une natriurèse qui diminue la charge hydrosodée de l'organisme [460].

➤ **Indications d'inhibiteur de SGLT2**

SGLT2 sont indiqués chez les adultes et chez les enfants de 10 ans et plus pour le traitement du diabète de type 2 insuffisamment contrôlé en complément d'un régime alimentaire et de l'exercice physique :

- ◆ En monothérapie quand la metformine est considérée comme inappropriée en raison d'une intolérance ;
 - ◆ En plus d'autres médicaments destinés au traitement du diabète de type 2.
- les SGLT2 sont indiqués chez les adultes pour le traitement de l'insuffisance cardiaque chronique symptomatique à fraction d'éjection réduite. est indiqué chez les adultes pour le traitement de la maladie rénale chronique [462].

◆ **Effets secondaires des gliflozines**

Les infections des voies génitales sont plus fréquentes, avec un risque augmenté de trois à neuf fois par rapport au groupe placebo, et concernent jusqu'à 9% des patients. L'augmentation des infections urinaires n'est que marginale et n'est pas observée avec toutes les molécules.

Des symptômes de types polyurie et hypotension orthostatique, liés à la diurèse osmotique et à la diminution de la pression artérielle, ont été constatés. [463]

Une augmentation du risque du cancer de la vessie et du sein a été évoquée et a retardé la commercialisation de la dapagliflozine aux Etats-Unis en 2011. La grande majorité des patients diagnostiqués avec un cancer de la vessie présentaient une hématurie préexistante au traitement de dapagliflozine. Le lien entre cancer et gliflozine est donc peu probable mais la

prudence est de rigueur, ce d'autant plus que la glucosurie pourrait favoriser une croissance plus rapide des cellules malignes. [464]

◆ Pharmacogenétique

Les inhibiteurs du SGLT2, le plus récent ajout à l'arsenal thérapeutique, constituent une approche indépendante de l'insuline, pour la gestion des taux de glucose élevés dans le DT2. Ils empêchent l'absorption du glucose par les néphrons rénaux, ce qui entraîne une augmentation substantielle de l'élimination du glucose dans l'urine et donc une baisse de la glycémie. Les inhibiteurs du SGLT2 actuellement disponibles comprennent la canagliflozine, la dapagliflozine, l'empagliflozine, l'ertugliflozine, l'ipragliflozine, la sotagliflozine, l'étabonate de remogliflozine, la luseogliflozine et la tofogliflozine. Étant donné que leur mode d'action n'est pas insulino-dépendant et qu'ils diffèrent des autres stratégies thérapeutiques existantes affectant le taux de glucose, en ciblant les cellules bêta, le développement du glucose hépatique ou l'absorption du glucose par les muscles, ils peuvent être pris avec d'autres médicaments antidiabétiques. Par rapport à d'autres stratégies de traitement hypoglycémiant, la détérioration de la résistance à l'insuline ou le rôle de la fonction bêta ne règle pas l'efficacité des inhibiteurs du SGLT2 [465]. La réduction de la glycémie et des taux d'HbA1c sans prise de poids ni hypoglycémie sont d'autres avantages du SGLT2 qui sont des effets secondaires populaires des médicaments antidiabétiques traditionnels.

Cependant, le défi majeur avec l'inhibiteur SGLT2 est que l'effet désiré n'est pas atteint chez certains patients ou en d'autres termes, il y a une variation interindividuelle dans la réponse aux médicaments. La variation de la réponse au médicament est due à l'hétérogénéité génétique ainsi qu'à un facteur épigénétique. En ce qui concerne les études pharmacogénétiques, très peu d'études ont été réalisées sur la variation génétique affectant la réponse au SGLT2 et les effets indésirables des médicaments. Les variations des gènes WFS 1 et PNPLA3 affectent la réponse au traitement par la dapagliflozine, tandis que celles des gènes de métabolisation, UGT1A9 et UGT2B7, influencent la réponse au traitement par la canagliflozine. La réponse au médicament empagliflozine est également affectée par les variations rapportées dans le gène SLC5A2. Par conséquent, des études pharmacogénétiques portant sur tous les gènes impliqués dans la pharmacocinétique et la pharmacodynamique des différents inhibiteurs du SGLT2 sont justifiées pour optimiser le médicament et sa dose. Ce sera un pas en avant vers la médecine personnalisée, qui permettra de prescrire des médicaments sur mesure pour une meilleure efficacité et une réduction des effets indésirables [466].

TRAVAUX PERSONNELS

PARTIE 1 :
ÉTUDE DE L'ASSOCIATION DE DEUX POLYMORPHISMES DANS
LE GÈNE TCF7L2 ET LE RISQUE DU DÉVELOPPEMENT DU DT2
DANS UNE POPULATION MAROCAINE

Comme déjà rapporté dans la partie théorique, le DT2 est une maladie multifactorielle dont la génétique joue un rôle important mais pas entièrement élucidé. En effet plusieurs gènes ont été étudiés pour définir un profil de prédisposition génétique à cette maladie. Dans ce cadre, de nombreuses études ont montré que certains polymorphismes génétiques du gène TCF7L2 (Transcription factor 7-like 2) sont fortement associés au développement du DT2 et de ses complications dans plusieurs populations. Notre but est alors d'étudier deux polymorphismes de ce gène chez une population marocaine.

CHAPITRE 1 : PATIENTS ET MÉTHODES

I. TYPE ET OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

Il s'agit d'une étude cas témoins réalisé dans le but a été d'évaluer l'association de deux polymorphisme rs12255372 (G/T) et rs7903146 (C/T) du gène TCF7L2 et le risque de développer le DT2 chez une population marocaine.

Approbation du comité d'éthique

L'approbation éthique de notre étude a été obtenue auprès du Comité d'Éthique de Recherche Biomédicale de la Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohamed V de Rabat Réf 71/16 suivant les directives établies par la déclaration d'Helsinki (Annexe 1) après évaluation du dossier soumis au dit comité. Un consentement éclairé (Annexe 2) écrit et signé a été obtenu auprès de chaque patient sélectionné après que ce dernier ait reçu toutes les informations nécessaires, notamment l'objectif de notre travail de recherche, sa méthodologie, sa durée, les bénéfices attendus et le droit de se retirer à tout moment de la recherche.

Une fiche d'exploitation (Annexe 3) a été utilisée pour la collecte des données. Cette fiche est composée de plusieurs items dont les principales sont : identité du patient (collectée pour un éventuel contact ultérieur), l'âge, le sexe, la taille, le poids, l'indice de masse corporelle (IMC), la glycémie à jeun, le taux de l'HbA1c, le cholestérol total, le cholestérol de haute densité (HDL), le cholestérol de basse densité (LDL) et les triglycérides. Toutes les données et les résultats des analyses ont été codifiés et collectées de façon anonyme et stockées dans une base de données Excel.

II. PERIODE ET LIEUX DE L'ETUDE

Le recrutement des patients a été effectué au service de médecine B de l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V (HMIMV), Rabat sur une période de 4 ans allant du mois de janvier 2015 au juin 2019. Le génotypage a été réalisé au laboratoire de Biotechnologie Médicale de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat.

1. Population étudiée

Dans cette étude nous avons recruté des patients provenant de différentes régions du Maroc et suivi pour un DT2 au service de médecine B de l'HMIMV. Les contrôles sont des sujets cliniquement et biologiquement sains ont été recrutés dans le service de la transfusion sanguine et le service des urgences de la même structure.

1.1 Critères d'inclusion

Sont inclus dans cette étude :

- Patients atteints du DT2 depuis au moins 3 ans, diagnostiqués sur la base d'une glycémie à jeun supérieure ou égale à 1,26 g/L, et HbA1c supérieure ou égale à 6,5%.
- De nationalité marocaine
- De tout âge,
- Des deux sexes

1.2 Critères d'exclusion

Sont exclus de notre étude :

- Les patients non marocains.
- Les femmes enceintes
- Les patients présentant le diabète de type 1
- Diabète secondaire à des endocrinopathies, des maladies pancréatiques ou des médicaments.
- Les patients refusant de participer à l'étude

2. Prélèvements et analyses

2. 1. Prélèvements

Les prélèvements sanguins des patients recrutés ont été réalisés au niveau du centre de Prélèvement de l'HMIMV. Après avoir eu leurs consentements éclairés pour réaliser l'analyse génétique, un prélèvement à partir d'une veine du pli du coude lors de la première visite de 5 ml de sang prélevé, sur tube contenant de l'acide éthylène diamine tétra-acétique dissodique (EDTA K2, solution à 5%) a été réalisé. Il faut rappeler dans ce contexte que l'EDTA

présente l'avantage d'être un inhibiteur des nucléases ; il faut, par ailleurs, éviter les tubes héparinés et citratés qui ont un effet inhibiteur de la Taq polymérase.

Les échantillons sont identifiés et un code numérique est attribué à chaque dossier. Les échantillons sanguins destinés aux tests génétiques sont acheminés de façon journalière dans une glacière au laboratoire de Biotechnologie de la faculté de médecine et de pharmacie de Rabat pour un traitement immédiat ou une conservation à -20°C. Une décongélation douce des échantillons sanguins à +4 °C ou à température ambiante est respectée juste avant l'extraction d'ADN.

3. Methodes :

3.1. Extraction de l'ADN à partir du sang total

L'extraction de l'ADN génomique a été réalisée par la méthode d'extraction sur colonne de résine moyennant un kit commercial (Kit QIAamp DSP DNA Blood Mini, Qiagen®) et en respectant le mode opératoire précisé par le fournisseur. Il s'agit d'un système utilisant la technologie des membranes de silice (QIAamp) pour l'isolation et la purification de l'ADN génomique. Il permet d'obtenir de l'ADN purifié prêt à l'emploi. Ce kit est utilisable sur du sang total frais ou congelé. Cette technique s'effectue en deux étapes permettant d'isoler et de purifier l'ADN génomique à partir de 200 µl de sang total.

❖ L'étape de lyse

Dans un tube type Eppendorf de 1,5 ml, 200 µl du sang total sont soumis à une lyse complète des globules rouges par une incubation à 56 °C pendant 10 minutes après addition de 200 µl de tampon de lyse (AL) et 20 µl de protéinase K (Protéase QIAGEN - QP).

❖ L'étape de purification

On ajoute 200 µl d'éthanol absolu et on centrifuge brièvement. Par la suite on prépare pour chaque échantillon, une colonne QIAamp posée sur un tube collecteur. Cette étape permet de fixer l'ADN génomique sur la membrane de la colonne de centrifugation QIAamp Mini. On y dépose 620 µl de la solution obtenue, on centrifuge brièvement pendant 5 secondes les tubes à vitesse maximale pour enlever les éventuelles gouttelettes d'eau sur les parois internes des tubes et du couvercle puis on place la colonne sur un nouveau tube collecteur et on jette l'ancien tube et l'éluât. L'ADN génomique est adsorbé sur la membrane de silice alors que le lysat passe à travers la membrane sous l'effet d'une dépression due à la force centrifuge. Par la suite, on procède à un lavage de la membrane par les tampons du kit AW1 et AW2. On dépose 500 µl de tampon AW1 fourni avec le kit, on centrifuge à environ 6000 x g (8000 tr / min) pendant 1 minute et on replace la colonne sur un nouveau tube collecteur. On dépose

500 µl du tampon AW2 puis on centrifuge à pleine vitesse (20 000 x g; 14 000 tr / min) pendant 6 minutes.

A cette étape, l'ADN est lavé. On place ensuite la colonne sur un tube Eppendorf de 1,5 ml, on dépose 50 µl ou 100 µl de tampon AE et on centrifuge à 6000 x g (8000 tr / min) pendant 1 Minute. L'incubation pendant 5 minutes à température ambiante avant la centrifugation, augmente généralement le rendement de l'ADN. (figure 28)

Une seconde étape d'éluion peut être faite afin d'augmenter les rendements de l'extraction. On conserve le tube Eppendorf contenant l'ADN extrait (volume final de 200 µl) à +4 °C si l'échantillon est utilisé dans les jours qui suivent l'extraction ou à -20 °C pour une utilisation ultérieure.



Figure 28: Les principales étapes d'extraction d'ADN [467].

3.1. Dosage et pureté de l'ADN

Le dosage de l'ADN et l'évaluation de sa pureté est effectuée par dosage au spectrophotomètre adapté à la mesure de 2 µL de solution.

La concentration d'ADN est déterminée par une mesure effectuée à 260 nm. L'interférence par des contaminants se reconnaît par calcul d'un ratio. Les protéines absorbant à 280 nm, le ratio absorbance d'ADN à 260nm/absorbance des protéines à 280nm (A_{260}/A_{280}) est utilisé pour estimer la pureté de l'acide nucléique. L'ADN pur devrait avoir un ratio d'environ 1,8.

Pour notre travail nous avons dosé et évalué le rendement et la pureté des extraits d'ADN par spectrophotométrie en utilisant le NanoVue™ Spectrophotometer (Figure 29)



Figure 29: le NanoVue™ Spectrophotometer

3.2. Génotypage des deux polymorphismes

Le génotypage des deux SNPs du gène TCFF7L2 : rs7903146 et rs12255372 (Tableau 6) a été effectué à l'aide de la technologie TaqMan (TaqMan SNP Genotyping assays), qui consiste en un mélange prédéfini d'amorces et de sondes TaqMan MBG (ligand du petit sillon) marquées par des fluorophores FAM™ et VIC®.

Tableau VI : Informations des deux essais TaqMan

Polymorphisme	Identité de l'essai	Région amplifiée
rs7903146	C_29347861_10	TAGAGAGCTAAGCACTTTTTAGATA[C/T] TATATAATTTAATTGCCGTATGAGG
rs12255372	C__291484_20	TGCCCAGGAATATCCAGGCAAGAAT[G/T] ACCATATTCTGATAATTACTCAGGC

Les sondes d'hydrolyse ou sondes TaqMan sont les sondes les plus fréquemment utilisées pour la détection de mutations ponctuelles ou la quantification de gènes. Ce sont des sondes d'environ 15 à 30 bases, monobrin et linéaires marquées par deux fluorophores. Un fluorochrome émetteur (reporter) (ex. FAM) est fixé à l'extrémité 5' de la sonde d'hybridation et son émission est inhibée par un second fluorochrome suppresseur (Quencher) présent à l'extrémité 3' (ex. VIC). Par ailleurs, ces sondes sont phosphorylées en position 3' pour éviter l'extension à partir de cette extrémité par l'ADN polymérase. Le principe de cette technique est basé sur l'activité 5'- exonucléasique de l'ADN polymérase : l'enzyme hydrolyse une sonde hybridée à la cible. Au cours de la PCR, pendant la phase combinée d'hybridation et de polymérisation généralement réalisée entre 60 - 64 °C, l'enzyme rencontre la sonde hybridée. De manière générale, elle est située près d'une des deux amorces utilisées pour la PCR. Grâce à son activité exonucléasique, elle hydrolyse la sonde (dans la direction 5' → 3'). Le fluorophore donneur suffisamment éloigné de l'action du quencher émettra un signal fluorescent mesurable par l'instrument (Figure 30).

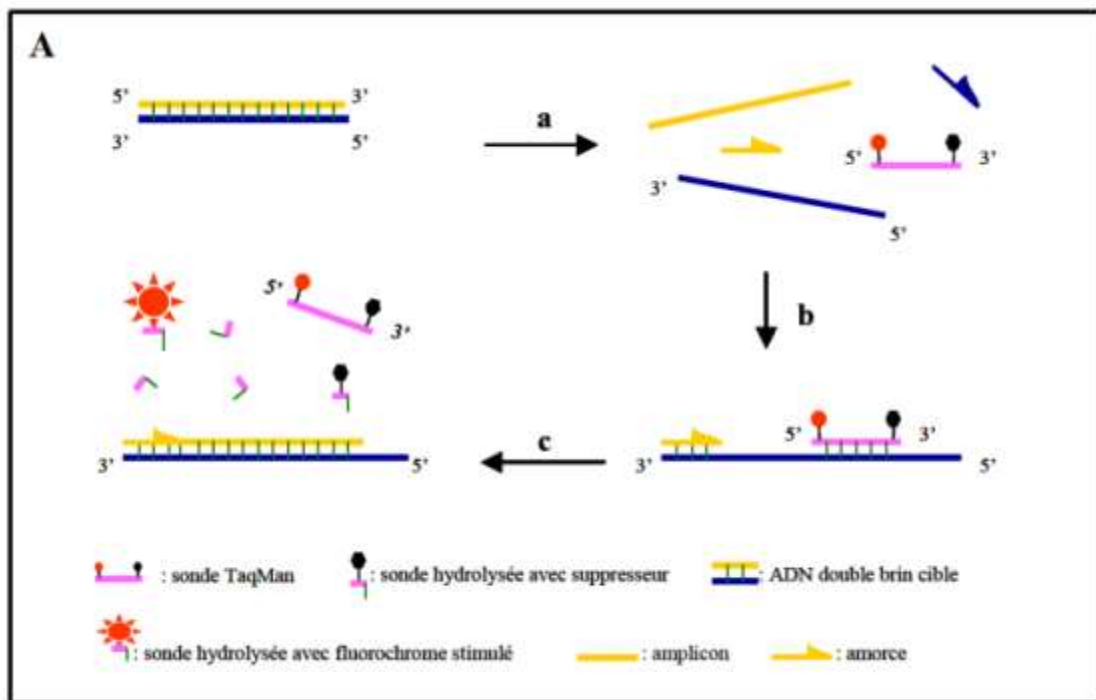


Figure 30 : Hydrolyse de sondes (Hydrolysis probes : Taqman assay).

(a) Durant l'étape de dénaturation, la sonde est libre en solution. (b) À la température d'appariement, la sonde et les amorces s'hybrident à leurs séquences cibles respectives et la proximité des fluorochromes permet l'inhibition de la fluorescence. La polymérisation débute. (c) La polymérase déplace et hydrolyse la sonde. Le fluorochrome émetteur est libéré de l'environnement du suppresseur permettant ainsi l'émission de la fluorescence.

Les allèles des deux SNPs, rs7903146, rs12255372 ont été évalués en utilisant un mélange de deux amorces oligonucléotidiques spécifiques et deux sondes : Les deux sondes utilisées (par ex spécifiques de l'allèle C et de l'allèle T) sont des sondes d'hydrolyse type MGB marquées en 5' par le fluorochrome émetteur (reporter) VIC et FAM respectivement.

Le MasterMix utilisé (TaqMan® Genotyping Master Mix de Applied Biosystems) est prêt à l'emploi. Il contient le tampon PCR, les dNTPs, la Taq polymérase et le MgCl₂. La réaction PCR a été réalisée dans un volume final de 10µL contenant pour chaque échantillon :

- 5µL du Master Mix.
- 0.5µL du mélange des deux sondes TaqMan® et deux amorces, cité précédemment.
- 3.5µL d'eau distillée stérile pour PCR.

Après homogénéisation, le mélange réactionnel est distribué par un volume de 8µL dans les puits d'une plaque spécifique. Enfin 2µL d'acides nucléiques de l'échantillon à tester est ajouté à chaque puit, à l'exception d'un puit où on y ajoute 2µL d'H₂O qui servira de contrôle négatif. Le profil thermique de la réaction PCR est comme suit (Figure 29) :

➤ Lecture Pré-PCR : 60°C pendant 1 minute.

• La PCR : qui comprend :

- Activation de la Taq polymérase : chauffage à 95°C pendant 10 minutes
- Suivie de 40 cycles d'amplification de 75 secondes chacun :
 - Dénaturation de l'ADN : 15 secondes à 92°
 - Hybridation : 1 minute à 60°C
- Lecture post-PCR : 60°C pendant 1 minute.

Toutes les étapes analytiques ont été préparées sous haute et selon les bonnes pratiques du laboratoire dans des zones différentes selon les étapes (extraction, préparation du mélange réactionnel et la réaction PCR).

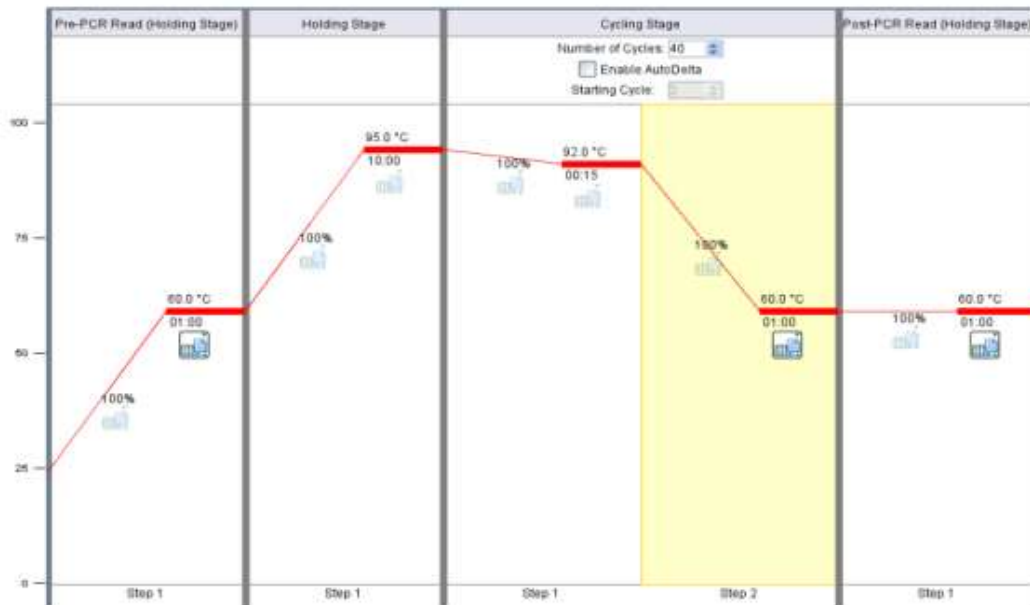


Figure 31: Protocole d'amplification utilisé.

La réaction du PCR a été effectuée à l'aide du système de PCR en temps réel StepOnePlus™ (Applied Biosystems, États-Unis) (figure 32).



Figure 32: StepOne plus Applied Biosystems, États-Unis

III. ANALYSES STATISTIQUES ET TRAITEMENT DES DONNEES

Les résultats quantitatifs ont été présentés en pourcentage ou en moyenne \pm écart type. Les fréquences alléliques et génotypiques chez les patients et les témoins ont été estimées par comptage direct. Le test de T de Student a été utilisé pour comparer les moyennes des données quantitatives et le test Chi-carré a été utilisé pour comparer les données qualitatives. Les relations entre les différents groupes, génotypes et allèles de polymorphisme TCF7L2 rs12255372 et rs7903146 ont été évaluées par régression logistique en calculant l'intervalle de confiance à 95 % et les rapports de cotes (OR). Des valeurs de p inférieures à 0,05 ont été considérées comme statistiquement significatives. Ces analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS version 23.0 pour Windows. L'analyse statistique des données a été réalisée au Laboratoire de recherche épidémiologique et clinique de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat.

Par ailleurs, les fréquences des génotypes de chaque SNP ont été analysées pour vérifier l'équilibre de Hardy-Weinberg à l'aide du test du Chi-carré sur le site (www.snpstats.net/snpstats/start.htm) [442], vu que les erreurs de génotypage peuvent modifier de façon notable la fréquence allélique des polymorphismes étudiés et causer une perte de cet équilibre [443]. Ceci est particulièrement évident dans les études génétiques où les individus ne sont pas apparentés. Les génotypes ont été classés en allèle homozygote (CC), hétérozygote (CT) et allèle homozygote (TT) pour rs7903146 et allèle homozygote (GG), hétérozygote (GT) et allèle homozygote (TT) pour rs12255372.

CHAPITRE 2 : RÉSULTATS

I. ANALYSE DESCRIPTIVE DE LA POPULATION ETUDIÉE

1. L'effectif

L'étude a concerné 150 patients atteints de DT2 et 100 témoins cliniquement et biologiquement sains (non diabétiques) tous d'origine marocaine.

2. Le sexe

Le pourcentage des femmes a été de 65,3% et de 64% respectivement dans le groupe DT2 et contrôle alors que celui des hommes a été de 34,7% et de 36 %. Les deux groupes ont été comparables par rapport au sexe ($p = 0,82$).

La figure 33 représente la répartition selon le sexe de toute la population objet de l'étude (groupe DT2 et contrôles) avec une nette prédominance féminine.

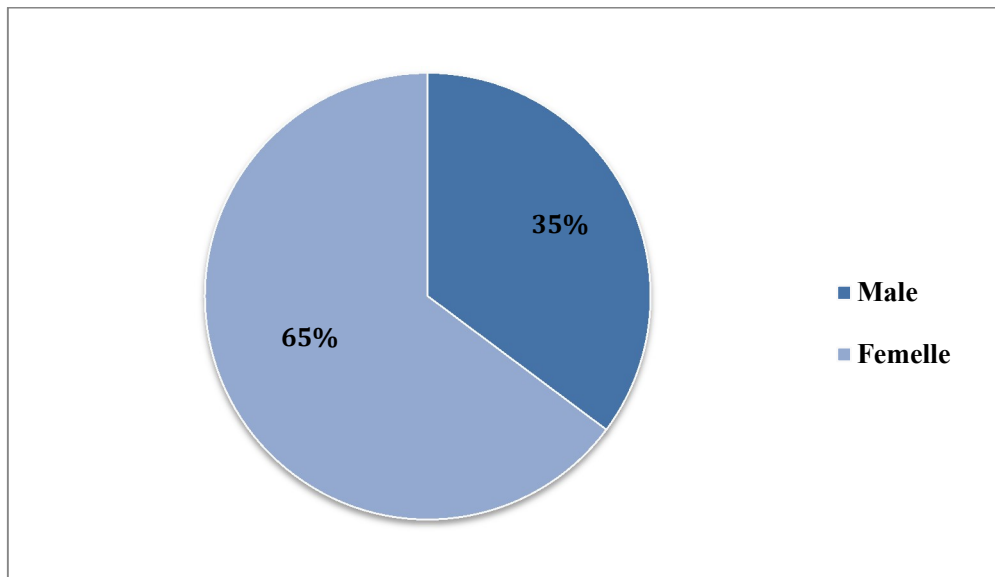


Figure 33: Répartition de la population étudiée selon le sexe

3. L'âge

L'âge moyen des patients diabétiques a été $58,32 \pm 11,38$ alors que celui des sujets contrôles a été de $52,16 \pm 12,78$; on note une différence statistiquement significative entre les deux groupes ($p=0.048$). La figure 34 représente la répartition par tranches d'âge des deux groupes (DT2 et sujets contrôles). La prévalence du diabète augmente avec l'âge pour atteindre 43% chez les adultes de 60 ans

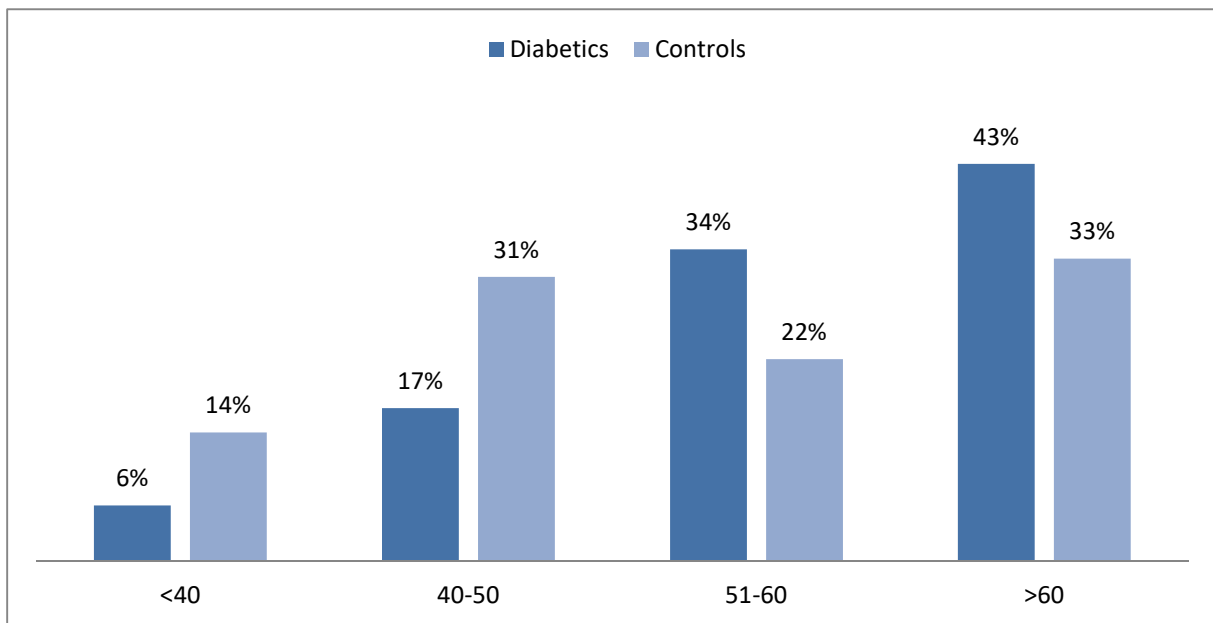


Figure 34: La répartition de la population étudiée selon les tranches d'âge

4. Indice de masse corporel (IMC) et paramètres métaboliques

Le tableau 7 montre les caractéristiques anthropométriques et métabolique de la population étudiée ; l'IMC chez les patients diabétiques était élevé que celui des témoins ($28 \pm 4,55$ vs $25,72 \pm 2,705$, $p < 0,0001$). La glycémie à jeun et l'HbA1C ont été comme attendu plus élevées chez les diabétiques ($1,68 \pm 0,63$ contre $1,0 \pm 0,12$ pour la glycémie et $7,87 \pm 1,80$ vs $6,20 \pm 0,01$ pour l'HbA1C, $p < 0,001$). Cependant les deux groupes sont comparables concernant le cholestérol total, le cholestérol HDL, le cholestérol LDL et les triglycérides ($p > 0,05$).

Tableau VII: Caractéristiques sociodémographiques et cliniques des patients diabétiques et des sujets contrôle.

	Groupe DT2 (N = 150)	Groupe contrôle (N = 100)	p Value *
Sexe	Hommes : 52 (34,7%) Femmes : 98 (65,3%)	Hommes : 36 (36 %) Femmes : 64 (64%)	0,82
Age (Années)	58,32 ± 11,38	52,16 ± 12,78	0,048
IMC (kg/m ²)	28,39 ± 4,55	25,72 ± 2,71	<0,0001
Glycemie (g/L)	1,68 ± 0,63	1,0 ± 0,12	<0,0001
HbA1c (%)	7,87 ± 1,80	6,20 ± 0,01	<0,0001
Cholesterol (g/L)	1,87 ± 0,93	1,85 ± 0,90	0,61
HDL-cholesterol (g/L)	0,95 ± 0,73	0,91 ± 0,64	0,73
LDL-cholesterol (g/L)	1,33 ± 1,16	1,31 ± 0,95	0,66
Triglycerides (g/L)	1,32 ± 0,48	1,28 ± 0,53	0,49

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écart-type pour les variables continues et sous forme de nombres absolus et de pourcentages entre parenthèses pour les variables catégorielles. DT2 : diabète sucré de type 2 ; IMC : indice de masse corporelle ; HbA1c : hémoglobine glyquée ; HDL : lipoprotéines de haute densité ; LDL : lipoprotéines de basse densité ; * la valeur p < 0,05 est considérée comme significative

II.RESULTATS DE GENOTYPAGE :

1. Dosage et qualité de l'ADN

La qualité de la préparation est primordiale. Pour cela, il faut vérifier que l'ADN ainsi extrait est de haut poids moléculaire, c'est-à-dire qu'il n'a pas été dégradé au cours de différentes manipulations d'extraction et de purification. Comme nous avons mentionné au dessus La concentration d'ADN est déterminée par une mesure effectuée à 260 nm L'interférence par des contaminants se reconnaît par calcul d'un «ratio». L'ADN pur devrait avoir un ratio d'environ 1,8.

2. Résultats de la réaction PCR et discrimination allélique

2.1. SNP rs12255372 (G>T)

- Les résultats du groupe des patients diabétiques

Les figures suivantes représentent les résultats des courbes PCR et la discrimination allélique produite par le logiciel TaqMan® Genotyper™ Software.

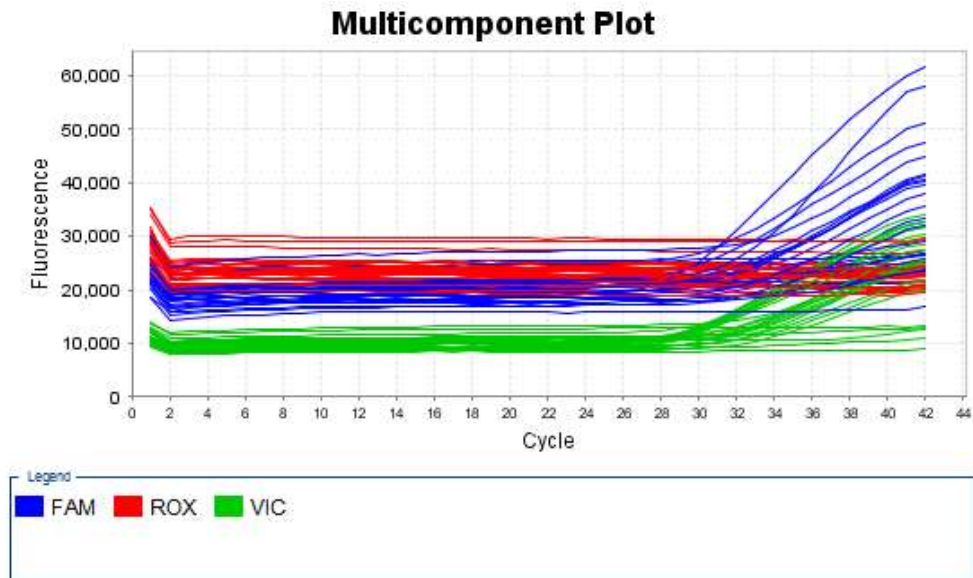


Figure 35: Les courbes de la fluorescence de la réaction PCR des patients diabétiques du rs1225372.

Elles regroupent les patients qui ont le génotype hétérozygote GT, Homozygote muté TT et Homozygote normal GG

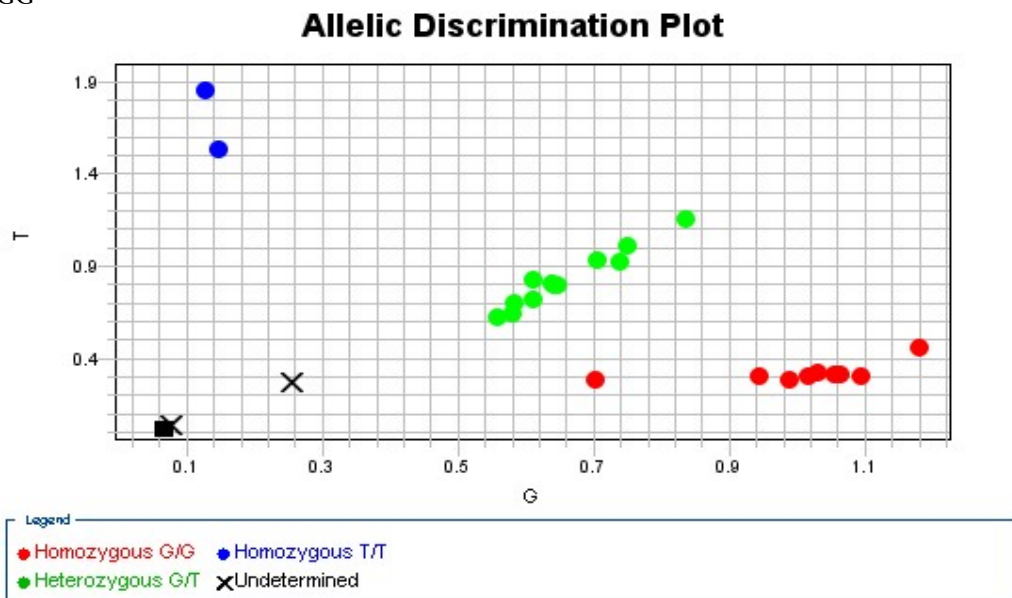


Figure 36: Discrimination allélique des résultats du SNP rs1225372 des patients diabétiques

La couleur rouge représente les échantillons homozygote (VIC), la couleur bleue représente les échantillons homozygote (FAM), la couleur verte représente les échantillons Hétérozygotes (VIC+FAM)

➤ Les résultats du groupe des contrôles

Les figures suivantes représentent les résultats des courbes PCR et la discrimination allélique produite par le logiciel TaqMan® Genotyper™ Software.

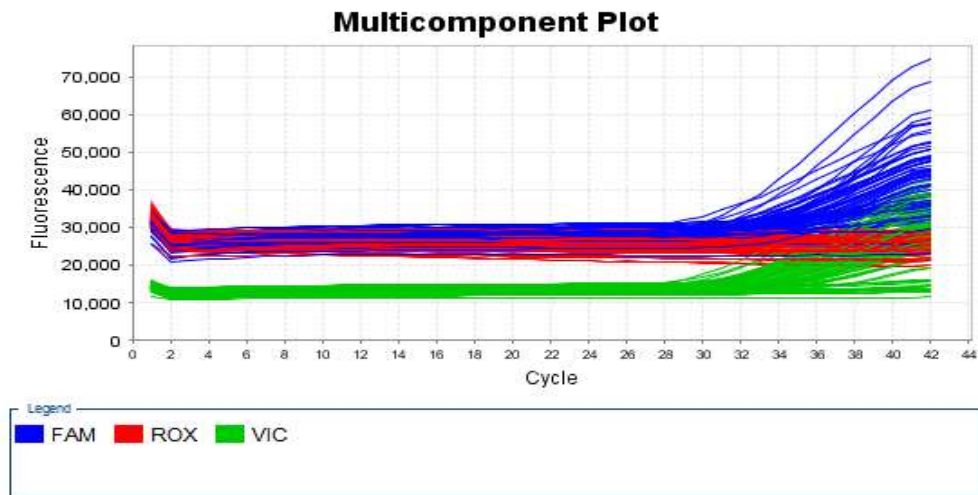


Figure 37: Les courbes de la fluorescence de la réaction PCR des sujets contrôles du rs12255372
 Elles regroupent les patients qui ont le génotype hétérozygote GT, Homozygote muté TT et Homozygote normal GG

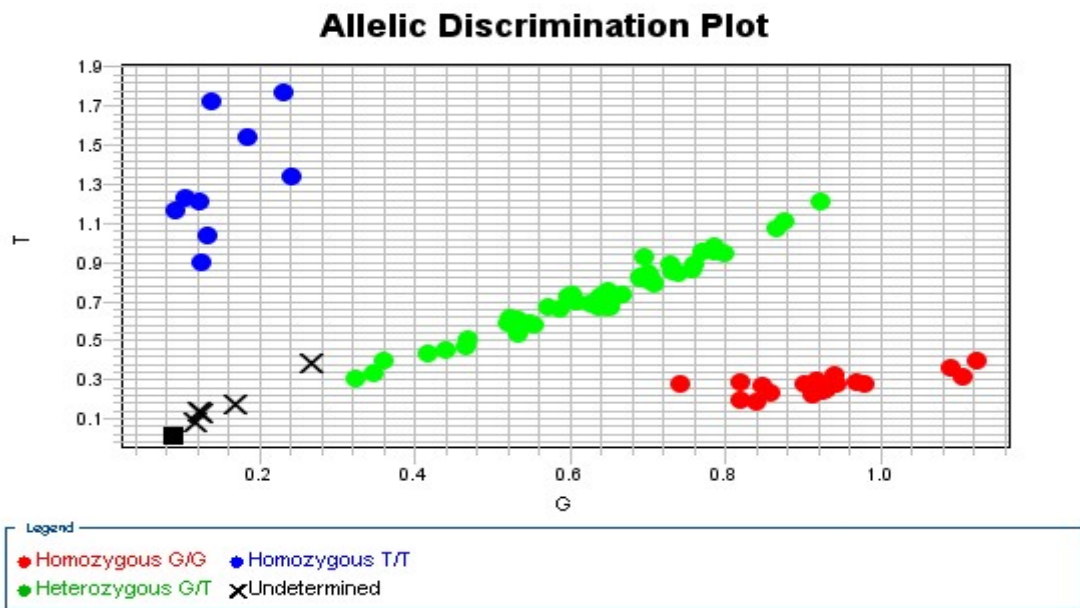


Figure 38: Discrimination allélique des résultats du SNP rs12255372 des sujets contrôles

La couleur rouge représente les échantillons homozygote (VIC), la couleur bleue représente les échantillons homozygote (FAM), la couleur verte représente les échantillons Hétérozygotes (VIC+FAM)

2.2.SNP rs7903146 (C>T)

➤ Les résultats du groupe des patients diabétiques

Les figures suivantes représentent les résultats des courbes PCR et la discrimination allélique produite par le logiciel TaqMan® Genotyper™ Software.

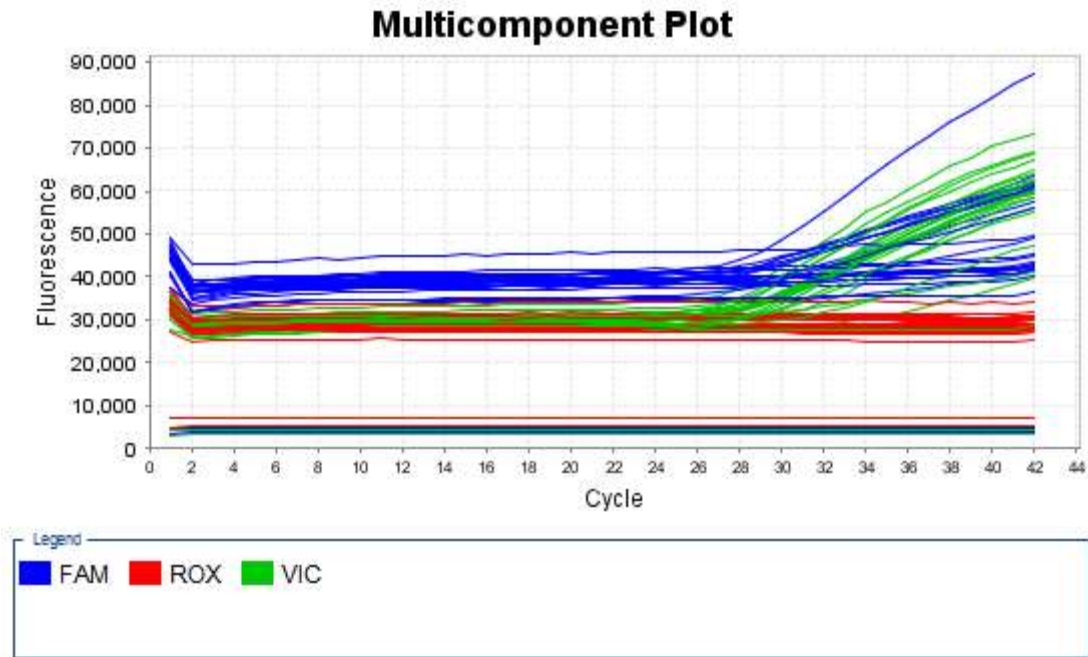


Figure 39: Les courbes de la fluorescence de la réaction PCR des patients diabétiques du rs7903146.

Elles regroupent les patients qui ont le génotype hétérozygote CT, Homozygote muté TT et Homozygote normal CC

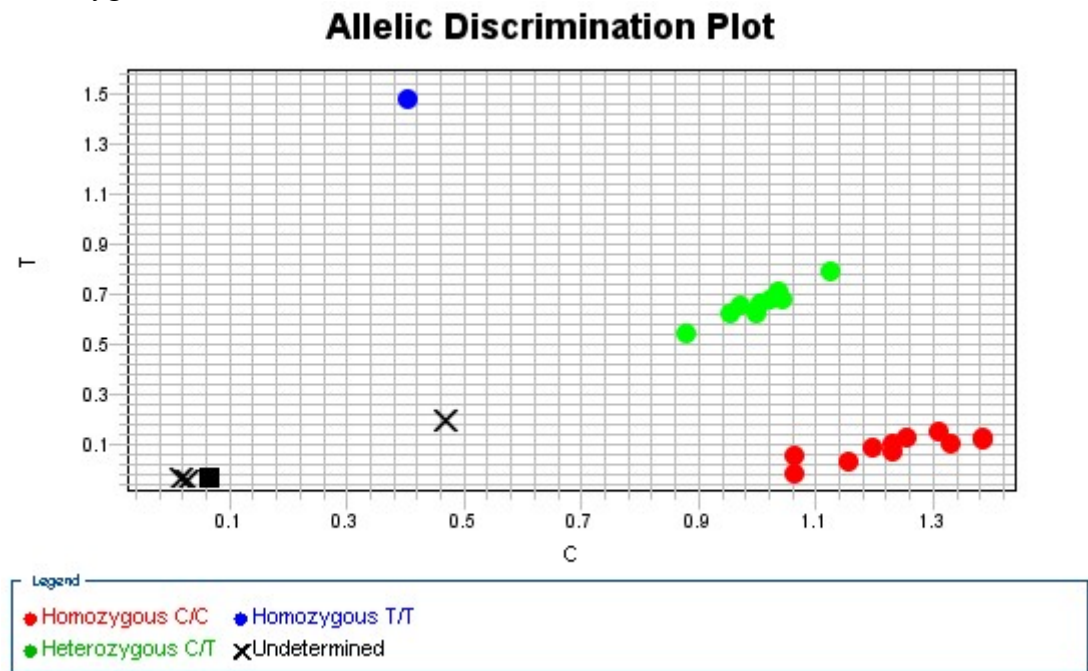


Figure 40: Discrimination allélique des résultats du SNP rs7903146 des patients diabétiques :

La couleur rouge représente les échantillons homozygote (VIC), la couleur bleue représente les échantillons homozygote (FAM), la couleur verte représente les échantillons Hétérozygotes

➤ **Les résultats du groupe des contrôles**

Les figures suivantes représentent les résultats des courbes PCR et la discrimination allélique produite par le logiciel TaqMan® Genotyper™ Software.

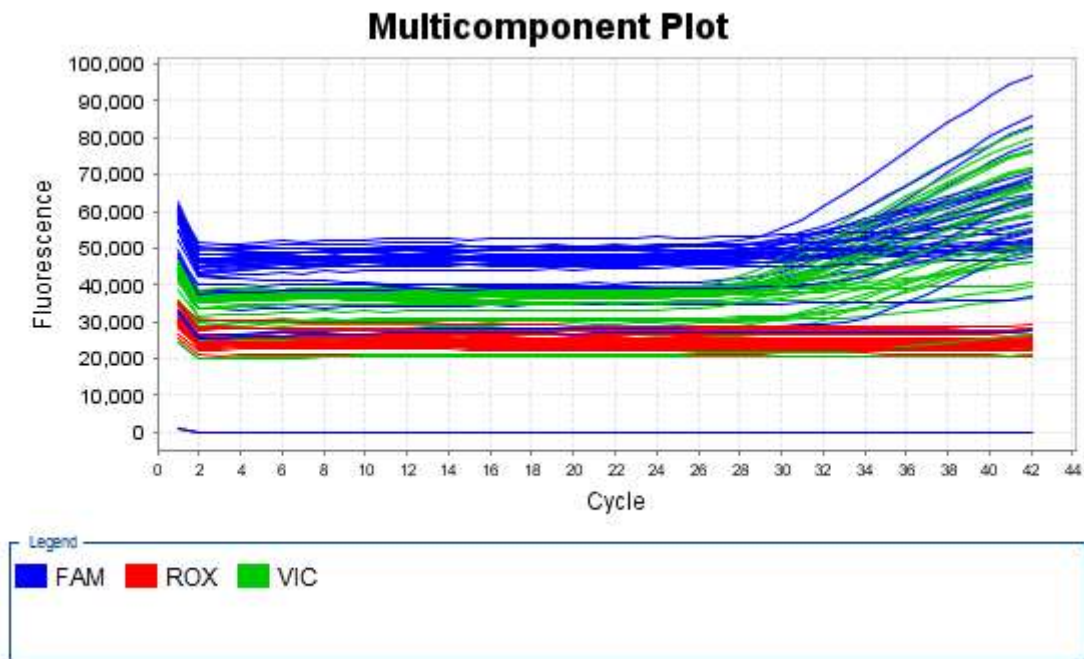


Figure 41: Les courbes de la fluorescence de la réaction PCR des sujets contrôles du rs7903146.

Elles regroupent les patients qui ont le génotype hétérozygote CT , Homozygote muté TT et Homozygote normal CC

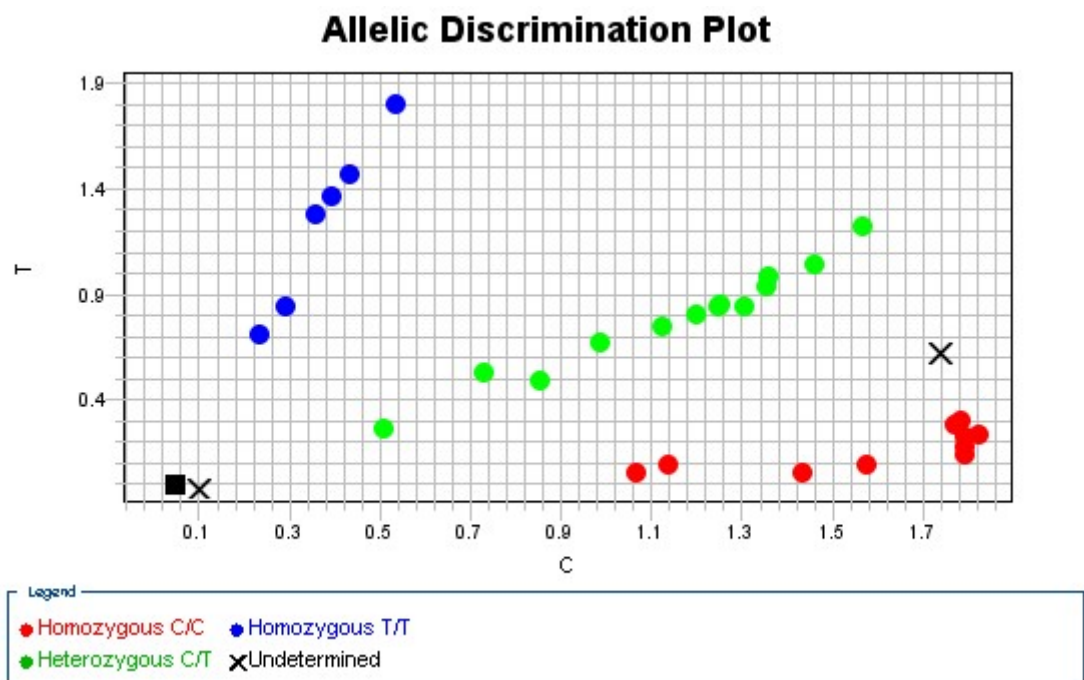


Figure 42: Discrimination allélique des résultats du SNP rs7903146 des sujets contrôles :

La couleur rouge représente les échantillons homozygote (VIC), la couleur bleue représente les échantillons homozygote (FAM), la couleur verte représente les échantillons Hétérozygotes

III. ÉTUDES DE L'ASSOCIATION ET PRESENTATION DES FREQUENCES ALLELIQUES ET GENOTYPIQUES

La première étape de l'analyse des données génotypiques de notre étude a consisté au calcul des fréquences alléliques et génotypiques des patients DT2 et des contrôles.

1. Études de l'association et présentation des fréquences alléliques et génotypiques du SNP rs7903146

La distribution des génotypes et des fréquences alléliques de rs7903146 (C/T) est présentée dans le tableau VIII. La fréquence des génotypes rs7903146 chez les diabétiques était (CC : 33,3 % ; CT : 42,7 % ; TT : 24,0 %), tandis que dans le groupe des contrôles était (CC : 36,0 % ; CT : 59,0 % ; TT : 5,0 %). Le génotype TT était associé à un risque élevé de diabète (OR = 4,08, 5% IC = 1,95-11,80, $p < 0,0001$). L'allèle C était présent chez 54,8% des diabétiques versus 65,5% des contrôles, tandis que l'allèle T était retrouvé chez 45,2% des diabétiques versus 34,5% des contrôles. La fréquence de l'allèle C n'était pas significativement différente entre les diabétiques et les non diabétiques, mais la distribution des allèles T s'est avérée être un facteur de risque car sa fréquence était plus élevée dans le groupe des diabétiques (OR = 2,13, IC à 95 % = 1,12-7,31, $p = 0,005$).

2. Études de l'association et présentation des fréquences alléliques et génotypiques du SNP rs11253072

Les génotypes détectés de rs11253072 chez les diabétiques étaient GG (28,0%), GT (53,3 %) et TT (18,7%), tandis que chez les sujets contrôles, ils étaient GG (30,0%), GT (64,0 %) et TT (6,0%). Le génotype TT était associé à un risque plus élevé de diabète (OR = 2,01, IC à 95 % = 1,04-3,10, $p < 0,0001$). La distribution allélique de G était similaire dans les deux groupes ; cependant, la fréquence des allèles T était associée à un risque accru de diabète (OR = 2,01, IC à 95 % = 1,04-3,10, $p = 0,01$).

Tableau VIII: Fréquences et analyse univariée des génotypes et allèles SNP chez les patients diabétiques de type 2 et les sujets témoins.

	T2DM (n=150)	Control (n=100)	OR (CI)	P Value *
rs7903146				
CC	50 (33,3 %)	36 (36,0%)	1	Référence
CT	64 (42,7%)	59 (59,0%)	0,72 [0,65-1,30]	0,14
TT	36(24,0%)	5 (5,0%)	4,08 [1,95-11,80]	<0,0001
C allèle	165 (54,8%)	131 (65,5%)	1	0,005
T allèle	136 (45,2%)	69 (34,5%)	2,13 [1,12-7,31]	
rs12255372				
GG	42 (28,0%)	30 (30,0%)	1	Référence
GT	80 (53,3%)	64 (64,0%)	1,50 [0,91-2,62]	0,11
TT	28 (18,7%)	6 (6,0%)	3,11 [1,33-7,24]	0,004
G allèle	164 (54,7%)	124 (62,0%)	1	0,01
T allèle	136 (45,3%)	76 (38,0%)	2,01 [1,04-3,10]	

Les résultats sont exprimés en chiffres absolus et les pourcentages entre parenthèses ; DT2 : diabète sucré de type 2 ; OR : odds ratio ; CI : intervalle de confiance ; * la valeur $p < 0,05$ est considérée comme significative.

3. Études de corrélation des données anthropométriques et métaboliques et les polymorphismes du gène TCF7L2 (rs7903146 et rs12253072)

Les tableaux IX et X : résument l'analyse comparative des données anthropométriques et métabolique des patients diabétiques. Pour rs7903146 et rs12255372, il n'y a pas différence statistiquement significative entre les trois génotypes concernant les paramètres étudiés.

Tableau IX: Comparaison entre les génotypes TCF7L2 rs17903146 chez les patients diabétiques selon les données anthropométriques et de laboratoire.

Variable	CC(n = 50)	TT (n = 36)	CT (n = 64)	p Value*
Age (années)	58,28 ± 11,59	58,45 ± 10,75	58,27 ± 12,47	0,43
IMC (kg/m ²)	28,26 ± 4,02	28,64 ± 3,75	27,96 ± 4,23	0,08
HbA1c (%)	8,01 ± 1,17	7,96 ± 1,70	7,75 ± 1,88	0,33
Glycémie (g/L)	1,69 ± 0,51	1,69 ± 0,76	1,66 ± 0,65	0,24
Cholesterol (g/L)	1,94 ± 0,99	1,82 ± 1,00	1,82 ± 0,84	0,74
HDL- cholesterol (g/L)	1,35 ± 1,15	1,42 ± 0,66	1,10 ± 0,63	0,12
LDL- cholesterol (g/L)	1,24 ± 0,89	1,11 ± 0,68	1,53 ± 2,53	0,84
Triglyceride (g/L)	1,32 ± 0,40	1,26 ± 0,65	1,35 ± 0,43	0,70

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± SD ; IMC : indice de masse corporelle ; HbA1c : hémoglobine glyquée ; HDL : lipoprotéines de haute densité ; LDL : lipoprotéines de basse densité ; la valeur $p < 0,05$ est considérée comme significative.

Tableau X: Comparaison entre les génotypes TCF7L2 rs12255372 chez les patients diabétiques selon les données anthropométriques et de laboratoire.

Variable	GG (n = 42)	TT (n = 28)	GT (n = 80)	p Value*
Age (Années)	58,37 ± 10,37	58,36 ± 11,03	58,25 ± 12,13	0,53
BMI (kg/m ²)	28,33 ± 4,31	28,53 ± 4,43	28,01 ± 4,84	0,10
HbA1c (%)	7,97 ± 1,26	7,88 ± 1,23	7,82 ± 1,74	0,68
Glycémie (g/L)	1,67 ± 0,67	1,70 ± 0,83	1,69 ± 0,71	0,48
Cholesterol (g/L)	1,95 ± 0,97	1,85 ± 0,96	1,82 ± 0,90	0,74
HDL- cholesterol (g/L)	1,15 ± 0,75	1,46 ± 0,63	1,25 ± 0,96	0,33
LDL- cholesterol (g/L)	1,22 ± 0,72	1,27 ± 1,04	1,44 ± 2,28	0,83
Triglyceride (g/L)	1,35 ± 0,43	1,39 ± 0,55	1,28 ± 0,48	0,53

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± SD ; IMC: indice de masse corporelle ; HbA1c : hémoglobine glyquée ; HDL : lipoprotéines de haute densité ; LDL : lipoprotéines de basse densité ; la valeur p < 0,05 est considérée comme significative.

IV- DISCUSSION :

Le diabète fait partie des dix principales causes de morbidité et de mortalité avec d'autres maladies non transmissibles, telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer et les maladies respiratoires. Le DT2 et ses complications sont considérés comme l'une des plus grandes crises sanitaires du 21^{ème} siècle avec une prévalence élevée [468].

Le DT2 étant une maladie multifactorielle, le rôle déterminant de plusieurs facteurs de risque impliqués dans le DT2 n'est pas encore clair. Des facteurs environnementaux et génétiques peuvent intervenir pour développer une anomalie de compensation des cellules sécrétrices de l'insuline et favoriser le développement de l'insulinorésistance et du DT2 [469].

Le but de cette étude a été d'évaluer le lien entre deux SNPs au niveau du gène TCF7L2 et la susceptibilité de développer le DT2 chez une population marocaine. Cette population était recrutée à l'HMIMV de Rabat et était caractérisée par une prédominance féminine, ce résultat peut être expliqué par le fait que les épouses de militaires sont celles qui consultent étant donné que leurs époux peuvent servir dans les zones opérationnelle loin de Rabat. Par ailleurs, nous avons obtenu une différence statistiquement significative concernant l'âge du groupe de diabétiques et ceux des sujets contrôle (p=0.048). Nous avons accepté cette différence entre les deux groupes car il ne risque pas de biaiser les résultats sachant que le génotype des deux SNPs ne risque pas de changer avec l'âge.

La revue de la littérature montre que le gène TCF7L2 est impliqué dans la régulation de la biosynthèse et de la sécrétion d'insuline et que les variants TCF7L2 sont fortement associés au risque de DT2 [469-470]. De nombreuses études dans le monde ont évalué le lien entre les SNP du gène TCF7L2 et un risque élevé de DT2. Une méta-analyse publiée en 2006 a étudié

les allèles de 5 SNP : rs7903146, rs12255372, rs11196205, rs290487 et rs11196218 dans le gène TCF7L2 et le risque de développer un DT2 dans la population asiatique [471]. D'autres études ont montré que les deux polymorphismes rs12255372 (G/T) et rs7903146 (C/T) du gène TCF7L2 sont les SNP les plus courants associés au risque de développer un DT2 [472]. Nous avons donc étudié la relation entre les polymorphismes TCF7L2 rs7903146, rs12255372 et la susceptibilité à développer un DT2 dans un groupe de patients marocains atteints de DT2 comparés à des sujets non diabétiques considérés comme sujets contrôle. Pour les deux SNP et sur la base de nos résultats, l'allèle T était associé à un risque élevé de DT2 et la fréquence du génotype TT était plus élevée chez les sujets diabétiques. Les résultats de notre étude sont cohérents avec ceux des résultats de plusieurs études et concernant plusieurs ethnies dans le monde. Ces études ont montré une relation significative entre les polymorphismes rs12255372 et rs7903146 du gène TCF7L2 et DT2 dans les populations française [473], néerlandaise [472], britannique [474], allemande [475], polonaise [476], américaine [476-477], japonaise [478], et dans d'autres ethnies [479-480]. Ces résultats ont été confirmés par de grandes méta-analyses portant sur différentes ethnies [481-482]. En revanche, l'allèle T était protecteur contre le diabète dans les populations nord-indiennes et camerounaises [483-484]. Par contre, Barros et al., dans le nord du Brésil, ont montré que les fréquences de génotype et d'allèle de rs7903146 et rs12255372 n'étaient pas significativement associées au risque de DT2 [485]. Les études similaires menées dans les populations arabes ont donné des résultats mitigés. Une étude tunisienne a montré une association positive de l'allèle T de rs7903146 et rs12255372 et le développement du DT2 [486], tandis que des études menées en Arabie saoudite et aux Émirats arabes unis ont trouvé une association faible ou nulle de rs7903146 et rs12255372 avec le développement du DT2 [487-488].

Par ailleurs, et à la fois pour rs12255372 et rs7903146, notre étude n'a pas trouvé de différence significative entre les trois génotypes concernant l'âge, l'IMC, la glycémie, l'HbA1c et le profil lipidique. Des résultats similaires ont été trouvés dans des études antérieures menées dans une population brésilienne [469]. Contrairement à nos résultats, les génotypes CT + TT de rs7903146 étaient significativement associés à des niveaux bas de cholestérol total dans une population ethnique kurde et iranienne [489]. Il a été démontré que le TCF7L2 est associé à une diminution des taux d'insuline plutôt qu'à une augmentation de la résistance à l'insuline [490]. Cette association avec le DT2 indépendante de l'IMC, de la résistance à l'insuline et d'autres facteurs métaboliques confirme que l'altération de la sécrétion d'insuline est le résultat d'un défaut génétique du TCF7L2 [481]. Malheureusement, les taux d'insuline n'ont pas été évalués dans notre étude car l'insuline n'a pas été dosée chez

nos patients. Il importe de préciser qu'il est possible que la susceptibilité induite par le polymorphisme soit modulée par des interactions avec d'autres facteurs génétiques ou environnementaux spécifiques, et que l'expression phénotypique du variant soit donc différente dans les populations étudiées.

La principale limitation de la présente étude pourrait sembler être le nombre plutôt faible de participants et le nombre de SNP étudiés (deux seulement). Par conséquent, des études à grande échelle dans la population marocaine sont essentielles pour confirmer ou infirmer nos résultats. De plus, il serait préférable d'étudier tous les autres SNP d'intérêt du gène TCF7L2 qui peuvent potentiellement révéler la présence d'autres liens avec la susceptibilité de développer un diabète et ses complications.

De nombreuses études GWAS ont été menées dans des cohortes européennes, américaines et asiatiques. Toutefois, à l'avenir, il sera important d'intégrer d'autres ethnies dans ses études d'association pangénomique afin d'identifier les allèles de prédisposition au DT2 propres à chaque ethnie [491]. Dans le futur, on peut envisager que les personnes présentant un risque génétique élevé de DT2 puissent faire l'objet d'interventions plus précoces en matière de mode de vie ou de pharmacologie afin d'atténuer leur risque de développer la maladie.

Enfin, le séquençage du génome entier ou le séquençage de l'exome entier sera un bon moyen d'avoir une vision globale de la susceptibilité de développer le DT2, cependant, ce projet est encore en phase embryonnaire au Maroc.

PARTIE 2 :
POLYMORPHISME DU GÈNE SLC47A1 (RS8065082) ET
L'ÉQUILIBRE DIABÉTIQUE ÉVALUÉ PAR HBA1C CHEZ UN
GROUPE PATIENTS MAROCAINS SOUS METFORMINE EN
MONOTHÉRAPIE.

La réponse thérapeutique aux médicaments est sujette à une grande variabilité inter et intraindividuelle mais elle dépend également des molécules en question. Cette variabilité peut conditionner l'efficacité de traitement et/ou sa sécurité. Les études pharmacogénétiques ont commencé à avoir de l'importance principalement lorsqu'on a commencé à parler de la médecine personnalisée. Et si la pharmacogénétique de certaines familles thérapeutiques a été bien développée comme les antivitamines K et les immunosuppresseurs, d'autres familles ne sont pas encore largement étudiées et c'est le cas des antidiabétiques. Pour le diabète, on peut noter une grande variabilité entre patients de réponse aux traitements au point de parler de diabétique plutôt que de diabète. Cette variabilité est due à plusieurs facteurs dont la génétique des populations. En conséquence nous avons réalisé une étude pilote qui rentre dans le cadre de la pharmacogénétique des antidiabétiques en étudiant un polymorphisme du gène SLC47A1, il s'agit de la première étude de son genre dans la population marocaine.

CHAPITRE 1 : PATIENT ET MÉTHODES

I. TYPE ET OBJECTIFS DE L'ETUDE

Il s'agit d'une étude transversale qui a concerné des patients atteints de DT2 sous metformine en monothérapie suivi à l'hôpital militaire Mohammed V de Rabat. Le but de ce travail est d'évaluer l'impact du polymorphisme du gène SLC47A1, le rs8065082 C>T sur les valeurs de HbA1c chez un groupe patients marocains sous metformine en monothérapie.

Approbation du comité d'éthique

L'étude a été approuvée par le comité d'éthique de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat et tous les patients ont donné leur consentement éclairé après avoir pris connaissance de l'objectif de notre travail de recherche, sa méthodologie, sa durée, les bénéfices attendus et le droit de se retirer à tout moment de la recherche. Une fiche d'exploitation (Annexe 3) a été utilisée pour la collecte des données. Cette fiche est composée de plusieurs items dont les principales sont : identité du patient (collectée pour un éventuel contact ultérieur), l'âge, le sexe, la taille, le poids, l'indice de masse corporelle (IMC), la glycémie à jeun, le taux de

l'HbA1c, le cholestérol total, le cholestérol de haute densité (HDL), le cholestérol de basse densité (LDL) et les triglycérides. Les valeurs de l'HbA1C inférieures ou égales à 7 % sont synonymes d'un diabète équilibré. Toutes les données et les résultats des analyses ont été codifiés et collectées de façon anonyme et stockées dans une base de données Excel.

II. PERIODE ET LIEUX DE L'ETUDE

Le recrutement des patients a été effectué au service de médecine B de l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V (HMIMV), Rabat sur une période de 2 ans allant du mois de Avril 2017 au juin 2019. Le génotypage a été réalisé au laboratoire de Biotechnologie Médicale de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat.

1. Population étudiée :

Dans cette étude nous avons recruté des patients provenant de différentes régions du Maroc et suivi pour un DT2 au service de médecine B de l'HMIMV ou pendant de la consultation.

1.1. Critères d'inclusion

Sont inclus dans cette étude :

- Patients atteints du DT2 depuis au moins 3 ans, diagnostiqués sur la base d'une glycémie à jeun supérieure ou égale à 1,26 g/L, et HbA1c supérieure ou égale à 7%.
- De nationalité marocaine
- Patient sous metformine en monothérapie
- De tout âge,
- Des deux sexes

1.2. Critères d'exclusion

Sont exclus de notre étude :

- Les patients sous autres antidiabétiques ou sous metformine associée à d'autre molécules
- Les patients présentant le diabète de type 1
- Diabète secondaire à des endocrinopathies, des maladies pancréatiques ou des médicaments.
- Les patients non marocains.
- Les femmes enceintes
- Les patients refusant de participer à l'étude

2. Prélèvements et analyses

2.1. Prélèvements

Les prélèvements sanguins des patients recrutés ont été réalisés au niveau du centre de Prélèvement de l'HMIMV. Après avoir eu leurs consentements éclairés pour réaliser l'analyse génétique, un prélèvement a été fait au niveau de la veine du pli du coude. Un volume de 5 ml de sang a été prélevé sur tube contenant de l'acide éthylène diamine tétra-acétique dissodique (EDTA K2, solution à 5%).

Les échantillons sont identifiés et un code numérique est attribué à chaque dossier. Les échantillons sanguins destinés aux tests génétiques sont acheminés de façon journalière dans une glacière au laboratoire de Biotechnologie de la faculté de médecine et de pharmacie de Rabat pour un traitement immédiat ou une conservation à -20°C. Une décongélation douce des échantillons sanguins à +4 °C ou à température ambiante est respectée juste avant l'extraction d'ADN.

III. METHODES

1. Extractions de l'ADN des patients

L'ADN total a été extrait et purifié à partir d'échantillons de sang total, en utilisant un kit commercial d'extraction d'ADN génomique Purelink genomic DNA Kit (Invitrogen, Life technology, USA) selon les instructions du fabricant. En bref, des aliquotes de 200 µl pour chaque échantillon de sang total ont été utilisées et l'ADN total a été élu dans 100 µl de tampon d'éluion.

Avant de commencer l'extraction d'ADN de nos échantillons il faut s'assurer qu'il n'y a pas de précipité visible dans Pure Link Buffer Digestion ®Genomic ou PureLink® génomique Lysis/Binding Buffer. S'il y en a, on réchauffe les tampons à 37 ° C pendant 3-5 minutes et bien mélanger pour dissoudre le précipité avant l'utilisation.

- En premier temps configurer l'incubateur à 55 ° C.
- Dans un micro tube stérile, ajouter 200 µl échantillon de sang.
- Ajouter 20 µl Proteinase K à l'échantillon.
- Ajouter 20µl RNase à l'échantillon, bien mélanger en bref agitation par vortex, et incuber à température ambiante pendant 2 minutes.
- Ajouter 200 µl PureLink®Genomic Lysis/Binding Buffer et bien mélanger par vortex pour obtenir une solution homogène.
- Incuber à 55 °C pendant 10 minutes pour favoriser la digestion des protéines.

- Ajouter 200 µl d'éthanol à 96-100% du lysat. Bien mélanger par vortex pendant 5 secondes, pour donner une solution homogène.
- Retirer une colonne dans la collecte des tubes de l'emballage.
- Ajouter le lysat (640 µl) préparée avec PureLinkGenomic Lysis/Binding Buffer et de l'éthanol à la colonne PureLink®Spin.
- Centrifuger la colonne à 10.000xg pendant 1 minute à température ambiante.
- Jeter le tube de collecte et placer la colonne dans un nouveau tube collecteur
- Ajouter 500µl de Wash Buffer 1, préparé avec de l'éthanol à la colonne.
- Centrifuger la colonne à la température ambiante à 10.000 xg pendant 1 minute.
- Jeter le tube de collecte et placer la colonne de centrifugation dans un tube de collecte de PureLink® propre fourni avec le kit.
- Ajouter 500µl Wash Buffer 2 préparé avec de l'éthanol à la colonne.
- Centrifuger la colonne à la vitesse maximale pendant 3 minutes à température ambiante.
- Jeter le tube collecteur et placer la colonne de centrifugation dans un tube de micro centrifugation de 1,5ml stérile
- Ajouter 100µl de ®Genomic Elution Buffer Pure Link à la colonne.
- Incuber à température ambiante pendant 1 minute. Centrifuger la colonne à la vitesse maximale pendant 1 minute à température ambiante. (Le tube contient de l'ADN génomique purifié).
- Le tube contient de l'ADN purifié. Retirer et jeter la colonne. Pour éviter la congélation et la décongélation répétée de l'ADN, stocker l'ADN purifié à 4°C pour une utilisation immédiate ou aliquote de l'ADN et de conserver à -20°C pour le stockage à long terme.

2. Dosage et pureté de l'ADN

La concentration d'ADN et sa pureté est effectuée par dosage au spectrophotomètre adapté à la mesure de 2 µL de solution. La concentration d'ADN est déterminée par une mesure effectuée à 260 nm. L'interférence par des contaminants se reconnaît par calcul d'un ratio. Les protéines absorbant à 280 nm, le ratio absorbance d'ADN à 260nm/absorbance des protéines à 280nm (A260/A280) est utilisé pour estimer la pureté de l'acide nucléique. L'ADN pur devrait avoir un ratio d'environ 1,8.

Pour notre travail nous avons dosé et évalué le rendement et la pureté des extraits d'ADN par spectrophotométrie en utilisant le NanoVue™ Spectrophotometer.

Tableau XI : Concentration moyenne et rapport de dosage de l'extrait d'ADN

	rs 8065082 (SLC47A1)
Concentration Moyenne	50.312
Rapport (A260/280)	1.759 .542-1.98]

3. Génotypage de SLC47A1 rs8206580

Le génotypage du rs8206580 a été réalisé par réaction PCR avec dans un volume final de 10 µl. Le mélange s'effectue toujours sur la glace, les différents éléments qui le composent, sont placés dans l'ordre suivant dans les microtubes : Le tout est mélangé doucement pour ne pas altérer l'enzyme de la Taq DNA polymérase. Composition du mélange réactionnel dans les microtubes.

Le génotypage des SNP rs8206582 (C>T) a été réalisé dans l'ADN amplifié par PCR en temps réel par discrimination allélique à l'aide de TaqMan d'Applied Biosystems (Foster City, CA, États-Unis) La PCR en temps réel a été réalisée en utilisant

- ✓ 5 µl de mélange Master mix de PCR universelle TaqMan®,
- ✓ 0,25µl de mélange de test de génotypage SNP (sondes TaqMan) (20x),
- ✓ 3,25µl d'eau sans Dnase et 1,5µl d'ADN (20 ng),
- ✓ 1.5 µl Solution d'ADN (échantillon)

Pour porter le volume réactionnel final à 10µl. Les conditions de cyclage ont été définies comme suit : dénaturation initiale à 95°C pendant 10 minutes, 40 cycles de 92°C pendant 15 secondes (dénaturation) et 60°C pendant 1 minute (annelage/extension). La PCR a été réalisée à l'aide du système 7500 fast real time PCR (applied biosystems). Les génotypes ont été classés en allèle homozygote (CC), hétérozygote (CT) et allèle homozygote (TT) pour le rs8206580.

4. Analyses statistiques

Les résultats qualitatifs ont été présentés en effectifs et en pourcentages et les résultats quantitatifs ont été présentés en moyenne ± écart type pour les répartitions gaussiennes ou en médiane et interquartiles pour les répartitions non gaussiennes. La normalité des variables a été évaluée par les paramètres de répartition et par le test de Kolmogorov Smirnov. Les fréquences alléliques et génotypiques chez les patients ont été estimées par comptage direct. Les génotypes du rs7903146 ont été classés en allèle homozygote (CC), hétérozygote (CT) et allèle homozygote (TT) pour. Le test t de Student et le test de Mann et Whitney (test non

paramétrique) ont été utilisés pour comparer les moyennes des données quantitatives et le test Chi-carré ou le test exact de Fisher ont été utilisés pour comparer les données qualitatives. L'analyse de la variance (ANOVA) à un seul facteur ou le test de Kruskal-Wallis (test non paramétrique) ont été utilisés pour comparer plusieurs groupes de variable quantitatives. Les relations entre les différents groupes, génotypes et allèles de polymorphisme SLC47A1 rs8206580 ont été évaluées par régression logistique en calculant l'intervalle de confiance à 95% et les rapports de cotes (OR). Des valeurs de p inférieures à 0,05 ont été considérées comme statistiquement significatives. Ces analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS version 23.0 pour Windows. L'analyse statistique des données a été réalisée au Laboratoire de recherche épidémiologique et clinique de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat.

CHAPITRE 2 : RÉSULTATS

I. CARACTERISTIQUES DESCRIPTIFS DE LA POPULATION

Notre étude a concerné 91 patients atteints de DT2 et répondants aux différents critères d'inclusion précités. Le sexe féminin était prédominant et l'âge moyen des patients a été de 56.02±10.98. Les autres caractéristiques de la population étudiée sont détaillées dans le tableau XII

Tableau XII : Caractéristiques sociodémographiques et cliniques de la population étudiée.

Caractéristiques	Valeurs
Sexe : Hommes	37(40,7%)
Femmes	54(59,3%)
Age (années)	56,02 ± 10,98
Glycémie(g/l)	1,6 ± 0,59
HbA1c%	7,65 ± 1,90
HTA:	
Oui	59 (64%)
Non	32 (35,2%)
IMC	28,12±4,7
Cholesterol total (g/l)	1,7(1,15-2,38)
LDL(g/l)	1,03(0,58-1,48)
HDL(g/l)	1,2(0,52-1,48)
Triglycérides (g/l)	1,23(1-1,54)

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± SD ou médiane et interquartiles ; HbA1c : hémoglobine glyquée ; HTA : Hypertension artérielle ; HDL : lipoprotéines de haute densité ; LDL : lipoprotéines de basse densité.

II. RESULTATS DE LA DISCRIMINATION ALLYLIQUE DU RS8065082 C>T

1. SNP 8206580 (C>T)

➤ **Les résultats des patients diabétiques en monothérapie par la metformine**

Les figures suivantes représentent les résultats des courbes PCR et la discrimination allélique produite par le logiciel TaqMan® Genotyper™ Software. Les patients dont le génotype était indéterminé ont été refaits par la même technique pour déterminer le génotype.

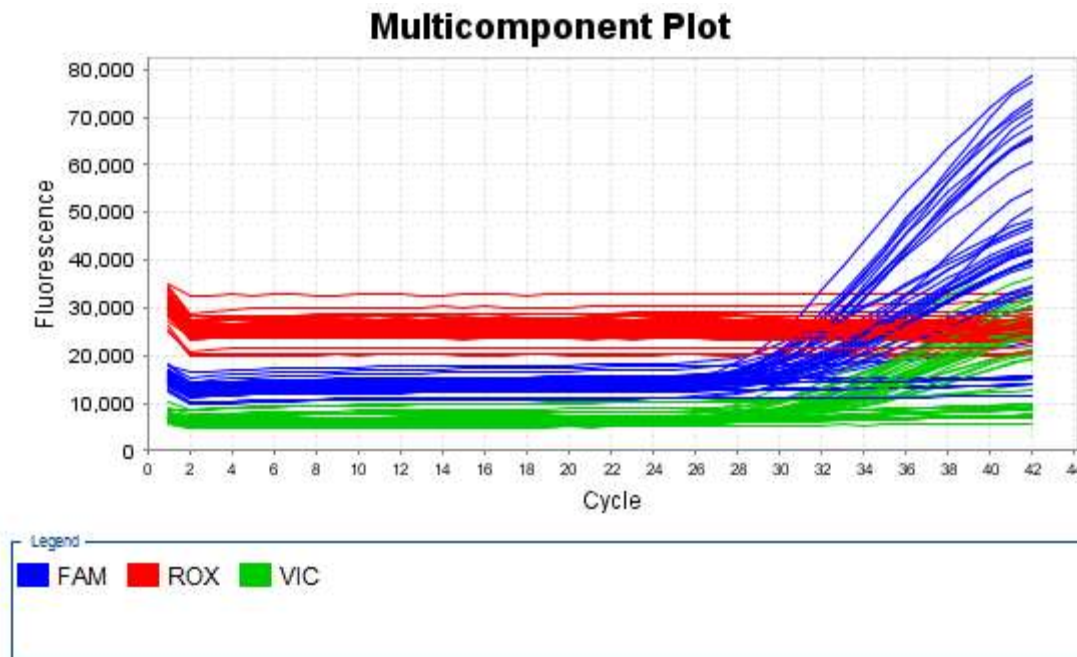


Figure 43: Les courbes de la fluorescence de la réaction PCR des patients diabétiques du rs8065082 (C>T).

Elles regroupent les patients qui ont le génotype hétérozygote CT, Homozygote muté TT et Homozygote normal CC

Allelic Discrimination Plot

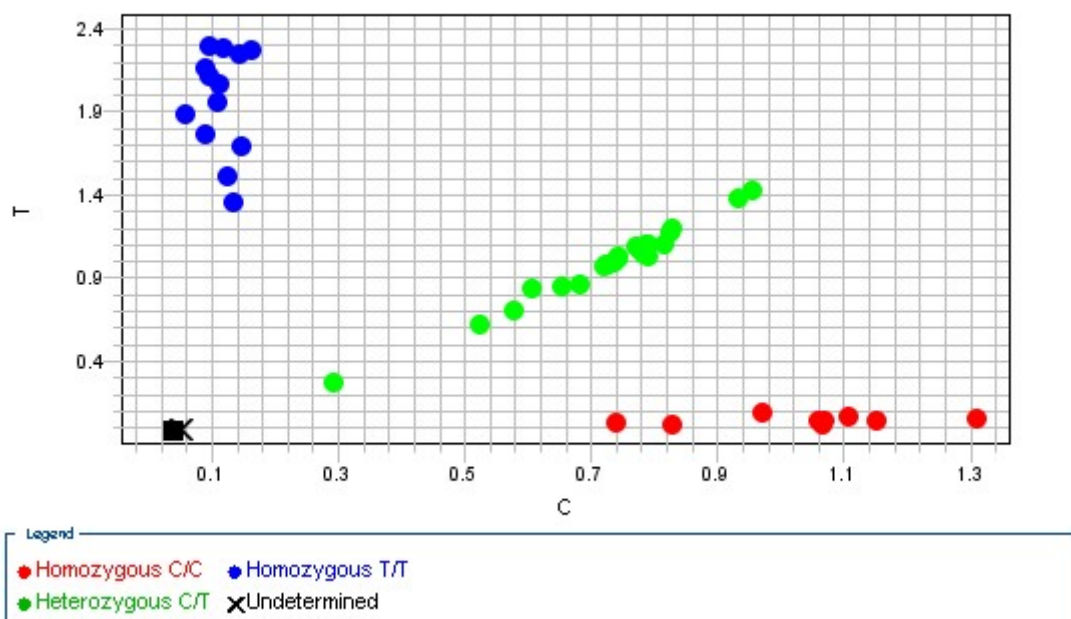


Figure 44: Discrimination allélique des résultats du SNP rs8065082 des patients diabétiques :

La couleur rouge représente les échantillons homozygote (VIC), la couleur bleue représente les échantillons homozygote (FAM), la couleur verte représente les échantillons

III.DISTRIBUTION GENOTYPIQUE

Les génotypes du rs8065082 (C>T) dans été comme suite : CC (12/91 ; 12,2%), TT (32/91 ; 35,2%) et CT (47/91 ; 51,6%). La fréquence de l'allèle C a été de 39% et celle de l'allèle T a été de 61%. La distribution des différents génotypes en fonction de l'équilibre ou non du diabète est détaillée dans le tableau 12. Chez le groupe des patients équilibrés (HbA1c < 7%), les fréquences génotypiques du polymorphisme sont : CC (50%), TT (51.5%) et CT (40%) alors que pour le groupe de patients non équilibrés (HbA1c > 7%) sont : CC (50%), TT (48.5%) et CT (60%). Aucune différence statistiquement significative (p=0,54) entre les génotypes du polymorphisme rs8065082 et l'équilibre du diabète n'a été trouvée.

Tableau XIII: Distribution des trois génotypes en fonctions de l'équilibre de HbA1c chez les patients traités par la metformine

	HbA1c < 7% n= 42	HbA1c > 7% n= 47	p-value
CC (N=12)	6(50%)	6(50%)	0.77
TT (N=32)	17(51.5%)	16(48.5)	0.43
CT (N=47)	19(40.4%)	28(59.6%)	0.25
Allele C= 0.38 Allele T= 0.61			

IV. LES FACTEURS INFLUENÇANT LA REPONSE A LA METFORMINE EN FONCTION DES GENOTYPES DU POLYMORPHISME RS8065082.

Le tableau XIV: la répartition selon les génotypes (CC, CT et TT) des paramètres sociodémographiques, cliniques et biologiques de la population étudiée. Les analyses statistiques par les tests de Chi-carré, test exact de Fisher, ANOVA ou le test de Kruskal-Wallis n'ont montré aucune différence statistiquement significative concernant la répartition du sexe, la présence ou non de l'HTA, la répartition de l'IMC, de la glycémie, du cholestérol total, du cholestérol HDL, du cholestérol LDL et des triglycérides selon les génotypes ($p > 0,05$). Cependant une différence statistiquement significative est trouvée entre les moyennes d'âges entre les trois génotypes : CC ($51,91 \pm 11,09$), TT ($53,37 \pm 10,48$) et CT ($58,87 \pm 10,72$) ; $p = 0,03$.

Tableau XIV: Répartition des paramètres sociodémographiques, cliniques et biologiques selon les 3 trois génotypes.

	CC/ n=12	TT/n=32	CT/ n=47	p-value
Sexe	H	5(41,7%)	15(46,9%)	0,634
	F	7(58,3%)	17(53,1%)	
Age (année)	51,91±11,09	53,37±10,48	58,87±10,72	0,03
HTA				0,561
Oui	66,7%	23 (71,9%)	28 (59,6%)	
Non	33,3%	9 (28,1%)	19 (40,4%)	
Glycémie(g/l)	12(1,58±0,63)	33(1,52±0,50)	47(1,53±0,50)	0,58
HbA1c (%)	7,74 ±2,03	7,48 ±1,66	7,74 ± 2,05	0,824
IMC	(28,02± 4.39)	27,03 ±4,09	1,66(1,14±2,1)	0,25
Cholesterol T(g/l)	1,46(1,10-1,99)	1,95(1,25-2,72)	1,66(1,14-2,1)	0,068
HDL(g/l)	0,78(0,51-1,50)	0,78(0,48-1,74)	1,50(0,78-1,90)	0,068
LDL(g/l)	0,94(0,44-1,37)	1,02(0,64-1,49)	1,12(0,51-1,53)	0,76
Triglycéride (g/l)	1,25(1,05-1,68)	1,29(0,96-1,57)	1,21(1-1,49)	0,98

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm SD ; IMC : indice de masse corporelle ; HbA1c : hémoglobine glyquée ; HDL : lipoprotéines de haute densité ; LDL : lipoprotéines de basse densité ; la valeur $p < 0,05$ est considérée comme significative.

V.DISCUSSION

La metformine est l'antidiabétique oral le plus utilisé pour réduire la glycémie et le risque de maladies cardiovasculaires. Une méta-analyse a montré que la monothérapie à la metformine réduisait l'HbA1c, un indicateur de la concentration plasmatique moyenne de glucose, en moyenne de 1,12 % [492]. La metformine n'est pas métabolisée in vivo. L'absorption gastro-intestinale, l'absorption hépatique et l'excrétion rénale de la metformine sont largement médiées par les transporteurs de cations organiques (OCT) et les protéines d'extrusion de plusieurs médicaments et toxines (MATE pour Multidroque et toxine extrusion protein 1) [493-494].

Il existe une variabilité interindividuelle considérable dans la réponse hypoglycémiant à la metformine. Jusqu'à un tiers des patients ne répondent pas de manière adéquate à la metformine. Cette variabilité interindividuelle peut être causée par des facteurs non génétiques tels que la fonction rénale ou hépatique et des facteurs génétiques tels que la variation des gènes du transporteur de metformine [495]. Le SLC47A1 code pour un membre de la famille des protéines de transport multidroque et extrusion de toxines (MATE). La metformine est l'un des substrats de ce transporteur [496]. Il a été rapporté que plusieurs SNPs de SLC47A1 (principalement rs594709 et rs2289669) influencent la réponse pharmacodynamique à la metformine [497]. Un autre SNP du même gène, le rs8065082 a été impliqué dans la pharmacogénétique de la metformine mais reste très peu étudié dans les populations. Ainsi étude, nous avons étudié dans ce travail l'association entre le SLC47A1 rs8065082 et la réponse à la metformine chez un groupe de patients marocains atteints de DT2. Quatre-vingt et onze patients atteints de DT2 ont participé à notre étude avec une prédominance féminine qui pourrait être expliquée par la nature du lieu de l'étude qui reçoit en général plus de femmes de d'hommes ; ces derniers étant des militaires actifs dans des zones opérationnelles. L'allèle T a été plus fréquent que l'allèle C (61% contre 39%) alors que les fréquences génotypiques ont été

CC (12/91 ; 12,2%), TT (32/91 ; 35,2%) et CT (47/91 ; 51,6%). Ces résultats s'accordent avec ceux publiés dans d'autres ethnies qui ont trouvé une prédominance de l'allèle T [498].

Nous avons défini durant notre étude l'équilibre du diabète avec un taux de l'HbA1C inférieur ou égal à 7% et un déséquilibre avec une valeur supérieure à 7%. La comparaison des différents fréquences génotypiques entre les deux groupes de diabétiques équilibrés et non équilibrés n'a pas montré de différence statistiquement significatif ($p=0,54$). En conséquence, et pour notre étude, le génotype du rs8065082 n'influence pas l'équilibre du diabète.

D'un autre côté, les tests statistiques de la répartition selon les génotypes (CC, CT et TT) des paramètres sociodémographiques, cliniques et biologiques de la population étudiée n'ont montré aucune différence statistiquement significative ($p > 0,05$) sauf l'âge ($p = 0,03$). Bien entendu, pour cette significativité, il s'agit d'un hasard sachant que l'âge ne peut pas influencer la fréquence génotypique.

Les études concernant les polymorphismes du gène SLC47A1 en général et le rs8065082 en particulier sont assez rares et leurs résultats ne sont pas concluants. Une étude a montré que les génotypes CT + TT du rs8065082 sont associés à une réponse accrue à la metformine chez les personnes présentant une intolérance au glucose par rapport au génotype CC [499]. Une autre étude ont confirmé que les génotypes CT et TT sont associés à une bonne réponse à la metformine avec une réduction de l'HbA1C plus efficace chez les DT2 [500]. Ces résultats ne sont pas concordant avec les nôtres puisque nous n'avons pas trouvé de différences de fréquences génotypiques entre les groupes de diabétiques équilibrés et non équilibrés. Par ailleurs, les résultats d'autres études sont comparables aux nôtres [498] ; elles n'ont pas trouvé de lien significatif entre les différents génotypes du rs8065082 et la réponse au traitement.

Nous sommes conscients que cette étude préliminaire a ses limites :

- La taille de l'échantillon (91 patients) reste un facteur limitant pour ne pas atteindre une bonne puissance du modèle statistique et aussi l'échantillon pourrait ne pas être représentatif de la population marocaine.
- L'étude d'un seul SNP du gène SLC47A1, le rs8065082, pourrait ne pas être suffisant pour trouver une significativité. En plus le rs8065082 C>T est en déséquilibre de liaison avec un autre SNP le rs2289669 G>A du même gène dans la pharmacogénétique de la metformine. Cependant nous n'avons pas pu étudier le deuxième SNP.
- Il est évident que la réponse ou non au traitement ne peut être expliquée par le seul génotypage du rs8065082. Les facteurs liés à la maladie, au patient et l'environnement sont autant des paramètres modulant la réponse au traitement.
- Comme complément de cette étude qui s'intéresse à un transporteur de la metformine, un dosage plasmatique de cette dernière aurait été souhaitable en guise de suivi thérapeutique et pour documenter les éventuels non adhérences aux traitements. En effet dans les études pharmacogénétiques, le couple génotypage-phénotypage a beaucoup plus de puissance et signification que le génotypage seul.

- D'autres paramètres biologiques auraient été très intéressants à étudier à savoir le dosage de l'insuline et le calcul de l'indice HOMA pour documenter la résistance à l'insuline.

En conséquence, il est clairement nécessaire de réaliser des études de plus grand envergure portant sur l'efficacité de la metformine et aussi d'autres médicaments antidiabétiques par rapport à la génétique des patients. En effet, la pharmacogénétique des ADO en est à ses débuts et il n'existe pas d'exemples d'algorithmes de traitement du diabète guidés par la génétique qui sont actuellement utilisés en pratique pour les formes polygéniques du diabète, comme le DT2. Pour faire avancer le domaine et favoriser l'application de l'information génétique dans le contexte clinique, les communautés médicales et scientifiques devront prendre en compte plusieurs défis et opportunités. L'un des principaux défis à relever dans ce domaine est la conception optimale des études. Jusqu'à présent, la plupart des études avaient une taille d'échantillon faible, n'ont étudié qu'un nombre limité de gènes et de polymorphismes, n'ont pas fait l'objet d'un ajustement statistique pour des comparaisons multiples, et variaient en termes de conception de l'étude, de cohorte de sujets (comorbidité, médication simultanée et l'adhésion aux médicaments) et la mesure des résultats (par exemple, la progression de la maladie).

Ces facteurs ont probablement contribué à l'absence de répliation des résultats pharmacogénétique entre les cohortes. Idéalement, les études futures devraient être menées dans de grandes cohortes de patients présentant des phénotypes bien définis, avec une puissance suffisante pour détecter les différences de résultats préspecifiés, inclure une approche complète pour l'interrogation des gènes, appliquer les ajustements statistiques appropriés pour les comparaisons multiples, et inclure des facteurs tant cliniques que génétiques. La réalisation de ces objectifs, en particulier dans de grandes cohortes de diabétiques, ne sera pas une tâche facile. Toutefois, ces obstacles peuvent être surmontés grâce à des collaborations entre des structures universitaires, les organismes de subvention fédéraux et privés, les milieux communautaires et l'industrie pharmaceutique.

Un autre défi pour le domaine est la variété des définitions de la réponse aux médicaments antidiabétiques qui ont été utilisées dans les études cliniques. Les sulfonylurées sont un bon exemple de cette situation, dans laquelle il existe plusieurs définitions de l'échec primaire et secondaire des sulfonylurées. Des définitions plus uniformes de la réponse aux médicaments diabétiques et des effets indésirables devront être appliquées à la recherche pharmacogénétique afin d'obtenir une cohérence entre les études [501] Dans le même ordre

d'idées, il faudra choisir des paramètres physiologiquement pertinents (p. ex. sensibilité à l'insuline, production hépatique de glucose) pour définir la réponse aux médicaments et prêter attention à la méthodologie utilisée pour mesurer ces paramètres [501,502].

En outre, d'autres stratégies technologiques, telles que le séquençage de nouvelle génération, devront être mises en œuvre afin d'identifier les variantes moins courantes qui peuvent influencer la réponse aux médicaments entre les individus.

Une fois les marqueurs prometteurs identifiés, une opportunité majeure pour le domaine sera de développer des études prospectives pour déterminer comment l'information génétique peut être utilisée pour sélectionner ou optimiser la pharmacothérapie du DT2, et si cette stratégie donne de meilleurs résultats que l'approche traditionnelle. Les études prospectives permettront très certainement évaluer l'impact de la génétique sur les paramètres de la glycémie et de l'HbA1c.

Cependant, une question plus importante sera de savoir si le traitement médicamenteux et le contrôle de la glycémie guidés par la génétique sont significatifs et peut diminuer l'incidence des complications associées à la maladie.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le diabète de type 2 est une maladie multifactorielle dont l'étiologie fait intervenir des déterminants génétiques et environnementaux. Actuellement la complexité des mécanismes physiopathologie ont été amplifié par le caractère polygénique cette complexité tient aussi au fait qu'il existe des interactions entre les facteurs génétiques et les facteurs environnementaux. Grâce aux progrès récents de la biologie moléculaire, qui ont permis d'aborder la caractérisation de l'information génétique portée par les individus de nombreux polymorphismes des gènes candidats impliqués dans la physiopathologie de diabète de type 2 ont pu être identifiés.

Les études d'association ont permis d'identifier un certain nombre de variants alléliques fréquents de plus ces variants peuvent être directement causals. En d'autres termes la réponse aux médicaments dépend également à des variants génétiques ; la pharmacogénétique a commencé à avoir de l'importance principalement quand on a commencé à parler de la médecine personnalisée.

Nous avons caractérisé les polymorphismes analysées dans l'étude GWAS publiées en 2010 afin de réaliser la réplique dans notre population étudiée. Etant donnée que les polymorphismes rs 7903146 et rs12255372 du gène TCF7L2 sont les marqueurs clé du diabète de type 2 avec le plus grand effet observé a ce jour dans le monde. Nous avons choisis d'étudier ces polymorphismes dans notre population seule ou en interaction avec les données anthropométriques, d'autre part nous avons évalué l'influence de SLC47A1 (rs8065082) sur l'équilibre de HbA1c chez les patients marocains sous métformine en monothérapie.

Nos résultats ont montré une association statistiquement significative entre les génotypes ainsi l'allèle T des polymorphismes rs 7903146 et rs 12255372 et DT2 dans la population marocaine étudiée. En revanche il n'y avait pas de différence significative dans les paramètres anthropométrique ou métaboliques entre différents génotypes de deux polymorphismes. Concernant le polymorphisme rs8065082 du gène SLC47A1, ce dernier n'influence pas l'équilibre du diabète de type 2 dans la population marocaine.

D'un autre côté, les tests statistiques selon les génotypes (CC, CT et TT) des paramètres sociodémographiques, cliniques et biologiques de la population étudiée n'ont montré aucune différence statistiquement significative ($p > 0,05$).

Finalement l'objectif ultime de tout généticien est de savoir comment les résultats issus de l'épidémiologie génétique peuvent être appliqués à la pratique clinique dans un but préventif et thérapeutique. Grace à l'identification des polymorphismes de la prédisposition et/ou le développement de risque de DT2, l'espoir de voir se développer des tests génétique pour la maladie a refait son réapparition. Cependant l'utilisation de ces variants de susceptibilité dans

la prédiction du risque développement du diabète reste. Effectivement, l'utilisation de facteur de risque classique de la maladie tels que l'IMC, l'âge, le sexe, l'antécédent familiale est beaucoup plus efficace pour estimer le risque futur de diabète que ne l'est l'utilisation de l'information génétique basée sur la combinaison des variants que l'on connait aujourd'hui. Toutefois, cela ne signifie pas que les perspectives de profilage génétique individualisé resteront sans valeur. Pour améliorer la prédiction du risque de diabète l'utilisation de l'information génétique doit pouvoir expliquer une plus grande partie de la prédisposition génétique à la maladie.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Schofield, C. J., Libby, G., Brennan, G. M., MacAlpine, R. R., Morris, A. D., Leese, G. P., & DARTS/MEMO Collaboration. (2006). Mortality and hospitalization in patients after amputation: a comparison between patients with and without diabetes. *Diabetes care*, 29(10), 2252-2256.
- [3] Buysschaert, M. (2011) *Diabétologie clinique*, 4^{ème} édition. Editions de Boeck Supérieur, 199p
- [4] Beaune, P. H. (1993). Human cytochromes P450. Applications in pharmacology. *Thérapie*, 48(6), 521-526.
- [5] Narjoz, C., Moreau, C., Beaune, P., & Loriot, M. A. (2012). Intérêt clinique de la pharmacogénétique: anticiper les toxicités et mieux prédire l'efficacité des médicaments. *Réanimation*, 21(2), 354-362.
- [6] Rahima, M., & Wahiba, A. (2021). Relation entre le diabète de type 2 et les affections thyroïdiennes (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).
- [7] Diabète Québec. Le traitement du diabète, de 1921 à aujourd'hui [Internet]. [Juin 2014]. :<http://www.diabete.qc.ca/fr/comprendre-le-diabete/toutsur-le-diabete/histoire-du-diabete/le-traitement-du-diabete-de-1921-a-aujourd'hui>. Consulté le 22 Oct 2015
- [8] Polonsky, K. S. (2012). The past 200 years in diabetes. *New England Journal of Medicine*, 367(14), 1332-1340.
- [9] Bah, K. (2021). Etude de la Fréquence de l'hypogonadisme chez les patients diabétiques de type 2 à Bamako (Doctoral dissertation, USTTB).
- [10] Ligue Marocaine de Lutte Contre le Diabète. Histoire du diabète [Internet]. Rabat: LMLCD (Maroc); c2014 [updated s.d.]. :http://www.lmlcd.com/index.php?option=com_content&view=article&id=319. Consulté le 22 Oct 2015.
- [11] Baena-Díez, J. M., Peñafiel, J., Subirana, I., Ramos, R., Elosua, R., Marín-Ibañez, A., ... & Grau, M. (2016). Risk of cause-specific death in individuals with diabetes: a competing risks analysis. *Diabetes care*, 39(11), 1987-1995.
- [12] World Health Organization. (2009). Global health risks: mortality and burden of disease attributable to selected major risks. World Health Organization.
- [13] Shaw, J. E., Sicree, R. A., & Zimmet, P. Z. (2010). Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes research and clinical practice*, 87(1), 4-14.
- [14] Whiting, D. R., Guariguata, L., Weil, C., & Shaw, J. (2011). IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes research and clinical practice*, 94(3), 311-321.
- [15] Zhou, B., Lu, Y., Hajifathalian, K., Bentham, J., Di Cesare, M., & Danaei, G. (2016). Collaboration NCDRF. *Lancet*, 387, 1513-1530.
- [16] Atlas, D. (2015). International diabetes federation. *IDF Diabetes Atlas, 7th edn. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation.*
- [17] Atlas, D. (2003). International diabetes federation. *IDF Diabetes Atlas, 7th edn. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation.*
- [18] Federation, I. D. (2017). IDF diabetes atlas. Brussels, Belgium. *International Diabetes Federation.*
- [19] Federation, I. D. (2009). IDF Diabetes Atlas, 4th Edn. Montreal. CA: *International Diabetes Federation.*

- [20] Atlas, D. (2015). International diabetes federation. *IDF Diabetes Atlas, 7th edn. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation*
- [21] Federation, I. D. (2013). *IDF diabetes atlas. Brussels: International Diabetes Federation, 128, 40-50.*
- [22] Atlas, D. (2015). International diabetes federation. *IDF Diabetes Atlas, 7th edn. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation.*
- [23] Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, Huang Y, da Rocha Fernandes JD, Ohlrogge AW, Malanda B. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes Res Clin Pract.* 2018 Apr;138:271-281. doi: 10.1016/j.diabres.2018.02.023. Epub 2018 Feb 26. PMID: 29496507
- [24] Tuomi, T., Santoro, N., Caprio, S., Cai, M., Weng, J., & Groop, L. (2014). The many faces of diabetes: a disease with increasing heterogeneity. *The Lancet*, 383(9922), 1084-1094.
- [25] Balasubramanyam, A., Nalini, R., Hampe, C. S., & Maldonado, M. (2008). Syndromes of ketosis-prone diabetes mellitus. *Endocrine reviews*, 29(3), 292-302.
- [26] Barat P. (2013) Épidémiologie du diabète de l'enfant. *EMC - Pédiatrie*;8(4):1-5.
- [27] Atkinson, M. A., & Eisenbarth, G. S. (2001). Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *The Lancet*, 358(9277), 221-229
- [28] Daneman, D. (2006). Type 1 diabetes. *The Lancet*, 367(9513), 847-858.
- [29] Alqahtani, N., Khan, W. A. G., Alhumaidi, M. H., & Ahmed, Y. A. A. R. (2013). Use of glycated hemoglobin in the diagnosis of diabetes mellitus and pre-diabetes and role of fasting plasma glucose, oral glucose tolerance test. *International journal of preventive medicine*, 4(9), 1025.
- [30] Patterson, C. C., Dahlquist, G. G., Gyürüs, E., Green, A., Soltész, G., & EURODIAB Study Group. (2009). Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989–2003 and predicted new cases 2005–20: a multicentre prospective registration study. *The Lancet*, 373(9680), 2027-2033.
- [31] Prockop, D. J. (1997). Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. *Science*, 276(5309), 71-74.
- [32] Patterson, C. C., Gyürüs, E., Rosenbauer, J., Cinek, O., Neu, A., Schober, E., ... & Soltész, G. (2012). Trends in childhood type 1 diabetes incidence in Europe during 1989–2008: evidence of non-uniformity over time in rates of increase. *Diabetologia*, 55(8), 2142-2147.
- [33] Bellamy, L., Casas, J. P., Hingorani, A. D., & Williams, D. (2009). Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet*, 373(9677), 1773-1779.
- [34] Schaefer-Graf, U., Napoli, A., & Nolan, C. J. (2018). Diabetes in pregnancy: a new decade of challenges ahead. *Diabetologia*, 61(5), 1012-1021.
- [35] Retnakaran, R. (2017). Adiponectin and β -cell adaptation in pregnancy. *Diabetes*, 66(5), 1121-1122.
- [36] Zheng, W., & She, J. X. (2005). Genetic association between a lymphoid tyrosine phosphatase (PTPN22) and type 1 diabetes. *Diabetes*, 54(3), 906-908.
- [37] Størling, J., & Pociot, F. (2017). Type 1 diabetes candidate genes linked to pancreatic islet cell inflammation and beta-cell apoptosis. *Genes*, 8(2), 72.

- [38] Fajans, S. S., Bell, G. I., & Polonsky, K. S. (2001). Molecular mechanisms and clinical pathophysiology of maturity-onset diabetes of the young. *New England Journal of Medicine*, 345(13), 971-980.
- [39] Bonnefond, A., Philippe, J., Durand, E., Dechaume, A., Huyvaert, M., Montagne, L., ... & Froguel, P. (2012). Whole-exome sequencing and high throughput genotyping identified KCNJ11 as the thirteenth MODY gene. *PLoS one*, 7(6), e37423.
- [40] Yamagata, K., Oda, N., Kaisaki, P. J., Menzel, S., Furuta, H., Vaxillaire, M., ... & Bell, G. I. (1996). Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1 α gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY3). *Nature*, 384(6608), 455-458.
- [41] Yamagata, K., Oda, N., Kaisaki, P. J., Menzel, S., Furuta, H., Vaxillaire, M., ... & Bell, G. I. (1996). Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1 α gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY3). *Nature*, 384(6608), 455-458.
- [42] Horikawa, Y., Iwasaki, N., Hara, M., Furuta, H., Hinokio, Y., Cockburn, B. N., ... & Bell, G. I. (1997). Mutation in hepatocyte nuclear factor-1 β gene (TCF2) associated with MODY. *Nature genetics*, 17(4), 384-385.
- [43] Froguel, P., Zouali, H., Vionnet, N., Velho, G., Vaxillaire, M., Sun, F., ... & Cohen, D. (1993). Familial hyperglycemia due to mutations in glucokinase--definition of a subtype of diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*, 328(10), 697-702.
- [44] Babenko, A. P., Polak, M., Cavé, H., Busiah, K., Czernichow, P., Scharfmann, R., ... & Froguel, P. (2006). Activating mutations in the ABCC8 gene in neonatal diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*, 355(5), 456-466.
- [45] Murphy, R., Ellard, S., & Hattersley, A. T. (2008). Clinical implications of a molecular genetic classification of monogenic β -cell diabetes. *Nature clinical practice Endocrinology & metabolism*, 4(4), 200-213.
- [46] Schwitzgebel, V. M. (2014). Many faces of monogenic diabetes. *Journal of diabetes investigation*, 5(2), 121-133.
- [47] Cerf, M. E. (2013). Beta cell dysfunction and insulin resistance. *Frontiers in endocrinology*, 4, 37.
- [48] Bunney, P. E., Zink, A. N., Holm, A. A., Billington, C. J., & Kotz, C. M. (2017). Orexin activation counteracts decreases in nonexercise activity thermogenesis (NEAT) caused by high-fat diet. *Physiology & behavior*, 176, 139-148.
- [49] Babu, P. V. A., Liu, D., & Gilbert, E. R. (2013). Recent advances in understanding the anti-diabetic actions of dietary flavonoids. *The Journal of nutritional biochemistry*, 24(11), 1777-1789.
- [50] Halban, P. A. (1994). Proinsulin processing in the regulated and the constitutive secretory pathway. *Diabetologia*, 37(2), S65-S72.
- [51] Boland, B. B., Rhodes, C. J., & Grimsby, J. S. (2017). The dynamic plasticity of insulin production in β -cells. *Molecular metabolism*, 6(9), 958-973.
- [52] Seino, S., Shibasaki, T., & Minami, K. (2011). Dynamics of insulin secretion and the clinical implications for obesity and diabetes. *The Journal of clinical investigation*, 121(6), 2118-2125.
- [53] Islam, M. S. (2002). The ryanodine receptor calcium channel of β -cells: molecular regulation and physiological significance. *Diabetes*, 51(5), 1299-1309.

- [54] Cuiñas, A., García-Morales, V., Viña, D., Gil-Longo, J., & Campos-Toimil, M. (2016). Activation of PKA and Epac proteins by cyclic AMP depletes intracellular calcium stores and reduces calcium availability for vasoconstriction. *Life sciences*, *155*, 102-109.
- [55] Lustig, K. D., Shiau, A. K., Brake, A. J., & Julius, D. (1993). Expression cloning of an ATP receptor from mouse neuroblastoma cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *90*(11), 5113-5117.
- [56] Simon, J., Webb, T. E., King, B. F., Burnstock, G., & Barnard, E. A. (1995). Characterisation of a recombinant P2Y purinoceptor. *European Journal of Pharmacology: Molecular Pharmacology*, *291*(3), 281-289.
- [57] Valera, S., Hussy, N., Evans, R. J., Adami, N., North, R. A., Surprenant, A., & Buell, G. (1994). A new class of ligand-gated ion channel defined by P 2X receptor for extracellular ATP. *Nature*, *371*(6497), 516-519.
- [58] Blachier, F., & Malaisse, W. J. (1988). Effect of exogenous ATP upon inositol phosphate production, cationic fluxes and insulin release in pancreatic islet cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, *970*(2), 222-229.
- [59] Li, G. D., Milani, D., Dunne, M. J., Pralong, W. F., Theler, J. M., Petersen, O. H., & Wollheim, C. B. (1991). Extracellular ATP causes Ca²⁺ (+)-dependent and-independent insulin secretion in RINm5F cells. Phospholipase C mediates Ca²⁺ mobilization but not Ca²⁺ influx and membrane depolarization. *Journal of Biological Chemistry*, *266*(6), 3449-3457.
- [60] Christensen, A. A., & Gannon, M. (2019). The beta cell in type 2 diabetes. *Current diabetes reports*, *19*(9), 1-8.
- [61] Yamamoto, W. R., Bone, R. N., Sohn, P., Syed, F., Reissaus, C. A., Mosley, A. L., ... & Evans-Molina, C. (2019). Endoplasmic reticulum stress alters ryanodine receptor function in the murine pancreatic β cell. *Journal of Biological Chemistry*, *294*(1), 168-181.
- [62] Halban, P. A., Polonsky, K. S., Bowden, D. W., Hawkins, M. A., Ling, C., Mather, K. J., ... & Weir, G. C. (2014). β -cell failure in type 2 diabetes: postulated mechanisms and prospects for prevention and treatment. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *99*(6), 1983-1992.
- [63] Hoang Do, O., & Thorn, P. (2015). Insulin secretion from beta cells within intact islets: location matters. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, *42*(4), 406-414.
- [64] Liu, M., Weiss, M. A., Arunagiri, A., Yong, J., Rege, N., Sun, J., ... & Arvan, P. (2018). Biosynthesis, structure, and folding of the insulin precursor protein. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, *20*, 28-50.
- [65] Klein, F. (2009). *Relations entre le diabète sucré de type 2 et l'amyloïdose chez le chat: étude bibliographique* (Doctoral dissertation).
- [66] Reaven, G. M. (1988). Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, *37*(12), 1595-1607.
- [67] Kahn, S. E., Prigeon, R. L., McCulloch, D. K., Boyko, E. J., Bergman, R. N., Schwartz, M. W., ... & Palmer, J. P. (1993). Quantification of the relationship between insulin sensitivity and β -cell function in human subjects: evidence for a hyperbolic function. *Diabetes*, *42*(11), 1663-1672.
- [68] Yi, P., Park, J. S., & Melton, D. A. (2013). Retracted: betatrophin: a hormone that controls pancreatic β cell proliferation.

- [69] Fujikawa, T., Berglund, E. D., Patel, V. R., Ramadori, G., Vianna, C. R., Vong, L., ... & Coppari, R. (2013). Leptin engages a hypothalamic neurocircuitry to permit survival in the absence of insulin. *Cell metabolism*, 18(3), 431-444.
- [70] Stolarczyk, E., Vong, C. T., Perucha, E., Jackson, I., Cawthorne, M. A., Wargent, E. T., ... & Howard, J. K. (2013). Improved insulin sensitivity despite increased visceral adiposity in mice deficient for the immune cell transcription factor T-bet. *Cell metabolism*, 17(4), 520-533.
- [71] Girard, J. (2015). Mécanisme d'action des inhibiteurs du cotransporteur sodiumglucose de type 2 (SGLT2). *Médecine des maladies Métaboliques*, 9(1), S10-S16.
- [72] Monnier, L., & Colette, C. (2014). L'insulinothérapie dans le diabète de type 2. *Paris: Elsevier Masson*.
- [73] Wémeau, J. L. (2014). Métabolisme des lipides, Endocrinologie, Diabète, Métabolisme et Nutrition pour le Praticien.
- [74] Ralph H, Hruban MD, Robb E. (2005). The Pancreas. Chapter 19. In: Kuinar V, Collins T, Robbins SL. Pathologic basis of disease. 7e éd. Philadelphia: Elsevier Saunders; p. 939-954. ISBN 0-8089-2302-1.
- [75] McPhee, S. J., & Hammer, G. D. (2006). Pathophysiology of Disease: An introduction to Clinical Medicine. The MacGraw Hill Co.
- [76] Doumbia, A. K. (2019). Evaluation des risques cardiovasculaires chez les patients diabétiques type 2 au CSRef de la commune II.
- [77] Draznin, B. (2010). Mitogenic action of insulin: friend, foe or 'frenemy'?. *Diabetologia*, 53(2), 229-233.
- [78] Diabète, F. I. (2013). Atlas du Diabète de la FID (6e Ed. FID).
- [79] Wux, Garve, W. (2010).: insulin action Textbook of diabetes 4th
- [80] Kitamura, T., Kahn, C. R., & Accili, D. (2003). Insulin receptor knockout mice. *Annual review of physiology*, 65(1), 313-332.
- [81] Grimaldi, A., Simon, D., & Sachon, C. (2009). Réflexion sur l'éducation thérapeutique: l'expérience du diabète. *La presse médicale*, 38(12), 1774-1779.
- [82] Zhan, T., Rindtorff, N., & Boutros, M. (2017). Wnt signaling in cancer. *Oncogene*, 36(11), 1461-1473.
- [83] Duchartre, Y., Kim, Y. M., & Kahn, M. (2016). The Wnt signaling pathway in cancer. *Critical reviews in oncology/hematology*, 99, 141-149.
- [84] Polakis, P. (2012). Wnt signaling in cancer. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 4(5), a008052.
- [85] Tai, D., Wells, K., Arcaroli, J., Vanderbilt, C., Aisner, D. L., Messersmith, W. A., & Lieu, C. H. (2015). Targeting the WNT signaling pathway in cancer therapeutics. *The oncologist*, 20(10), 1189.
- [86] Nusse, R., & Varmus, H. E. (1982). Many tumors induced by the mouse mammary tumor virus contain a provirus integrated in the same region of the host genome. *Cell*, 31(1), 99-109.
- [87] Kinzler, K. W., Nilbert, M. C., Su, L. K., Vogelstein, B., Bryan, T. M., Levy, D. B., ... & Nakamura, Y. (1991). Identification of FAP locus genes from chromosome 5q21. *Science*, 253(5020), 661-665.

- [88] Wehrli, M., Dougan, S. T., Caldwell, K., O'Keefe, L., Schwartz, S., Vaizel-Ohayon, D., ... & DiNardo, S. (2001). correction: arrow encodes an LDL-receptor-related protein essential for Wingless signalling. *Nature*, *410*(6830), 847-847.
- [89] Pinson, K. I., Brennan, J., Monkley, S., Avery, B. J., & Skarnes, W. C. (2000). An LDL-receptor-related protein mediates Wnt signalling in mice. *Nature*, *407*(6803), 535-538.
- [90] Kohn, A. D., & Moon, R. T. (2005). Wnt and calcium signaling: β -catenin-independent pathways. *Cell calcium*, *38*(3-4), 439-446.
- [91] Jenny, A. (2010). Planar cell polarity signaling in the Drosophila eye. *Current topics in developmental biology*, *93*, 189-227.
- [92] Gordon, M. D., & Nusse, R. (2006). Wnt signaling: multiple pathways, multiple receptors, and multiple transcription factors. *Journal of Biological Chemistry*, *281*(32), 22429-22433.
- [93] Yi, F., Brubaker, P. L., & Jin, T. (2005). TCF-4 mediates cell type-specific regulation of proglucagon gene expression by β -catenin and glycogen synthase kinase-3 β . *Journal of Biological Chemistry*, *280*(2), 1457-1464.
- [94] Korinek, V., Barker, N., Moerer, P., van Donselaar, E., Huls, G., Peters, P. J., & Clevers, H. (1998). Depletion of epithelial stem-cell compartments in the small intestine of mice lacking Tcf-4. *Nature genetics*, *19*(4), 379-383.
- [95] Maiden, S. L., & Hardin, J. (2011). The secret life of α -catenin: moonlighting in morphogenesis. *Journal of Cell Biology*, *195*(4), 543-552.
- [96] Zeng, X., Tamai, K., Doble, B., Li, S., Huang, H., Habas, R., ... & He, X. (2005). A dual-kinase mechanism for Wnt co-receptor phosphorylation and activation. *Nature*, *438*(7069), 873-877.
- [97] Dierick, H., & Bejsovec, A. (1998). 5 cellular mechanisms of wingless/Wnt signal transduction. *Current topics in developmental biology*, *43*, 153-190.
- [98] Heiser, P. W., Lau, J., Taketo, M. M., Herrera, P. L., & Hebrok, M. (2006). Stabilization of β -catenin impacts pancreas growth.
- [99] Ni, Z., Anini, Y., Fang, X., Mills, G., Brubaker, P. L., & Jin, T. (2003). Transcriptional activation of the proglucagon gene by lithium and β -catenin in intestinal endocrine L cells. *Journal of Biological Chemistry*, *278*(2), 1380-1387.
- [100] Kolligs, F. T., Hu, G., Dang, C. V., & Fearon, E. R. (1999). Neoplastic transformation of RK3E by mutant β -catenin requires deregulation of Tcf/Lef transcription but not activation of c-myc expression. *Molecular and cellular biology*, *19*(8), 5696-5706.
- [101] Wang, S., Dong, Y., Zhang, Y., Wang, X., Xu, L., Yang, S., ... & Yu, J. (2015). DACT2 is a functional tumor suppressor through inhibiting Wnt/ β -catenin pathway and associated with poor survival in colon cancer. *Oncogene*, *34*(20), 2575-2585.
- [102] Danieau, G., Morice, S., R dini, F., Verrecchia, F., & Royer, B. L. (2019). New insights about the Wnt/ β -catenin signaling pathway in primary bone tumors and their microenvironment: a promising target to develop therapeutic strategies?. *International journal of molecular sciences*, *20*(15), 3751.
- [103] MacDonald, B. T., Tamai, K., & He, X. (2009). Wnt/ β -catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Developmental cell*, *17*(1), 9-26.

- [104] Cruciat, C. M., & Niehrs, C. (2013). Secreted and transmembrane wnt inhibitors and activators. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 5(3), a015081.
- [105] Gerich, J. E., Meyer, C., Woerle, H. J., & Stumvoll, M. (2001). Renal gluconeogenesis: its importance in human glucose homeostasis. *Diabetes care*, 24(2), 382-391.
- [106] Jemiolo, D., Garrett, R., Theg, S. M., & Grisham, C. (2002). *Principles of Biochemistry: With a Human Focus*. Brooks/Cole Publishing Company.
- [107] O'Brien, R. M., Lucas, P. C., Forest, C. D., Magnuson, M. A., & Granner, D. K. (1990). Identification of a sequence in the PEPCK gene that mediates a negative effect of insulin on transcription. *Science*, 249(4968), 533-537.
- [108] Wamelink, M. M. C., Struys, E. A., & Jakobs, C. A. J. M. (2008). The biochemistry, metabolism and inherited defects of the pentose phosphate pathway: a review. *Journal of Inherited Metabolic Disease: Official Journal of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism*, 31(6), 703-717.
- [109] Magnusson, I., Rothman, D. L., Katz, L. D., Shulman, R. G., & Shulman, G. I. (1992). Increased rate of gluconeogenesis in type II diabetes mellitus. A ¹³C nuclear magnetic resonance study. *The Journal of clinical investigation*, 90(4), 1323-1327.
- [110] Gastaldelli, A., Toschi, E., Pettiti, M., Frascerra, S., Quinones-Galvan, A., Sironi, A. M., ... & Ferrannini, E. (2001). Effect of physiological hyperinsulinemia on gluconeogenesis in nondiabetic subjects and in type 2 diabetic patients. *Diabetes*, 50(8), 1807-1812.
- [111] Petersen, K. F., Laurent, D., Rothman, D. L., Cline, G. W., & Shulman, G. I. (1998). Mechanism by which glucose and insulin inhibit net hepatic glycogenolysis in humans. *The Journal of clinical investigation*, 101(6), 1203-1209.
- [112] Edgerton, D. S., Lautz, M., Scott, M., Everett, C. A., Stettler, K. M., Neal, D. W., ... & Cherrington, A. D. (2006). Insulin's direct effects on the liver dominate the control of hepatic glucose production. *The Journal of clinical investigation*, 116(2), 521-527.
- [113] Williamson, J. R., Wright, P. H., Malaisse, W. J., & Ashmore, J. (1966). Control of gluconeogenesis by acetyl CoA in rats treated with glucagon and anti-insulin serum. *Biochemical and biophysical research communications*, 24(5), 765-770.
- [114] Girard, J. (2006). Insulin's effect on the liver: "direct or indirect?" continues to be the question. *The Journal of clinical investigation*, 116(2), 302-304.
- [115] Zhang, S. R., Thomou, T., Xu, S., Qiang, G., Liew, C. W., Kulkarni, R. N., & Unterman, T. G. Forkhead box protein O1 (FoxO1) regulates hepatic serine protease inhibitor B1 (serpinB1) expression in a cell non-autonomous fashion.
- [116] Mondon, C. E., & Mortimore, G. E. (1967). Effects of insulin on amino acid release and urea formation in perfused rat liver. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 212(1), 173-178.
- [117] Ravier, M. A., & Rutter, G. A. (2005). Glucose or insulin, but not zinc ions, inhibit glucagon secretion from mouse pancreatic α -cells. *Diabetes*, 54(6), 1789-1797.
- [118] Altarejos, J. Y., & Montminy, M. (2011). CREB and the CRTC co-activators: sensors for hormonal and metabolic signals. *Nature reviews Molecular cell biology*, 12(3), 141-151.
- [119] Sharabi, K., Tavares, C. D., Rines, A. K., & Puigserver, P. (2015). Molecular pathophysiology of hepatic glucose production. *Molecular aspects of medicine*, 46, 21-33.

- [120] Kawamori, D., Kurpad, A. J., Hu, J., Liew, C. W., Shih, J. L., Ford, E. L., ... & Kulkarni, R. N. (2009). Insulin signaling in α cells modulates glucagon secretion in vivo. *Cell metabolism*, 9(4), 350-361.
- [121] Lu, M., Wan, M., Leavens, K. F., Chu, Q., Monks, B. R., Fernandez, S., ... & Birnbaum, M. J. (2012). Insulin regulates liver metabolism in vivo in the absence of hepatic Akt and Foxo1. *Nature medicine*, 18(3), 388-395.
- [122] Titchenell, P. M., Chu, Q., Monks, B. R., & Birnbaum, M. J. (2015). Hepatic insulin signalling is dispensable for suppression of glucose output by insulin in vivo. *Nature communications*, 6(1), 1-9.
- [123] Hatting M, Tavares CDJ, Sharabi K, Rines AK, Puigserver P. Insulin regulation of gluconeogenesis. *Ann N Y Acad Sci*. 2018;1411(1):21-35. doi:10.1111/nyas.13435
- [124] Perry, R. J., Camporez, J. P. G., Kursawe, R., Titchenell, P. M., Zhang, D., Perry, C. J., ... & Shulman, G. I. (2015). Hepatic acetyl CoA links adipose tissue inflammation to hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. *Cell*, 160(4), 745-758.
- [125] GUILLAUSSEAU, P. J. (1994). Anomalies de l'insulinosécrétion et diabète de type 2: données récentes. *Diabète et métabolisme*, 20(3BIS), 325-329.
- [126] Mayfield, J. A. (1998). Diagnosis and classification of diabetes mellitus: new criteria. *American family physician*, 58(6), 1355.
- [127] Alberti, K. G. M. M., & Zimmet, P. Z. (1998). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. *Diabetic medicine*, 15(7), 539-553.
- [128] Bergsten, P. (2000). Pathophysiology of impaired pulsatile insulin release. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 16(3), 179-191.
- [129] Paolisso, G., Scheen, A. J., Giugliano, D., Sgambato, S., Albert, A., Varricchio, M., ... & Lefebvre, P. J. (1991). Pulsatile insulin delivery has greater metabolic effects than continuous hormone administration in man: importance of pulse frequency. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 72(3), 607-615.
- [130] Bratusch-Marrain, P. R., Komjati, M., & Waldhäusl, W. K. (1986). Efficacy of pulsatile versus continuous insulin administration on hepatic glucose production and glucose utilization in type I diabetic humans. *Diabetes*, 35(8), 922-926.
- [131] Trump, B. F., & Berezesky, I. K. (1995). Calcium-mediated cell injury and cell death. *The FASEB journal*, 9(2), 219-228.
- [132] Polonsky, K. S., Given, B. D., Hirsch, L. J., Tillil, H., Shapiro, E. T., Beebe, C., ... & Van Cauter, E. (1988). Abnormal patterns of insulin secretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*, 318(19), 1231-1239.
- [133] O'Rahilly, S., Turner, R. C., & Matthews, D. R. (1988). Impaired pulsatile secretion of insulin in relatives of patients with non-insulin-dependent diabetes. *New England Journal of Medicine*, 318(19), 1225-1230.
- [134] Cerasi, E., & Luft, R. (1967). The plasma insulin response to glucose infusion in healthy subjects and in diabetes mellitus. *European Journal of Endocrinology*, 55(2), 278-304.
- [135] Pfeifer, M. A., Halter, J. B., & Porte Jr, D. (1981). Insulin secretion in diabetes mellitus. *The American journal of medicine*, 70(3), 579-588.

- [136] BRUNZELL, J. D., ROBERTSON, R. P., LERNER, R. L., HAZZARD, W. R., ENSINCK, J. W., BIERMAN, E. L., & PORTE JR, D. A. N. I. E. L. (1976). Relationships between fasting plasma glucose levels and insulin secretion during intravenous glucose tolerance tests. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 42(2), 222-229.
- [137] Ratzmann, K. P., Schulz, B., Heinke, P., & Michaelis, D. (1981). Quantitative and qualitative changes in the early insulin response to glucose in subjects with impaired carbohydrate tolerance. *Diabetes Care*, 4(1), 85-91.
- [138] Eriksson, J., Franssila-Kallunki, A., Ekstrand, A., Saloranta, C., Widén, E., Schalin, C., & Groop, L. (1989). Early metabolic defects in persons at increased risk for non-insulin-dependent diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*, 321(6), 337-343.
- [139] Sobey, W. J., Beer, S. F., Carrington, C. A., Clark, P. M., Frank, B. H., Gray, I. P., ... & Hales, C. N. (1989). Sensitive and specific two-site immunoradiometric assays for human insulin, proinsulin, 65-66 split and 32-33 split proinsulins. *Biochemical Journal*, 260(2), 535-541.
- [140] Haffner, S. M., Mykkänen, L., Stern, M. P., Valdez, R. A., Heisserman, J. A., & Bowsher, R. R. (1993). Relationship of proinsulin and insulin to cardiovascular risk factors in nondiabetic subjects. *Diabetes*, 42(9), 1297-1302.
- [141] Davies, M. J., Metcalfe, J., Gray, I. P., Day, J. L., & Hales, C. N. (1993). Insulin deficiency rather than hyperinsulinaemia in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Diabetic medicine*, 10(4), 305-312.
- [142] TEMPLE, R. C., CLARK, P. M., NAGI, D. K., SCHNEIDER, A. E., YUDKIN, J. S., & HALES, C. N. (1990). Radioimmunoassay may overestimate insulin in non-insulin-dependent diabetics. *Clinical endocrinology*, 32(6), 689-693.
- [143] Wang, P. W., Abbasi, F., Carantoni, M., Chen, Y. D. I., Azhar, S., & Reaven, G. M. (1997). Insulin resistance does not change the ratio of proinsulin to insulin in normal volunteers. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 82(10), 3221-3224.
- [144] Kruszynska, Y. T., Harry, D. S., Mohamed-Ali, V., Home, P. D., Yudkin, J. S., & McIntyre, N. (1995). The contribution of proinsulin and des-31, 32 proinsulin to the hyperinsulinemia of diabetic and nondiabetic cirrhotic patients. *Metabolism*, 44(2), 254-260.
- [145] DEFRONZO, R. A. (1997). Pathogenesis of type 2 diabetes: metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. *Diabetes reviews*, 5, 177-266.
- [146] Elbein, S. C. (1998). An update on the genetic basis of type 2 diabetes. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 5(2), 116-125.
- [147] Kahn, C. R. (1994). Insulin action, diabetogenes, and the cause of type II diabetes. *Diabetes*, 43(8), 1066-1085.
- [148] Titchenell, P. M., Lazar, M. A., & Birnbaum, M. J. (2017). Unraveling the regulation of hepatic metabolism by insulin. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 28(7), 497-505.
- [149] Cherrington, A. D., Moore, M. C., Sindelar, D. K., & Edgerton, D. S. (2007). Insulin action on the liver in vivo. *Biochemical Society Transactions*, 35(5), 1171-1174.
- [150] Edgerton, D. S., Lautz, M., Scott, M., Everett, C. A., Stettler, K. M., Neal, D. W., ... & Cherrington, A. D. (2006). Insulin's direct effects on the liver dominate the control of hepatic glucose production. *The Journal of clinical investigation*, 116(2), 521-527.
- [151] Van Schaftingen, E., & Gerin, I. (2002). The glucose-6-phosphatase system. *Biochemical Journal*, 362(3), 513-532.

- [152] Montal, E. D., Dewi, R., Bhalla, K., Ou, L., Hwang, B. J., Ropell, A. E., ... & Girnun, G. D. (2015). PEPCK coordinates the regulation of central carbon metabolism to promote cancer cell growth. *Molecular cell*, 60(4), 571-583.
- [153] Leclercq, I. A., Morais, A. D. S., Schroyen, B., Van Hul, N., & Geerts, A. (2007). Insulin resistance in hepatocytes and sinusoidal liver cells: mechanisms and consequences. *Journal of hepatology*, 47(1), 142-156.
- [154] Wu, X., & Garvey, W. T. (2010). 7 Insulin Action.
- [155] Coelho, M., Oliveira, T., & Fernandes, R. (2013). Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. *Archives of medical science: AMS*, 9(2), 191.
- [156] Rosen, E. D., & Spiegelman, B. M. (2006). Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature*, 444(7121), 847-853.
- [157] Gastaldelli, A., Gaggini, M., & DeFronzo, R. A. (2017). Role of adipose tissue insulin resistance in the natural history of type 2 diabetes: results from the San Antonio Metabolism Study. *Diabetes*, 66(4), 815-822.
- [158] Czech, M. P. (2020). Mechanisms of insulin resistance related to white, beige, and brown adipocytes. *Molecular metabolism*, 34, 27-42.
- [159] Czech, M. P. (2017). Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature medicine*, 23(7), 804-814.
- [160] Scherer, P. E. (2019). The many secret lives of adipocytes: implications for diabetes. *Diabetologia*, 62(2), 223-232.
- [161] Roden, M., & Shulman, G. I. (2019). The integrative biology of type 2 diabetes. *Nature*, 576(7785), 51-60.
- [162] Maki, K. C., Kelley, K. M., Lawless, A. L., Hubacher, R. L., Schild, A. L., Dicklin, M. R., & Rains, T. M. (2011). Validation of insulin sensitivity and secretion indices derived from the liquid meal tolerance test. *Diabetes technology & therapeutics*, 13(6), 661-666.
- [163] Petersen, K. F., & Shulman, G. I. (2002). Pathogenesis of skeletal muscle insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *The American journal of cardiology*, 90(5), 11-18.
- [164] Petersen, K. F., & Shulman, G. I. (2002). Cellular mechanism of insulin resistance in skeletal muscle. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 95(Suppl 42), 8.
- [165] Satoh, T. (2014). Molecular mechanisms for the regulation of insulin-stimulated glucose uptake by small guanosine triphosphatases in skeletal muscle and adipocytes. *International journal of molecular sciences*, 15(10), 18677-18692.
- [166] DeFronzo, R. A. (1988). The triumvirate: β -cell, muscle, liver: a collusion responsible for NIDDM. *Diabetes*, 37(6), 667-687.
- [167] Abdul-Ghani, M. A., & DeFronzo, R. A. (2010). Pathogenesis of insulin resistance in skeletal muscle. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2010.
- [168] Venkatasamy, V. V., Pericherla, S., Manthuruthil, S., Mishra, S., & Hanno, R. (2013). Effect of physical activity on insulin resistance, inflammation and oxidative stress in diabetes mellitus. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 7(8), 1764.
- [169] Wu, H., & Ballantyne, C. M. (2017). Skeletal muscle inflammation and insulin resistance in obesity. *The Journal of clinical investigation*, 127(1), 43-54.

- [170] Riddle, M. C. (2011). Glycemic control and cardiovascular mortality. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 18(2), 104-109.
- [171] Martín-Timón, I., Sevillano-Collantes, C., Segura-Galindo, A., & del Cañizo-Gómez, F. J. (2014). Type 2 diabetes and cardiovascular disease: have all risk factors the same strength?. *World journal of diabetes*, 5(4), 444.
- [172] Polovina, M. M., & Potpara, T. S. (2014). Endothelial dysfunction in metabolic and vascular disorders. *Postgraduate medicine*, 126(2), 38-53.
- [173] Bentzon, J. F., Otsuka, F., Virmani, R., & Falk, E. (2014). Mechanisms of plaque formation and rupture. *Circulation research*, 114(12), 1852-1866.
- [174] Besler, C., Doerries, C., Giannotti, G., Lüscher, T. F., & Landmesser, U. (2008). Pharmacological approaches to improve endothelial repair mechanisms. *Expert review of cardiovascular therapy*, 6(8), 1071-1082.
- [175] Cheung, B. M., Ong, K. L., Cherny, S. S., Sham, P. C., Tso, A. W., & Lam, K. S. (2009). Diabetes prevalence and therapeutic target achievement in the United States, 1999 to 2006. *The American journal of medicine*, 122(5), 443-453.
- [176] Nathan, D. M., Buse, J. B., Davidson, M. B., Ferrannini, E., Holman, R. R., Sherwin, R., & Zinman, B. (2009). Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes care*, 32(1), 193-203.
- [177] Gilbertson, D. T., Liu, J., Xue, J. L., Louis, T. A., Solid, C. A., Ebben, J. P., & Collins, A. J. (2005). Projecting the number of patients with end-stage renal disease in the United States to the year 2015. *Journal of the American Society of Nephrology*, 16(12), 3736-3741.
- [178] Mogensen, C. E., Christensen, C. K., & Vittinghus, E. (1983). The stages in diabetic renal disease: with emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes*, 32(Supplement_2), 64-78.
- [179] UK Prospective Diabetes Study Group. (1998). Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. *Bmj*, 317(7160), 703-713.
- [180] UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. (1998). Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *The lancet*, 352(9131), 837-853.
- [181] UK Prospective Diabetes Study Group (UKPDS). Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 352: 837– 853, 1998.
- [182] Diabetes, C. (1993). Complications Trial Research G, Nathan DM, et al. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 329(14), 977-986.
- [183] Amico, J. A., & Klein, I. (1981). Diabetic management in patients with renal failure. *Diabetes Care*, 4(3), 430-434.
- [184] Taal, M. W., Chertow, G. M., Marsden, P. A., Skorecki, K., Alan, S. L., & Brenner, B. M. (2011). *Brenner and Rector's The Kidney E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- [185] Frank, R. N. (1991). On the pathogenesis of diabetic retinopathy: a 1990 update. *Ophthalmology*, 98(5), 586-593.

- [186] Hirai, F. E., Tielsch, J. M., Klein, B. E., & Klein, R. (2011). Ten-year change in vision-related quality of life in type 1 diabetes: Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. *Ophthalmology*, *118*(2), 353-358.
- [187] Bresnick, G. H., Engerman, R., Davis, M. D., De Venecia, G., & Myers, F. L. (1976). Patterns of ischemia in diabetic retinopathy. *Transactions. Section on Ophthalmology. American Academy of Ophthalmology and Otolaryngology*, *81*(4 Pt 1), OP694-OP709.
- [188] Abbott, C. A., Malik, R. A., Van Ross, E. R., Kulkarni, J., & Boulton, A. J. (2011). Prevalence and characteristics of painful diabetic neuropathy in a large community-based diabetic population in the UK. *Diabetes care*, *34*(10), 2220-2224.
- [189] Selvarajah, D., Wilkinson, I. D., Emery, C. J., Harris, N. D., Shaw, P. J., Witte, D. R., ... & Tesfaye, S. (2006). Early involvement of the spinal cord in diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes care*, *29*(12), 2664-2669.
- [190] Wessels, A. M., Rombouts, S. A., Simsek, S., Kuijjer, J. P., Kostense, P. J., Barkhof, F., ... & Heine, R. J. (2006). Microvascular disease in type 1 diabetes alters brain activation: a functional magnetic resonance imaging study. *Diabetes*, *55*(2), 334-340.
- [191] Biddinger, S. B., & Kahn, C. R. (2006). From mice to men: insights into the insulin resistance syndromes. *Annu. Rev. Physiol.*, *68*, 123-158.
- [192] Haffner, S. M., Lehto, S., Rönnemaa, T., Pyörälä, K., & Laakso, M. (1998). Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *New England journal of medicine*, *339*(4), 229-234.
- [193] Laing, S. P., Swerdlow, A. J., Slater, S. D., Burden, A. C., Morris, A., Waugh, N. R., ... & Patterson, C. C. (2003). Mortality from heart disease in a cohort of 23,000 patients with insulin-treated diabetes. *Diabetologia*, *46*(6), 760-765.
- [194] Domanski, M., Mitchell, G., Pfeffer, M., Neaton, J. D., Norman, J., Svendsen, K., ... & MRFIT Research Group. (2002). Pulse pressure and cardiovascular disease-related mortality: follow-up study of the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT). *Jama*, *287*(20), 2677-2683.
- [195] Groop, P. H., Thomas, M. C., Moran, J. L., Wadèn, J., Thorn, L. M., Mäkinen, V. P., ... & Forsblom, C. (2009). The presence and severity of chronic kidney disease predicts all-cause mortality in type 1 diabetes. *Diabetes*, *58*(7), 1651-1658.
- [196] Prince, C. T., Becker, D. J., Costacou, T., Miller, R. G., & Orchard, T. J. (2007). Changes in glycaemic control and risk of coronary artery disease in type 1 diabetes mellitus: findings from the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study (EDC). *Diabetologia*, *50*(11), 2280-2288.
- [197] Drury, P. L., Ting, R., Zannino, D., Ehnholm, C., Flack, J., Whiting, M., ... & Keech, A. (2011). Estimated glomerular filtration rate and albuminuria are independent predictors of cardiovascular events and death in type 2 diabetes mellitus: the Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes (FIELD) study. *Diabetologia*, *54*(1), 32-43.
- [198] Kitabchi, A. E., Umpierrez, G. E., Fisher, J. N., Murphy, M. B., & Stentz, F. B. (2008). Thirty years of personal experience in hyperglycemic crises: diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar state. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *93*(5), 1541-1552.
- [199] Yang, C., Li, H., Wang, Z., Zhang, W., Zhou, K., Meng, J., ... & Jiang, X. (2012). Glycated albumin is a potential diagnostic tool for diabetes mellitus. *Clinical medicine*, *12*(6), 568.

- [200] Keller, U., Szinnai, G., Bilz, S., & Berneis, K. (2003). Effects of changes in hydration on protein, glucose and lipid metabolism in man: impact on health. *European journal of clinical nutrition*, 57(2), S69-S74.
- [201] Hansen, T. K., & Møller, N. (2010). Acute metabolic complications of diabetes: diabetic ketoacidosis and hyperosmolar hyperglycemia. *Textbook of diabetes*, 546-552.
- [202] Moller, N., Foss, A. C. H., Gravholt, C. H., Mortensen, U. M., Poulsen, S. H., & Mogensen, C. E. (2005). Myocardial injury with biomarker elevation in diabetic ketoacidosis. *Journal of diabetes and its complications*, 19(6), 361-363.
- [203] Alvarado, F., & Crane, R. K. (1962). Phlorizin as a competitive inhibitor of the active transport of sugars by hamster small intestine, in vitro. *Biochimica et biophysica acta*, 56, 170-172.
- [204] Taranu, A. (2017). *Identification de biomarqueurs génétiques de réponse à la venlafaxine dans une cohorte de patients déprimés* (Doctoral dissertation, Université Paris Saclay (COmUE)).
- [205] Altshuler, D., Donnelly, P., & International HapMap Consortium. (2005). A haplotype map of the human genome. *Nature*, 437(7063), nature04226.
- [206] Sachidanandam, R., Weissman, D., Schmidt, S. C., Kakol, J. M., Stein, L. D., Marth, G., ... & Altshuler, D. (2001). A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature*, 409(6822), 928-934.
- [207] Levy, S., Sutton, G., Ng, P. C., Feuk, L., Halpern, A. L., Walenz, B. P., ... & Venter, J. C. (2007). The diploid genome sequence of an individual human. *PLoS biology*, 5(10), e254.
- [208] Hirschhorn, J. N., Lohmueller, K., Byrne, E., & Hirschhorn, K. (2002). A comprehensive review of genetic association studies. *Genetics in medicine*, 4(2), 45-61.
- [209] Luca, D., Ringquist, S., Klei, L., Lee, A. B., Gieger, C., Wichmann, H. E., ... & Trucco, M. (2008). On the use of general control samples for genome-wide association studies: genetic matching highlights causal variants. *The American Journal of Human Genetics*, 82(2), 453-463.
- [210] Stančáková, A., & Laakso, M. (2016). Genetics of type 2 diabetes. *Novelties in Diabetes*, 31, 203-220.
- [211] Horikawa, Y., Oda, N., Cox, N. J., Li, X., Orho-Melander, M., Hara, M., ... & Bell, G. I. (2000). Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus. *Nature genetics*, 26(2), 163-175.
- [212] Reynisdottir, I., Thorleifsson, G., Benediktsson, R., Sigurdsson, G., Emilsson, V., Einarsdottir, A. S., ... & Gulcher, J. R. (2003). Localization of a susceptibility gene for type 2 diabetes to chromosome 5q34–q35. 2. *The American Journal of Human Genetics*, 73(2), 323-335.
- [213] Altshuler, D., Hirschhorn, J. N., Klannemark, M., Lindgren, C. M., Vohl, M. C., Nemesh, J., ... & Lander, E. S. (2000). The common PPAR γ Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes. *Nature genetics*, 26(1), 76-80.
- [214] Gloyn, A. L., Pearson, E. R., Antcliff, J. F., Proks, P., Bruining, G. J., Slingerland, A. S., & Hattersley, A. T. (2004). Activating mutations in the gene encoding the ATP-sensitive potassium-channel subunit Kir6. 2 and permanent neonatal diabetes. *New England Journal of Medicine*, 350(18), 1838-1849.

- [215] Burwinkel, B., Shanmugam, K. S., Hemminki, K., Meindl, A., Schmutzler, R. K., Sutter, C., ... & Frank, B. (2006). Transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) variant is associated with familial breast cancer risk: a case-control study. *BMC cancer*, 6(1), 1-4.
- [216] Kim, M. S., Kim, S. S., Ahn, C. H., Yoo, N. J., & Lee, S. H. (2009). Frameshift mutations of Wnt pathway genes AXIN2 and TCF7L2 in gastric carcinomas with high microsatellite instability. *Human pathology*, 40(1), 58-64.
- [217] Grant, S. F., Thorleifsson, G., Reynisdottir, I., Benediktsson, R., Manolescu, A., Sainz, J., ... & Stefansson, K. (2006). Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. *Nature genetics*, 38(3), 320-323.
- [218] Chang, Y. C., Chang, T. J., Jiang, Y. D., Kuo, S. S., Lee, K. C., Chiu, K. C., & Chuang, L. M. (2007). Association study of the genetic polymorphisms of the transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene and type 2 diabetes in the Chinese population. *Diabetes*, 56(10), 2631-2637.
- [219] Ng, M. C., Tam, C. H., Lam, V. K., So, W. Y., Ma, R. C., & Chan, J. C. (2007). Replication and identification of novel variants at TCF7L2 associated with type 2 diabetes in Hong Kong Chinese. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 92(9), 3733-3737. <https://doi.org/10.1210/jc.2007-0849>
- [220] Nishita, M., Hashimoto, M. K., Ogata, S., Laurent, M. N., Ueno, N., Shibuya, H., & Cho, K. W. (2000). Interaction between Wnt and TGF- β signalling pathways during formation of Spemann's organizer. *Nature*, 403(6771), 781-785.
- [221] Jin, T., & Liu, L. (2008). Minireview: the Wnt signaling pathway effector TCF7L2 and type 2 diabetes mellitus. *Molecular endocrinology*, 22(11), 2383-2392.
- [222] Roose, J., & Clevers, H. (1999). TCF transcription factors: molecular switches in carcinogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 1424(2-3), M23-M37.
- [223] Saadeddin, A., Babaei-Jadidi, R., Spencer-Dene, B., & Nateri, A. S. (2009). The links between transcription, β -catenin/JNK signaling, and carcinogenesis. *Molecular cancer research*, 7(8), 1189-1196.
- [224] Reya, T., & Clevers, H. (2005). Wnt signalling in stem cells and cancer. *Nature*, 434(7035), 843-850.
- [225] Papadopoulou, S., & Edlund, H. (2005). Attenuated Wnt signaling perturbs pancreatic growth but not pancreatic function. *Diabetes*, 54(10), 2844-2851.
- [226] Rulifson, I. C., Karnik, S. K., Heiser, P. W., ten Berge, D., Chen, H., Gu, X., Taketo, M. M., Nusse, R., Hebrok, M., & Kim, S. K. (2007). Wnt signaling regulates pancreatic beta cell proliferation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(15), 6247-6252.
- [227] Wells, J. M., Esni, F., Boivin, G. P., Aronow, B. J., Stuart, W., Combs, C., ... & Lowy, A. M. (2007). Wnt/ β -catenin signaling is required for development of the exocrine pancreas. *BMC developmental biology*, 7(1), 1-18.
- [228] Heiser, P. W., Lau, J., Taketo, M. M., Herrera, P. L., & Hebrok, M. (2006). Stabilization of β -catenin impacts pancreas growth.
- [229] Shu, L., Sauter, N. S., Schulthess, F. T., Matveyenko, A. V., Oberholzer, J., & Maedler, K. (2008). Transcription factor 7-like 2 regulates β -cell survival and function in human pancreatic islets. *Diabetes*, 57(3), 645-653.

- [230] Shu, L., Sauter, N. S., Schulthess, F. T., Matveyenko, A. V., Oberholzer, J., & Maedler, K. (2008). Transcription factor 7-like 2 regulates β -cell survival and function in human pancreatic islets. *Diabetes*, *57*(3), 645-653.
- [231] da Silva Xavier, G., Loder, M. K., McDonald, A., Tarasov, A. I., Carzaniga, R., Kronenberger, K., ... & Rutter, G. A. (2009). TCF7L2 regulates late events in insulin secretion from pancreatic islet β -cells. *Diabetes*, *58*(4), 894-905.
- [232] Rorsman, P., & Renström, E. (2003). Insulin granule dynamics in pancreatic beta cells. *Diabetologia*, *46*(8), 1029-1045.
- [233] Tomas, A., Meda, P., Regazzi, R., Pessin, J. E., & Halban, P. A. (2008). Munc 18-1 and granophilin collaborate during insulin granule exocytosis. *Traffic*, *9*(5), 813-832.
- [234] Grant, S. F., Thorleifsson, G., Reynisdottir, I., Benediktsson, R., Manolescu, A., Sainz, J., ... & Stefansson, K. (2006). Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. *Nature genetics*, *38*(3), 320-323.
- [235] Damcott, C. M., Pollin, T. I., Reinhart, L. J., Ott, S. H., Shen, H., Silver, K. D., ... & Shuldiner, A. R. (2006). Polymorphisms in the transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene are associated with type 2 diabetes in the Amish: replication and evidence for a role in both insulin secretion and insulin resistance. *Diabetes*, *55*(9), 2654-2659.
- [236] Groves, C. J., Zeggini, E., Minton, J., Frayling, T. M., Weedon, M. N., Rayner, N. W., ... & McCarthy, M. I. (2006). Association analysis of 6,736 UK subjects provides replication and confirms TCF7L2 as a type 2 diabetes susceptibility gene with a substantial effect on individual risk. *Diabetes*, *55*(9), 2640-2644.
- [237] Zhang, C., Qi, L., Hunter, D. J., Meigs, J. B., Manson, J. E., van Dam, R. M., & Hu, F. B. (2006). Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene and the risk of type 2 diabetes in large cohorts of US women and men. *Diabetes*, *55*(9), 2645-2648.
- [238] Chandak, G. R., Janipalli, C. S., Bhaskar, S., Kulkarni, S. R., Mohankrishna, P., Hattersley, A. T., ... & Yajnik, C. S. (2007). Common variants in the TCF7L2 gene are strongly associated with type 2 diabetes mellitus in the Indian population. *Diabetologia*, *50*(1), 63-67.
- [239] Miyake, K., Horikawa, Y., Hara, K., Yasuda, K., Osawa, H., Furuta, H., ... & Kasuga, M. (2008). Association of TCF7L2 polymorphisms with susceptibility to type 2 diabetes in 4,087 Japanese subjects. *Journal of human genetics*, *53*(2), 174-180.
- [240] Ng, M. C., Tam, C. H., Lam, V. K., So, W. Y., Ma, R. C., & Chan, J. C. (2007). Replication and identification of novel variants at TCF7L2 associated with type 2 diabetes in Hong Kong Chinese. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *92*(9), 3733-3737.
- [241] Out, M., Becker, M. L., van Schaik, R. H., Lehert, P., Stehouwer, C. D., & Kooy, A. (2018). A gene variant near ATM affects the response to metformin and metformin plasma levels: a post hoc analysis of an RCT. *Pharmacogenomics*, *19*(8), 715-726.
- [242] Hediger, M. A., Romero, M. F., Peng, J. B., Rolfs, A., Takanaga, H., & Bruford, E. A. (2004). The ABCs of solute carriers: physiological, pathological and therapeutic implications of human membrane transport proteins. *Pflügers Archiv*, *447*(5), 465-468.
- [243] Klaassen, C. D., & Aleksunes, L. M. (2010). Xenobiotic, bile acid, and cholesterol transporters: function and regulation. *Pharmacological reviews*, *62*(1), 1-96.

- [244] Koepsell, H., Lips, K., & Volk, C. (2007). Polyspecific organic cation transporters: structure, function, physiological roles, and biopharmaceutical implications. *Pharmaceutical research*, 24(7), 1227-1251.
- [245] Wojtal, K. A., Eloranta, J. J., Hruz, P., Gutmann, H., Drewe, J., Staumann, A., ... & Vavricka, S. R. (2009). Changes in mRNA expression levels of solute carrier transporters in inflammatory bowel disease patients. *Drug Metabolism and Disposition*, 37(9), 1871-1877.
- [246] Hediger, M. A., Romero, M. F., Peng, J. B., Rolfs, A., Takanaga, H., & Bruford, E. A. (2004). The ABCs of solute carriers: physiological, pathological and therapeutic implications of human membrane transport proteins. *Pflügers Archiv*, 447(5), 465-468.
- [247] Meier, Y., Eloranta, J. J., Darimont, J., Ismail, M. G., Hiller, C., Fried, M., ... & Vavricka, S. R. (2007). Regional distribution of solute carrier mRNA expression along the human intestinal tract. *Drug metabolism and Disposition*, 35(4), 590-594.
- [248] Tzvetkov, M. V., Vormfelde, S. V., Balen, D., Meineke, I., Schmidt, T., Seht, D., ... & Brockmoeller, J. (2009). The effects of genetic polymorphisms in the organic cation transporters OCT1, OCT2, and OCT3 on the renal clearance of metformin. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 86(3), 299-306.
- [249] Koehler, M. R., Wissinger, B., Gorboulev, V., Koepsell, H., & Schmid, M. (1997). The two human organic cation transporter genes SLC22A1 and SLC22A2 are located on chromosome 6q26. *Cytogenetic and Genome Research*, 79(3-4), 198-200.
- [250] Jonker, J. W., & Schinkel, A. H. (2004). Pharmacological and physiological functions of the polyspecific organic cation transporters: OCT1, 2, and 3 (SLC22A1-3). *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 308(1), 2-9.
- [251] Komatsu, T., Hiasa, M., Miyaji, T., Kanamoto, T., Matsumoto, T., Otsuka, M., ... & Omote, H. (2011). Characterization of the human MATE2 proton-coupled polyspecific organic cation exporter. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 43(6), 913-918.
- [252] Damme, K., Nies, A. T., Schaeffeler, E., & Schwab, M. (2011). Mammalian MATE (SLC47A) transport proteins: impact on efflux of endogenous substrates and xenobiotics. *Drug metabolism reviews*, 43(4), 499-523.
- [253] Becker, M. L., Visser, L. E., Van Schaik, R. H., Hofman, A., Uitterlinden, A. G., & Stricker, B. H. C. (2009). Genetic variation in the multidrug and toxin extrusion 1 transporter protein influences the glucose-lowering effect of metformin in patients with diabetes: a preliminary study. *Diabetes*, 58(3), 745-749.
- [254] Morita, Y., Kodama, K., Shiota, S., Mine, T., Kataoka, A., Mizushima, T., & Tsuchiya, T. (1998). NorM, a putative multidrug efflux protein, of *Vibrio parahaemolyticus* and its homolog in *Escherichia coli*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 42(7), 1778-1782.
- [255] Otsuka, M., Matsumoto, T., Morimoto, R., Arioka, S., Omote, H., & Moriyama, Y. (2005). A human transporter protein that mediates the final excretion step for toxic organic cations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(50), 17923-17928.
- [256] Aleksunes, L. M., Cui, Y., & Klaassen, C. D. (2008). Prominent expression of xenobiotic efflux transporters in mouse extraembryonic fetal membranes compared with placenta. *Drug metabolism and disposition*, 36(9), 1960-1970.
- [257] Otsuka, M., Matsumoto, T., Morimoto, R., Arioka, S., Omote, H., & Moriyama, Y. (2005). A human transporter protein that mediates the final excretion step for toxic organic cations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(50), 17923-17928.

- [258] Kajiwara, M., Terada, T., Asaka, J. I., Ogasawara, K., Katsura, T., Ogawa, O., ... & Inui, K. I. (2007). Critical roles of Sp1 in gene expression of human and rat H⁺/organic cation antiporter MATE1. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 293(5), F1564-F1570.
- [259] Choi, J. H., Yee, S. W., Kim, M. J., Nguyen, L., Lee, J. H., Kang, J. O., ... & Giacomini, K. M. (2009). Identification and characterization of novel polymorphisms in the basal promoter of the human transporter, MATE1. *Pharmacogenetics and genomics*, 19(10), 770.
- [260] Choi, J. H., Yee, S. W., Ramirez, A. H., Morrissey, K. M., Jang, G. H., Joski, P. J., ... & Giacomini, K. M. (2011). A common 5'-UTR variant in MATE2-K is associated with poor response to metformin. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 90(5), 674-684.
- [261] Lu, H., Gonzalez, F. J., & Klaassen, C. (2010). Alterations in hepatic mRNA expression of phase II enzymes and xenobiotic transporters after targeted disruption of hepatocyte nuclear factor 4 alpha. *Toxicological Sciences*, 118(2), 380-390.
- [262] Astorga, B., Ekins, S., Morales, M., & Wright, S. H. (2012). Molecular determinants of ligand selectivity for the human multidrug and toxin extruder proteins MATE1 and MATE2-K. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 341(3), 743-755.
- [263] Wittwer, M. B., Zur, A. A., Khuri, N., Kido, Y., Kosaka, A., Zhang, X., ... & Giacomini, K. M. (2013). Discovery of potent, selective multidrug and toxin extrusion transporter 1 (MATE1, SLC47A1) inhibitors through prescription drug profiling and computational modeling. *Journal of medicinal chemistry*, 56(3), 781-795.
- [264] Ito, S., Kusuhara, H., Yokochi, M., Toyoshima, J., Inoue, K., Yuasa, H., & Sugiyama, Y. (2012). Competitive inhibition of the luminal efflux by multidrug and toxin extrusions, but not basolateral uptake by organic cation transporter 2, is the likely mechanism underlying the pharmacokinetic drug-drug interactions caused by cimetidine in the kidney. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 340(2), 393-403.
- [265] Otsuka, M., Matsumoto, T., Morimoto, R., Arioka, S., Omote, H., & Moriyama, Y. (2005). A human transporter protein that mediates the final excretion step for toxic organic cations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(50), 17923-17928.
- [266] Toyama, K., Yonezawa, A., Masuda, S., Osawa, R., Hosokawa, M., Fujimoto, S., ... & Katsura, T. (2012). Loss of multidrug and toxin extrusion 1 (MATE1) is associated with metformin-induced lactic acidosis. *British journal of pharmacology*, 166(3), 1183-1191.
- [267] Becker, M. L., Visser, L. E., Van Schaik, R. H., Hofman, A., Uitterlinden, A. G., & Stricker, B. H. C. (2009). Genetic variation in the multidrug and toxin extrusion 1 transporter protein influences the glucose-lowering effect of metformin in patients with diabetes: a preliminary study. *Diabetes*, 58(3), 745-749.
- [268] Mousavi, S., Kohan, L., Yavarian, M., & Habib, A. (2017). Pharmacogenetic variation of SLC47A1 gene and metformin response in type2 diabetes patients. *Molecular Biology Research Communications*, 6(2), 91.
- [269] HE, Y. Y., Zhang, R., SHAO, X. Y., Hu, C., WANG, C. R., LU, J. X., ... & XIANG, K. S. (2008). Association of KCNJ11 and ABCC8 genetic polymorphisms with response to repaglinide in Chinese diabetic patients 1. *Acta Pharmacologica Sinica*, 29(8), 983-989.
- [270] Tkáč, I., Klimčáková, L., Javorský, M., Fabianová, M., Schroner, Z., Hermanová, H., ... & Tkáčová, R. (2013). Pharmacogenomic association between a variant in SLC47A1 gene and therapeutic response to metformin in type 2 diabetes. *Diabetes, obesity and metabolism*, 15(2), 189-191.

- [271] Jablonski, K. A., McAteer, J. B., de Bakker, P. I., Franks, P. W., Pollin, T. I., Hanson, R. L., ... & Diabetes Prevention Program Research Group. (2010). Common variants in 40 genes assessed for diabetes incidence and response to metformin and lifestyle intervention in the diabetes prevention program. *Diabetes*, 59(10), 2672-2681.
- [272] Raj, G. M., Mathaiyan, J., Wyawahare, M., & Priyadarshini, R. (2018). Lack of effect of the SLC47A1 and SLC47A2 gene polymorphisms on the glycaemic response to metformin in type 2 diabetes mellitus patients. *Drug Metabolism and Personalized Therapy*, 33(4), 175-185.
- [273] Dujic, T., Zhou, K., Yee, S. W., van Leeuwen, N., de Keyser, C. E., Javorský, M., ... & Pearson, E. R. (2017). Variants in pharmacokinetic transporters and glycaemic response to metformin: a Metgen meta-analysis. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 101(6), 763-772.
- [274] Xiao, D., Guo, Y., Li, X., Yin, J. Y., Zheng, W., Qiu, X. W., ... & Liu, Z. Q. (2016). The impacts of SLC22A1 rs594709 and SLC47A1 rs2289669 polymorphisms on metformin therapeutic efficacy in Chinese type 2 diabetes patients. *International journal of endocrinology*, 2016.
- [275] HAS, Actualisation du référentiel de pratiques de l'examen périodique de santé Prévention et dépistage du diabète de type 2 et des maladies liées au diabète Octobre 2014
- [276] Hemmingsen, B., Lund, S. S., Gluud, C., Vaag, A., Almdal, T. P., Hemmingsen, C., & Wetterslev, J. (2013). Targeting intensive glycaemic control versus targeting conventional glycaemic control for type 2 diabetes mellitus. *The Cochrane database of systematic reviews*, (11), CD008143. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD008143.pub3>
- [277] Grenier-Larouche, T., Carreau, A. M., & Carpentier, A. C. (2017). Early Metabolic Improvement After Bariatric Surgery: The First Steps Toward Remission of Type 2 Diabetes. *Canadian journal of diabetes*, 41(4), 418-425. <https://doi.org/10.1016/j.jcjd.2016.10.013>
- [278] Guide du médecin (Mai 2008). ALD 8: Diabète de type 2. Haute Autorité de Santé (HAS)
- [279] Umpierre, D., Ribeiro, P. A. B., Schaan, B. D., & Ribeiro, J. P. (2013). Volume of supervised exercise training impacts glycaemic control in patients with type 2 diabetes: a systematic review with meta-regression analysis. *Diabetologia*, 56(2), 242-251.
- [280] Kodama, S., Tanaka, S., Heianza, Y., Fujihara, K., Horikawa, C., Shimano, H., ... & Sone, H. (2013). Association between physical activity and risk of all-cause mortality and cardiovascular disease in patients with diabetes: a meta-analysis. *Diabetes care*, 36(2), 471-479.
- [281] Thomas, D., Elliott, E. J., & Naughton, G. A. (2006). Exercise for type 2 diabetes mellitus. *Cochrane database of systematic reviews*, (3).
- [283] Traynard, P. Y., Bourdillon, F., Gagnayre, R., & Grimaldi, A. (2020). *Education thérapeutique: prévention et maladies chroniques*. Elsevier Health Sciences.
- [284] d'Accréditation, A. N. (2000). d'Evaluation en Santé: Stratégie de prise en charge du patient diabétique de type 2 à l'exclusion de la prise en charge des complications. *Paris: ANAES*.
- [285] Vallée JP. Manipulation des normes : surdiagnostic - surtraitement - déprescription (à propos du diabète de type 2). *Med* 2015;11(2):55.

- [288] Burcelin, R., Dolci, W., & Thorens, B. (2000). Portal glucose infusion in the mouse induces hypoglycemia : evidence that the hepatportal glucose sensor stimulates glucose utilization. *Diabetes*, 49(10), 1635-1642.
- [290] J.L. Ader ,F.Carré ,A.T.Dinh-Xuan, M.Duclos ,N.Kubis ,J.Mercier ,F.Mion, C.Préfaut,S.Roman Abregés de physiologie 2ème édition chap :physiologie endocrinienne. (Pancréas endocrine
- [291] DE MEYT, P. (2005). Le récepteur à l'insuline: Structure et fonction. *RMLG. Revue médicale de Liège*, 60(5-6), 286-290.
- [292] Heinemann, L., Linkeschova, R., Rave, K., Hompesch, B., Sedlak, M. A. R. T., & Heise, T. (2000). Time-action profile of the long-acting insulin analog insulin glargine (HOE901) in comparison with those of NPH insulin and placebo. *Diabetes care*, 23(5), 644-649.
- [293] Danne, T., Lupke, K. E. R. S. T. I. N., Walte, K., Von Schuetz, W., & Gall, M. A. (2003). Insulin detemir is characterized by a consistent pharmacokinetic profile across age-groups in children, adolescents, and adults with type 1 diabetes. *Diabetes care*, 26(11), 3087-3092.
- [294] Haute Autorité de santé, Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Recommandation de bonne pratique. Stratégie médicamenteuse du contrôle glycémique du diabète de type 2. Janvier 2013. www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2013-02/reco2clics__diabete_type_2.pdf
- [295] Institut national de la santé et de la recherche médicale. Diabète de type 2. Un trouble du métabolisme principalement lié au mode de vie. 13 février 2019. www.inserm.fr/information-ensante/dossiers-information/diabete-type-2
- [296] Baeshen, N. A., Baeshen, M. N., Sheikh, A., Bora, R. S., Ahmed, M. M. M., Ramadan, H. A., ... & Redwan, E. M. (2014). Cell factories for insulin production. *Microbial cell factories*, 13(1), 1-9.
- [297] Chance, R. E., & Frank, B. H. (1993). Research, development, production, and safety of biosynthetic human insulin. *Diabetes care*, 16(Supplement_3), 133-142.
- [298] Chance, R. E., Glazer, N. B., & Wishner, K. L. (1999). Insulin lispro (humalog) biopharmaceuticals, an industrial perspective. *Walsh GMurphy B (Eds). Springer*, 149-172.
- [299] Kjeldsen, T. (2000). Yeast secretory expression of insulin precursors. *Applied microbiology and biotechnology*, 54(3), 277-286.
- [300] Staub, J. M., Garcia, B., Graves, J., Hajdukiewicz, P. T., Hunter, P., Nehra, N., ... & Russell, D. A. (2000). High-yield production of a human therapeutic protein in tobacco chloroplasts. *Nature biotechnology*, 18(3), 333-338.
- [301] Nykiforuk, C. L., Boothe, J. G., Murray, E. W., Keon, R. G., Goren, H. J., Markley, N. A., & Moloney, M. M. (2006). Transgenic expression and recovery of biologically active recombinant human insulin from *Arabidopsis thaliana* seeds. *Plant Biotechnology Journal*, 4(1), 77-85.
- [302] Deckers, H., Moloney, M., & Baum, A. (1999). The case for recombinant production of pharmaceutical proteins in plants. In *Annual reports in medicinal chemistry* (Vol. 34, pp. 237-245). Academic Press.

- [303] Boyhan, D., & Daniell, H. (2011). Low-cost production of proinsulin in tobacco and lettuce chloroplasts for injectable or oral delivery of functional insulin and C-peptide. *Plant biotechnology journal*, 9(5), 585-598.
- [304] Shah, R. B., Patel, M., Maahs, D. M., & Shah, V. N. (2016). Insulin delivery methods: Past, present and future. *International journal of pharmaceutical investigation*, 6(1), 1.
- [305] Selam, J. L. (2010). Evolution of diabetes insulin delivery devices. *Journal of diabetes science and technology*, 4(3), 505-513.
- [306] Penfornis, A., Personeni, E., & Borot, S. (2011). Evolution of devices in diabetes management. *Diabetes technology & therapeutics*, 13(S1), S-93.
- [307] Ignaut, D. A., & Venekamp, W. J. (2007). HumaPen® Memoir™: a novel insulin-injecting pen with a dose-memory feature. *Expert review of medical devices*, 4(6), 793-802.
- [308] Sorli, C. (2014). New developments in insulin therapy for type 2 diabetes. *The American Journal of Medicine*, 127(10), S39-S48.
- [309] Heinemann, L. (2002). Alternative delivery routes: inhaled insulin. *Diabetes, nutrition & metabolism*, 15(6), 417-422.
- [310] Kanikkannan, N. (2002). Iontophoresis-based transdermal delivery systems. *BioDrugs*, 16(5), 339-347.
- [311] Zang, L., Hao, H., Liu, J., Li, Y., Han, W., & Mu, Y. (2017). Mesenchymal stem cell therapy in type 2 diabetes mellitus. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 9(1), 1-11.
- [312] Caplan, A. I., & Dennis, J. E. (2006). Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *Journal of cellular biochemistry*, 98(5), 1076-1084.
- [313] Guney, M. A., Lorberbaum, D. S., & Sussel, L. (2020). Pancreatic β cell regeneration: to β or not to β . *Current opinion in physiology*, 14, 13-20.
- [314] Moriscot, C., De Fraipont, F., Richard, M. J., Marchand, M., Savatier, P., Bosco, D., ... & Benhamou, P. Y. (2005). Human bone marrow mesenchymal stem cells can express insulin and key transcription factors of the endocrine pancreas developmental pathway upon genetic and/or microenvironmental manipulation in vitro. *Stem cells*, 23(4), 594-603.
- [315] Xie, Q. P., Huang, H., Xu, B., Dong, X., Gao, S. L., Zhang, B., & Wu, Y. L. (2009). Human bone marrow mesenchymal stem cells differentiate into insulin-producing cells upon microenvironmental manipulation in vitro. *Differentiation*, 77(5), 483-491.
- [316] Wu, L. F., Wang, N. N., Liu, Y. S., & Wei, X. (2009). Differentiation of Wharton's jelly primitive stromal cells into insulin-producing cells in comparison with bone marrow mesenchymal stem cells. *Tissue Engineering Part A*, 15(10), 2865-2873.
- [317] Caplan, A. I., & Dennis, J. E. (2006). Mesenchymal stem cells as trophic mediators. *Journal of cellular biochemistry*, 98(5), 1076-1084.
- [318] Lee, R. H., Seo, M. J., Reger, R. L., Spees, J. L., Pulin, A. A., Olson, S. D., & Prockop, D. J. (2006). Multipotent stromal cells from human marrow home to and promote repair of pancreatic islets and renal glomeruli in diabetic NOD/scid mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(46), 17438-17443.
- [319] Fonseca, V. (2003). Clinical significance of targeting postprandial and fasting hyperglycemia in managing type 2 diabetes mellitus. *Current medical research and opinion*, 19(7), 635-631.

- [320] Monami, M., Balzi, D., Lamanna, C., Barchielli, A., Masotti, G., Buiatti, E., ... & Mannucci, E. (2007). Are sulphonylureas all the same? A cohort study on cardiovascular and cancer-related mortality. *Diabetes/metabolism research and reviews*, 23(6), 479-484.
- [321] Jambon M, Chaptal J, Vedel A, Schaap J (1942). "Accidents hypoglycémiques graves par un sulfamidothiodiazole (le VK 57 ou 2254 RP)". Montpellier Méditerranée . 441 : 21–22.
- [322] Patlak, M. (2002). LETTERS TO THE EDITOR-Combating diabetes-Summary. *FASEB Journal-Federation of American Societies for Experimental Biology*, 16(14), 1853-1853.
- [323] Canine, C. (1997). *Dream reaper: the story of an old-fashioned inventor in the high-tech, high-stakes world of modern agriculture*. University of Chicago Press.
- [324] Ramracheya, R., Ward, C., Shigeto, M., Walker, J. N., Amisten, S., Zhang, Q., ... & Braun, M. (2010). Membrane potential-dependent inactivation of voltage-gated ion channels in α -cells inhibits glucagon secretion from human islets. *Diabetes*, 59(9), 2198-2208.
- [325] Braun, M., Ramracheya, R., Amisten, S., Bengtsson, M., Moritoh, Y., Zhang, Q., ... & Rorsman, P. (2009). Somatostatin release, electrical activity, membrane currents and exocytosis in human pancreatic delta cells. *Diabetologia*, 52(8), 1566-1578.
- [326] Rojas, J., Añez, R., Martínez, M. S., Chacín, M., Salazar, J., Calvo, M. J., ... & Bermúdez, V. (2016). A tale about perfect partners: New horizons in glimepiride and metformin Mechanisms of action. *Archivos venezolanos de farmacología y terapéutica*, 35(2), 53-66.
- [327] Stenman, S., Melander, A., Groop, P. H., & Groop, L. C. (1993). What is the benefit of increasing the sulfonylurea dose?. *Annals of internal medicine*, 118(3), 169-172.
- [328] Jönsson, A., Rydberg, T., Ekberg, G., Hallengren, B., & Melander, A. (1994). Slow elimination of glyburide in NIDDM subjects. *Diabetes care*, 17(2), 142-145.
- [329] Rydberg, T., Jönsson, A., Røder, M., & Melander, A. (1994). Hypoglycemic activity of glyburide (glibenclamide) metabolites in humans. *Diabetes care*, 17(9), 1026-1030.
- [330] Winkler, G., & Gerő, L. (2011). Pharmacogenetics of insulin secretagogue antidiabetics. *Orvosi Hetilap*, 152(41), 1651-1660.
- [331] Hermann, L. S., Scherstén, B., Bitzén, P. O., Kjellström, T., Lindgärde, F., & Melander, A. (1994). Therapeutic comparison of metformin and sulfonylurea, alone and in various combinations. A double-blind controlled study. *Diabetes care*, 17(10), 1100–1109.
- [332] Clark, H. E., & Matthews, D. R. (1996). The effect of glimepiride on pancreatic β -cell function under hyperglycaemic clamp and hyperinsulinaemic, euglycaemic clamp conditions in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Hormone and metabolic research*, 28(09), 445-450.
- [333] Tessier, D., Dawson, K., Tetrault, J. P., Bravo, G., & Meneilly, G. S. (1994). Glibenclamide vs gliclazide in type 2 diabetes of the elderly. *Diabetic medicine*, 11(10), 974-980.
- [334] Gangji, A. S., Cukierman, T., Gerstein, H. C., Goldsmith, C. H., & Clase, C. M. (2007). A systematic review and meta-analysis of hypoglycemia and cardiovascular events: a comparison of glyburide with other secretagogues and with insulin. *Diabetes care*, 30(2), 389-394.
- [335] Bressler, P., & DeFronzo, R. A. (1994). Drugs and diabetes. *Diabetes Reviews*, 2(1), 53-84.

- [336] Shorr, R. I., Ray, W. A., Daugherty, J. R., & Griffin, M. R. (1997). Incidence and risk factors for serious hypoglycemia in older persons using insulin or sulfonylureas. *Archives of internal medicine*, 157(15), 1681-1686.
- [337] Lang, V. Y., Fatehi, M., & Light, P. E. (2012). Pharmacogenomic analysis of ATP-sensitive potassium channels coexpressing the common type 2 diabetes risk variants E23K and S1369A. *Pharmacogenetics and genomics*, 22(3), 206-214.
- [338] Zhang, H., Liu, X., Kuang, H., Yi, R., & Xing, H. (2007). Association of sulfonylurea receptor 1 genotype with therapeutic response to gliclazide in type 2 diabetes. *Diabetes research and clinical practice*, 77(1), 58-61.
- [339] Li, Q., Chen, M., Zhang, R., Jiang, F., Wang, J., Zhou, J., ... & Jia, W. (2014). KCNJ 11 E23K variant is associated with the therapeutic effect of sulphonylureas in Chinese type 2 diabetic patients. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 41(10), 748-754.
- [340] Feng, Y., Mao, G., Ren, X., Xing, H., Tang, G., Li, Q., ... & Xu, X. (2008). Ser1369Ala variant in sulfonylurea receptor gene ABCC8 is associated with antidiabetic efficacy of gliclazide in Chinese type 2 diabetic patients. *Diabetes care*, 31(10), 1939-1944.
- [341] Gloyn, A. L., Hashim, Y., Ashcroft, S. J. H., Ashfield, R., Wiltshire, S., & Turner, R. C. (2001). Association studies of variants in promoter and coding regions of beta-cell ATP-sensitive K-channel genes SUR1 and Kir6. 2 with Type 2 diabetes mellitus (UKPDS 53). *Diabetic Medicine*, 18(3), 206-212.
- [342] Grant, S. F., Thorleifsson, G., Reynisdottir, I., Benediktsson, R., Manolescu, A., Sainz, J., ... & Stefansson, K. (2006). Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. *Nature genetics*, 38(3), 320-323.
- [343] Kirchheiner, J., Brockmöller, J., Meineke, I., Bauer, S., Rohde, W., Meisel, C., & Roots, I. (2002). Impact of CYP2C9 amino acid polymorphisms on glyburide kinetics and on the insulin and glucose response in healthy volunteers. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 71(4), 286-296.
- [344] Shon, J. H., Yoon, Y. R., Kim, K. A., Lim, Y. C., Lee, K. J., Park, J. Y., ... & Shin, J. G. (2002). Effects of CYP2C19 and CYP2C9 genetic polymorphisms on the disposition of and blood glucose lowering response to tolbutamide in humans. *Pharmacogenetics and Genomics*, 12(2), 111-119.
- [345] Wang, R., Chen, K., Wen, S. Y., Li, J., & Wang, S. Q. (2005). Pharmacokinetics of glimepiride and cytochrome P450 2C9 genetic polymorphisms. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 78(1), 90-92.
- [346] Wang, R., Chen, K., Wen, S. Y., Li, J., & Wang, S. Q. (2005). Pharmacokinetics of glimepiride and cytochrome P450 2C9 genetic polymorphisms. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 78(1), 90-92.
- [347] Becker, M. L., Visser, L. E., Trienekens, P. H., Hofman, A., Van Schaik, R. H. N., & Stricker, B. (2008). Cytochrome P450 2C9* 2 and* 3 polymorphisms and the dose and effect of sulfonylurea in type II diabetes mellitus. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 83(2), 288-292.
- [348] Basit, A., Riaz, M., & Fawwad, A. (2012). Glimepiride: evidence-based facts, trends, and observations. *Vascular health and risk management*, 8, 463.
- [349] Massi-Benedetti, M. (2003). Glimepiride in type 2 diabetes mellitus: a review of the worldwide therapeutic experience. *Clinical therapeutics*, 25(3), 799-816.

- [350] Sola, D., Rossi, L., Schianca, G. P. C., Maffioli, P., Bigliocca, M., Mella, R., ... & Derosa, G. (2015). Sulfonylureas and their use in clinical practice. *Archives of medical science: AMS*, 11(4), 840.
- [351] Arechavaleta, R., Seck, T., Chen, Y., Krobot, K. J., O'Neill, E. A., Duran, L., Kaufman, K. D., Williams-Herman, D., & Goldstein, B. J. (2011). Efficacy and safety of treatment with sitagliptin or glimepiride in patients with type 2 diabetes inadequately controlled on metformin monotherapy: a randomized, double-blind, non-inferiority trial. *Diabetes, obesity & metabolism*, 13(2), 160–168.
- [352] Jeon, H. J., & Oh, T. K. (2011). Comparison of vildagliptin-metformin and glimepiride-metformin treatments in type 2 diabetic patients. *Diabetes & metabolism journal*, 35(5), 529-535.
- [353] Srivastava, S., Saxena, G. N., Keshwani, P., & Gupta, R. (2012). Comparing the efficacy and safety profile of sitagliptin versus glimepiride in patients of type 2 diabetes mellitus inadequately controlled with metformin alone. *The Journal of the Association of Physicians of India*, 60, 27-30.
- [354] Gallwitz, B., Rosenstock, J., Rauch, T., Bhattacharya, S., Patel, S., von Eynatten, M., ... & Woerle, H. J. (2012). 2-year efficacy and safety of linagliptin compared with glimepiride in patients with type 2 diabetes inadequately controlled on metformin: a randomised, double-blind, non-inferiority trial. *The Lancet*, 380(9840), 475-483.
- [355] Dejager, S., & Grimaldi, A. (2008). Association gliptines et sulfamides hypoglycémiantes. *Médecine des maladies Métaboliques*, 2(6), 620-625.
- [356] Henquin, J. C. (1990). Established, unsuspected and novel pharmacological insulin secretagogues. *Bailey, CJ & Flatt, PR*, 93-106.
- [357] Dornhorst, A. (2001). Insulinotropic meglitinide analogues. *The Lancet*, 358(9294), 1709-1716.
- [358] Hu, S., Wang, S., & Dunning, B. E. (2001). Effectiveness of nateglinide on in vitro insulin secretion from rat pancreatic islets desensitized to sulfonylureas. *International journal of experimental diabetes research*, 2(1), 73-79.
- [359] Ladrière, L., Bjorkling, F., & Malaisse, W. J. (2000). Stimulation of insulin release in hereditarily diabetic rats by mixed molecules formed of nateglinide and a succinic acid ester. *International Journal of Molecular Medicine*, 5(1), 63-68.
- [360] Hatorp, V. (2002). Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of repaglinide. *Clinical pharmacokinetics*, 41(7), 471-483.
- [361] Thummel K.E., & Shen D.D., & Isoherranen N (2017). Design and optimization of dosage regimens: pharmacokinetic data. Brunton L.L., & Hilal-Dandan R, & Knollmann B.C.(Eds.), *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 13e. McGraw Hill
- [362] Weaver, M. L., Orwig, B. A., Rodriguez, L. C., Graham, E. D., Chin, J. A., Shapiro, M. J., ... & Mangold, J. B. (2001). Pharmacokinetics and metabolism of nateglinide in humans. *Drug metabolism and disposition*, 29(4), 415-421.
- [363] Niemi, M., Leathart, J. B., Neuvonen, M., Backman, J. T., Daly, A. K., & Neuvonen, P. J. (2003). Polymorphism in CYP2C8 is associated with reduced plasma concentrations of repaglinide. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 74(4), 380-387.

- [364] Kirchheiner, J., Meineke, I., Müller, G., Bauer, S., Rohde, W., Meisel, C., Roots, I., & Brockmüller, J. (2004). Influence of CYP2C9 and CYP2D6 polymorphisms on the pharmacokinetics of nateglinide in genotyped healthy volunteers. *Clinical pharmacokinetics*, 43(4), 267–278.
- [365] Niemi, M., Backman, J. T., Kajosaari, L. I., Leathart, J. B., Neuvonen, M., Daly, A. K., ... & Neuvonen, P. J. (2005). Polymorphic organic anion transporting polypeptide 1B1 is a major determinant of repaglinide pharmacokinetics. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 77(6), 468-478.
- [366] Holstein, A., & Beil, W. (2009). Oral antidiabetic drug metabolism: pharmacogenomics and drug interactions. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 5(3), 225-241.
- [367] Foretz, M., & Viollet, B. (2009). Mécanisme d'action hépatique de la metformine dans le diabète de type 2. *Médecine des maladies Métaboliques*, 3(1), 48-54.
- [368] Faure, S. (2017). La metformine, antidiabétique de référence. *Actualités Pharmaceutiques*, 56(571), 1-5.
- [369] Tielmans A., Laloi-Michelin M., Coupaye M., Virally M., Meas T., Guillausseau P-J. (2007) Traitement médicamenteux du diabète de type 2 (première partie), La Presse Médicale, Elsevier Masson, Volume 36, Issue 2, Partie 2, , Pages 269-278.
- [370] Gavril, L. C., DUCA, F., GAVRIL, L., & COTÎRLEĂ, A. (2016). Acidose lactique et metformine. *Archives of the Balkan Medical Union vol*, 51(3), 406-409.
- [371] Bauduceau, B., Bordier, L., Bringer, J., Chabrier, G., Charbonnel, B., Cosson, E., ... & Scheen, A. (2019). Prise de position de la Société Francophone du Diabète (SFD): évaluation du rapport bénéfices-risques des inhibiteurs de SGLT2. *Médecine des Maladies Métaboliques*, 13(2), 195-209.
- [372] DeFronzo, R. A., Goodman, A. M., & Multicenter Metformin Study Group. (1995). Efficacy of metformin in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*, 333(9), 541-549.
- [373] Nathan, D. M., Buse, J. B., Davidson, M. B., Ferrannini, E., Holman, R. R., Sherwin, R., & Zinman, B. (2009). Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes care*, 32(1), 193-203.
- [374] Zolk, O. (2012). Disposition of metformin: variability due to polymorphisms of organic cation transporters. *Annals of medicine*, 44(2), 119-129.
- [375] Bailey, C. J., & Turner, R. C. (1996). Metformin. *New England Journal of Medicine*, 334(9), 574-579.
- [376] Kahn, S. E., Haffner, S. M., Heise, M. A., Herman, W. H., Holman, R. R., Jones, N. P., ... & Viberti, G. (2006). Glycemic durability of rosiglitazone, metformin, or glyburide monotherapy. *New England Journal of Medicine*, 355(23), 2427-2443.
- [377] Pearson, E. R., Donnelly, L. A., Kimber, C., Whitley, A., Doney, A. S., McCarthy, M. I., ... & Palmer, C. N. (2007). Variation in TCF7L2 influences therapeutic response to sulfonylureas: a GoDARTs study. *Diabetes*, 56(8), 2178-2182.
- [378] Hardie, D. G. (2007). AMP-activated protein kinase as a drug target. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 47, 185-210.

- [379] Graham, G. G., Punt, J., Arora, M., Day, R. O., Doogue, M. P., Duong, J. K., Furlong, T. J., Greenfield, J. R., Greenup, L. C., Kirkpatrick, C. M., Ray, J. E., Timmins, P., & Williams, K. M. (2011). Clinical pharmacokinetics of metformin. *Clinical pharmacokinetics*, 50(2), 81–98.
- [380] Green, J., & Feinglos, M. (2008). New combination treatments in the management of diabetes: focus on sitagliptin–metformin. *Vascular health and Risk management*, 4(4), 743.
- [381] [Zhou, M., Xia, L., & Wang, J. (2007). Metformin transport by a newly cloned proton-stimulated organic cation transporter (plasma membrane monoamine transporter) expressed in human intestine. *Drug Metabolism and Disposition*, 35(10), 1956-1962.
- [382] Müller, J., Lips, K. S., Metzner, L., Neubert, R. H., Koepsell, H., & Brandsch, M. (2005). Drug specificity and intestinal membrane localization of human organic cation transporters (OCT). *Biochemical pharmacology*, 70(12), 1851-1860.
- [383] Takane, H., Shikata, E., Otsubo, K., Higuchi, S., & Ieiri, I. (2008). Polymorphism in human organic cation transporters and metformin action.
- [384] Nies, A. T., Koepsell, H., Winter, S., Burk, O., Klein, K., Kerb, R., ... & Schaeffeler, E. (2009). Expression of organic cation transporters OCT1 (SLC22A1) and OCT3 (SLC22A3) is affected by genetic factors and cholestasis in human liver. *Hepatology*, 50(4), 1227-1240.
- [385] Shu, Y., Sheardown, S. A., Brown, C., Owen, R. P., Zhang, S., Castro, R. A., ... & Giacomini, K. M. (2007). Effect of genetic variation in the organic cation transporter 1 (OCT1) on metformin action. *The Journal of clinical investigation*, 117(5), 1422-1431.
- [386] Tsuda, M., Terada, T., Ueba, M., Sato, T., Masuda, S., Katsura, T., & Inui, K. I. (2009). Involvement of human multidrug and toxin extrusion 1 in the drug interaction between cimetidine and metformin in renal epithelial cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 329(1), 185-191.
- [387] Tanihara, Y., Masuda, S., Sato, T., Katsura, T., Ogawa, O., & Inui, K. I. (2007). Substrate specificity of MATE1 and MATE2-K, human multidrug and toxin extrusions/H⁺-organic cation antiporters. *Biochemical pharmacology*, 74(2), 359-371.
- [388] Otsuka, M., Matsumoto, T., Morimoto, R., Arioka, S., Omote, H., & Moriyama, Y. (2005). A human transporter protein that mediates the final excretion step for toxic organic cations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(50), 17923-17928.
- [389] Ito, S., Kusuhara, H., Kuroiwa, Y., Wu, C., Moriyama, Y., Inoue, K., ... & Sugiyama, Y. (2010). Potent and specific inhibition of mMate1-mediated efflux of type I organic cations in the liver and kidney by pyrimethamine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 333(1), 341-350.
- [390] Standl E. (2017). Metformin in type 1 diabetes. *The lancet. Diabetes & endocrinology*, 5(8), 567–569.
- [391] Lalau, J. D., Lacroix, C., Compagnon, P., Cagny, B. D., Rigaud, J. P., Bleichner, G., ... & Fournier, A. (1995). Role of metformin accumulation in metformin-associated lactic acidosis. *Diabetes care*, 18(6), 779-784.
- [392] Fourier, F., & Seidowsky, A. (2010). Intoxication par la metformine: mécanismes de toxicité et prise en charge. *Réanimation*, 19(6), 539-544.
- [393] Choi, J. H., Yee, S. W., Ramirez, A. H., Morrissey, K. M., Jang, G. H., Joski, P. J., ... & Giacomini, K. M. (2011). A common 5'-UTR variant in MATE2-K is associated with poor response to metformin. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 90(5), 674-684.

- [394] Liang, X., Chien, H. C., Yee, S. W., Giacomini, M. M., Chen, E. C., Piao, M., ... & Giacomini, K. M. (2015). Metformin is a substrate and inhibitor of the human thiamine transporter, THTR-2 (SLC19A3). *Molecular pharmaceuticals*, 12(12), 4301-4310.
- [395] Zhou, K., Bellenguez, C., Spencer, C. C., Bennett, A. J., Coleman, R. L., Tavendale, R., ... & Wellcome Trust Case Control Consortium 2. (2011). Common variants near ATM are associated with glycemic response to metformin in type 2 diabetes. *Nature genetics*, 43(2), 117.
- [396] Rotroff, D. M., Yee, S. W., Zhou, K., Marvel, S. W., Shah, H. S., Jack, J. R., ... & ACCORD/ACCORDion Investigators. (2018). Genetic variants in CPA6 and PRPF31 are associated with variation in response to metformin in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes*, 67(7), 1428-1440.
- [397] Florez, J. C., Jablonski, K. A., Taylor, A., Mather, K., Horton, E., White, N. H., ... & Diabetes Prevention Program Research Group. (2012). The C allele of ATM rs11212617 does not associate with metformin response in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes care*, 35(9), 1864-1867.
- [398] van Leeuwen, N., Nijpels, G., Becker, M. L., Deshmukh, H., Zhou, K., Stricker, B. H., Uitterlinden, A. G., Hofman, A., van 't Riet, E., Palmer, C. N., Guigas, B., Slagboom, P. E., Durrington, P., Calle, R. A., Neil, A., Hitman, G., Livingstone, S. J., Colhoun, H., Holman, R. R., McCarthy, M. I., ... Pearson, E. R. (2012). A gene variant near ATM is significantly associated with metformin treatment response in type 2 diabetes: a replication and meta-analysis of five cohorts. *Diabetologia*, 55(7), 1971-1977.
- [399] Nathan, D. M., Buse, J. B., Davidson, M. B., Ferrannini, E., Holman, R. R., Sherwin, R., Zinman, B., American Diabetes Association, & European Association for Study of Diabetes (2009). Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes care*, 32(1), 193-203.
- [400] Fujiwara, T., Yoshioka, S., Yoshioka, T., Ushiyama, I., & Horikoshi, H. (1988). Characterization of new oral antidiabetic agent CS-045: studies in KK and ob/ob mice and Zucker fatty rats. *Diabetes*, 37(11), 1549-1558.
- [401] Olefsky, J. M. (2000). Treatment of insulin resistance with peroxisome proliferator-activated receptor γ agonists. *The Journal of clinical investigation*, 106(4), 467-472.
- [402] Kraegen, E. W., James, D. E., Jenkins, A. B., Chisholm, D. J., & Storlien, L. H. (1989). A potent in vivo effect of ciglitazone on muscle insulin resistance induced by high fat feeding of rats. *Metabolism*, 38(11), 1089-1093.
- [403] Miles, P. D., Higo, K., Romeo, O. M., Lee, M. K., Razaat, K., & Olefsky, J. M. (1998). Troglitazone prevents hyperglycemia-induced but not glucosamine-induced insulin resistance. *Diabetes*, 47(3), 395-400.
- [404] Iwamoto, Y., Kuzuya, T., Matsuda, A., Awata, T., Kumakura, S., Inooka, G., & Shiraishi, I. (1991). Effect of new oral antidiabetic agent CS-045 on glucose tolerance and insulin secretion in patients with NIDDM. *Diabetes Care*, 14(11), 1083-1086.
- [405] Suter, S. L., Nolan, J. J., Wallace, P., Gumbiner, B., & Olefsky, J. M. (1992). Metabolic effects of new oral hypoglycemic agent CS-045 in NIDDM subjects. *Diabetes care*, 15(2), 193-203.

- [406] Chehade, J. M., & Mooradian, A. D. (2000). A rational approach to drug therapy of type 2 diabetes mellitus. *Drugs*, 60(1), 95-113.
- [407] Mudaliar, S., & Henry, R. R. (2001). New oral therapies for type 2 diabetes mellitus: the glitazones or insulin sensitizers. *Annual review of medicine*, 52(1), 239-257.
- [408] Yau, H., Rivera, K., Lomonaco, R., & Cusi, K. (2013). The future of thiazolidinedione therapy in the management of type 2 diabetes mellitus. *Current diabetes reports*, 13(3), 329-341.
- [409] Musso, G., Cassader, M., Paschetta, E., & Gambino, R. (2017). Thiazolidinediones and advanced liver fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis: a meta-analysis. *JAMA internal medicine*, 177(5), 633-640.
- [410] He, L., Liu, X., Wang, L., & Yang, Z. (2016). Thiazolidinediones for nonalcoholic steatohepatitis: A meta-analysis of randomized clinical trials. *Medicine*, 95(42).
- [411] Juurlink, D. N., Gomes, T., Lipscombe, L. L., Austin, P. C., Hux, J. E., & Mamdani, M. M. (2009). Adverse cardiovascular events during treatment with pioglitazone and rosiglitazone: population based cohort study. *Bmj*, 339.
- [412] Scheen, A. J. (2001). Hepatotoxicity with thiazolidinediones. *Drug Safety*, 24(12), 873-888.
- [413] Dormandy, J., Bhattacharya, M., & de Bruyn, A. R. V. T. (2009). Safety and tolerability of pioglitazone in high-risk patients with type 2 diabetes. *Drug safety*, 32(3), 187-202.
- [414] Froment, P., & Touraine, P. (2006). Thiazolidinediones and fertility in polycystic ovary syndrome (PCOS). *PPAR research*, 2006.
- [415] Yau, H., Rivera, K., Lomonaco, R., & Cusi, K. (2013). The future of thiazolidinedione therapy in the management of type 2 diabetes mellitus. *Current diabetes reports*, 13(3), 329-341.
- [416] Ali, A. A., Weinstein, R. S., Stewart, S. A., Parfitt, A. M., Manolagas, S. C., & Jilka, R. L. (2005). Rosiglitazone causes bone loss in mice by suppressing osteoblast differentiation and bone formation. *Endocrinology*, 146(3), 1226-1235.
- [417] Dormuth, C. R., Carney, G., Carleton, B., Bassett, K., & Wright, J. M. (2009). Thiazolidinediones and fractures in men and women. *Archives of internal medicine*, 169(15), 1395-1402.
- [418] Bilik, D., McEwen, L. N., Brown, M. B., Pomeroy, N. E., Kim, C., Asao, K., ... & Herman, W. H. (2010). Thiazolidinediones and fractures: evidence from translating research into action for diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 95(10), 4560-4565.
- [419] Meier, C., Kraenzlin, M. E., Bodmer, M., Jick, S. S., Jick, H., & Meier, C. R. (2008). Use of thiazolidinediones and fracture risk. *Archives of internal medicine*, 168(8), 820-825.
- [420] Yau, H., Rivera, K., Lomonaco, R., & Cusi, K. (2013). The future of thiazolidinedione therapy in the management of type 2 diabetes mellitus. *Current diabetes reports*, 13(3), 329-341.
- [421] Yamanouchi, T. (2010). Concomitant therapy with pioglitazone and insulin for the treatment of type 2 diabetes. *Vascular health and risk management*, 6, 189.
- [422] DeFronzo, R. A. (1981). The effect of insulin on renal sodium metabolism. *Diabetologia*, 21(3), 165-171.

- [423] Juurlink, D. N., Gomes, T., Lipscombe, L. L., Austin, P. C., Hux, J. E., & Mamdani, M. M. (2009). Adverse cardiovascular events during treatment with pioglitazone and rosiglitazone: population based cohort study. *Bmj*, 339.
- [424] Dawed, A. Y., Donnelly, L., Tavendale, R., Carr, F., Leese, G., Palmer, C. N., ... & Zhou, K. (2016). CYP2C8 and SLCO1B1 variants and therapeutic response to thiazolidinediones in patients with type 2 diabetes. *Diabetes care*, 39(11), 1902-1908.
- [425] Hsieh, M. C., Lin, K. D., Tien, K. J., Tu, S. T., Hsiao, J. Y., Chang, S. J., Lin, S. R., Shing, S. J., & Chen, H. C. (2010). Common polymorphisms of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (Pro12Ala) and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 (Gly482Ser) and the response to pioglitazone in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism: clinical and experimental*, 59(8), 1139–1144. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2009.10.030>
- [426] Pei, Q., Huang, Q., Yang, G. P., Zhao, Y. C., Yin, J. Y., Song, M., Zheng, Y., Mo, Z. H., Zhou, H. H., & Liu, Z. Q. (2013). PPAR- γ 2 and PTPRD gene polymorphisms influence type 2 diabetes patients' response to pioglitazone in China. *Acta pharmacologica Sinica*, 34(2), 255–261. <https://doi.org/10.1038/aps.2012.144>
- [427] Kang, E. S., Park, S. Y., Kim, H. J., Kim, C. S., Ahn, C. W., Cha, B. S., ... & Lee, H. C. (2005). Effects of Pro12Ala polymorphism of peroxisome proliferator-activated receptor γ 2 gene on rosiglitazone response in type 2 diabetes. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 78(2), 202-208.
- [428] Braillard, O., & dos Santos Bragança, A. (2017). Prise en charge thérapeutique du diabète de type 2. *Genève: HUG. Repéré à https://www.hug.ch/sites/interhug/files/structures/medecine_de_premier_recours/Strategies/strategie_diabete_t2_pec.pdf*.
- [429] Malunga, L. N., & Eck, P. (2016). Inhibition of intestinal α -glucosidase and glucose absorption by feruloylated arabinoxylan mono-and oligosaccharides from corn bran and wheat aleurone. *Journal of nutrition and metabolism*, 2016.
- [430] Krempf, M., Gourdy, P., & Ferrières, J. (2018). Évaluation nationale des pratiques de prise en charge thérapeutique des patients atteints de diabète de type 2 (EVADIA). *Médecine des Maladies Métaboliques*, 12(5), 447-452.
- [431] Andrulionyte, L., Kuulasmaa, T., Chiasson, J. L., Laakso, M., & STOP-NIDDM Study Group. (2007). Single Nucleotide Polymorphisms of the Peroxisome Proliferator-Activated
- [432] Zacharova, J., Todorova, B. R., CHIASSON, J. L., Laakso, M., & STOP-NIDDM STUDY GROUP. (2005). The G-250A substitution in the promoter region of the hepatic lipase gene is associated with the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes: the STOP-NIDDM trial. *Journal of internal medicine*, 257(2), 185-193.
- [433] Andrulionytė, L., Laukkanen, O., Chiasson, J. L., & Laakso, M. (2006). Single nucleotide polymorphisms of the HNF4 α gene are associated with the conversion to type 2 diabetes mellitus: the STOP-NIDDM trial. *Journal of molecular medicine*, 84(8), 701-708.
- [434] Andrulionytė, L., Zacharova, J., Chiasson, J. L., Laakso, M., & STOP-NIDDM Study Group (2004). Common polymorphisms of the PPAR-gamma2 (Pro12Ala) and PGC-1alpha (Gly482Ser) genes are associated with the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes in the STOP-NIDDM trial. *Diabetologia*, 47(12), 2176–2184.
- [435] Matteucci, E., & Giampietro, O. (2009). Dipeptidyl peptidase-4 (CD26): knowing the function before inhibiting the enzyme. *Current medicinal chemistry*, 16(23), 2943-2951.

- [436] Scheen, A., & Van Gaal, L. F. (2008). Le médicament du mois. Sitagliptine (Januvia): incretinopotentiateur indique comme insulinosécrétagogue dans le traitement du diabète de type 2. *Revue Médicale de Liège*, 63(2), 105-9.
- [437] Scheen, A., & Paquot, N. (2009). Le médicament du mois. Vildagliptine (Galvus) et combinaison fixe vildagliptine-metformine (Eucreas) dans le traitement du diabète de type 2. *Revue Médicale de Liège*, 64(3), 161-7.
- [438] Scheen, A., Radermecker, R., Philips, J. C., & Paquot, N. (2007). Les incretinomimétiques et incretinopotentiateurs dans le traitement du diabète de type 2. *Revue médicale suisse*, 3(122), 1884-1886.
- [439] Scheen, A. J., & Radermecker, R. P. (2010). Addition of incretin therapy to metformin in type 2 diabetes. *The Lancet*, 375(9724), 1410-1412.
- [440] Scheen, A. J. (2010). Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of sitagliptin plus metformin. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 6(10), 1265-1276.
- [441] Scheen, A., & Van Gaal, L. F. (2008). Le médicament du mois. Exenatide (Byetta). Incretinomimétique indique dans le traitement du diabète de type 2 après échec et en complément des antidiabétiques oraux. *Revue Médicale de Liège*, 63(3), 158-65.
- [442] Scheen, A., & Van Gaal, L. F. (2010). Le médicament du mois. Liraglutide (Victoza): analogue du glucagon-like-peptide-1 humain en une injection par jour pour le traitement du diabète de type 2. *Revue Médicale de Liège*, 65(7-8), 464-70.
- [443] Dhillon, S., & Weber, J. (2009). Saxagliptin. *Drugs*, 69(15), 2103-2114.
- [444] Borja-Hart, N. L., & Whalen, K. L. (2010). Saxagliptin: a new dipeptidyl peptidase 4 inhibitor for type 2 diabetes. *Annals of Pharmacotherapy*, 44(6), 1046-1053.
- [445] Scheen, A. J. (2010). Pharmacokinetics of dipeptidylpeptidase-4 inhibitors. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 12(8), 648-658.
- [446] 't Hart, L. M., Fritsche, A., Nijpels, G., van Leeuwen, N., Donnelly, L. A., Dekker, J. M., ... & Diamant, M. (2013). The CTRB1/2 locus affects diabetes susceptibility and treatment via the incretin pathway. *Diabetes*, 62(9), 3275-3281.
- [447] De Nobel, E., & Van't Laar, A. (1978). The size of the loading dose as an important determinant of the results of the oral glucose tolerance test: a study in subjects with slightly impaired glucose tolerance. *Diabetes*, 27(1), 42-48.
- [448] Elrick, H., Stimmler, L., Hlad Jr, C. J., & Arai, Y. (1964). Plasma insulin response to oral and intravenous glucose administration. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 24(10), 1076-1082.
- [449] McIntyre, N., Holdsworth, C. D., & Turner, D. F. (1964). New interpretation of oral glucose tolerance. *The Lancet*, 284(7349), 20-21.
- [450] Müller, T. D., Finan, B., Bloom, S. R., D'Alessio, D., Drucker, D. J., Flatt, P. R., ... & Tschöp, M. H. (2019). Glucagon-like peptide 1 (GLP-1). *Molecular metabolism*, 30, 72-130.
- [451] Granhall, C., Donsmark, M., Blicher, T. M., Golor, G., Søndergaard, F. L., Thomsen, M., & Bækdal, T. A. (2019). Safety and pharmacokinetics of single and multiple ascending doses of the novel oral human GLP-1 analogue, oral semaglutide, in healthy subjects and subjects with type 2 diabetes. *Clinical pharmacokinetics*, 58(6), 781-791.

- [452] Alani, A. W., & Robinson, J. R. (2008). Mechanistic understanding of oral drug absorption enhancement of cromolyn sodium by an amino acid derivative. *Pharmaceutical research*, 25(1), 48-54.
- [453] Kim, W., & Egan, J. M. (2008). The role of incretins in glucose homeostasis and diabetes treatment. *Pharmacological reviews*, 60(4), 470-512.
- [454] Vetter, M. L., Amaro, A., & Volger, S. (2014). Nutritional management of type 2 diabetes mellitus and obesity and pharmacologic therapies to facilitate weight loss. *Postgraduate medicine*, 126(1), 139-152.
- [455] Virally, M., Kevorkian, J. P., & Guillausseau, P. J. (2008). Incrétines, incréto mimétiques et inhibiteurs de la DPP-4: homéostasie glucidique et diabète de type 2. *Sang Thrombose Vaisseaux*, 20(9), 453-461.
- [456] Doyle, M. E., Theodorakis, M. J., Holloway, H. W., Bernier, M., Greig, N. H., & Egan, J. M. (2003). The importance of the nine-amino acid C-terminal sequence of exendin-4 for binding to the GLP-1 receptor and for biological activity. *Regulatory peptides*, 114(2-3), 153-158.
- [457] Doyle, M. E., Greig, N. H., Holloway, H. W., Betkey, J. A., Bernier, M., & Egan, J. M. (2001). Insertion of an N-terminal 6-amino hexanoic acid after the 7 amino acid position of agent. *Endocrinology*, 142(10), 4462-4468.
- [458] Moon, M. J., Kim, H. Y., Park, S., Kim, D. K., Cho, E. B., Park, C. R., ... & Seong, J. Y. (2012). Evolutionarily conserved residues at glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor core confer ligand-induced receptor activation. *Journal of Biological Chemistry*, 287(6), 3873-3884.
- [460] Neumiller, J. J., White, J. R., & Campbell, R. K. (2010). Sodium-glucose co-transport inhibitors. *Drugs*, 70(4), 377-385.
- [461] Hansen, M. B., Jensen, M. L., & Carstensen, B. (2012). Causes of death among diabetic patients in Denmark. *Diabetologia*, 55(2), 294-302.
- [463] Scheen, A. J. (2015). Pharmacodynamics, efficacy and safety of sodium-glucose co-transporter type 2 (SGLT2) inhibitors for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Drugs*, 75(1), 33-59.
- [464] Fujita, Y., & Inagaki, N. (2014). Renal sodium glucose cotransporter 2 inhibitors as a novel therapeutic approach to treatment of type 2 diabetes: clinical data and mechanism of action. *Journal of diabetes investigation*, 5(3), 265-275.
- [465] Vallon, V., & Thomson, S. C. (2017). Targeting renal glucose reabsorption to treat hyperglycaemia: the pleiotropic effects of SGLT2 inhibition. *Diabetologia*, 60(2), 215-225.
- [466] Gallo, L. A., Wright, E. M., & Vallon, V. (2015). Probing SGLT2 as a therapeutic target for diabetes: basic physiology and consequences. *Diabetes and Vascular Disease Research*, 12(2), 78-89.
- [468] Malecki M. T. (2005). Genetics of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes research and clinical practice*, 68 Suppl1, S10-S21.
- [469] Assmann, T. S., Duarte, G. C., Rheinheimer, J., Cruz, L. A., Canani, L. H., & Crispim, D. (2014). The TCF7L2 rs7903146 (C/T) polymorphism is associated with risk to type 2 diabetes mellitus in Southern-Brazil.

- [470] Grant, S. F., Thorleifsson, G., Reynisdottir, I., Benediktsson, R., Manolescu, A., Sainz, J., ... & Stefansson, K. (2006). Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. *Nature genetics*, 38(3), 320-323.
- [471] Luo, Y., Wang, H., Han, X., Ren, Q., Wang, F., Zhang, X., ... & Ji, L. (2009). Meta-analysis of the association between SNPs in TCF7L2 and type 2 diabetes in East Asian population. *Diabetes research and clinical practice*, 85(2), 139-146.
- [472] van Vliet-Ostaptchouk, J. V., Shiri-Sverdlov, R., Zhernakova, A., Strengman, E., Van Haeften, T. W., Hofker, M. H., & Wijmenga, C. (2007). Association of variants of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) with susceptibility to type 2 diabetes in the Dutch Breda cohort. *Diabetologia*, 50(1), 59-62.
- [473] Cauchi, S., Meyre, D., Dina, C., Choquet, H., Samson, C., Gallina, S., ... & Froguel, P. (2006). Transcription factor TCF7L2 genetic study in the French population: expression in human β -cells and adipose tissue and strong association with type 2 diabetes. *Diabetes*, 55(10), 2903-2908.
- [474] Groves, C. J., Zeggini, E., Minton, J., Frayling, T. M., Weedon, M. N., Rayner, N. W., ... & McCarthy, M. I. (2006). Association analysis of 6,736 UK subjects provides replication and confirms TCF7L2 as a type 2 diabetes susceptibility gene with a substantial effect on individual risk. *Diabetes*, 55(9), 2640-2644.
- [475] Marzi, C., Huth, C., Kolz, M., Grallert, H., Meisinger, C., Wichmann, H. E., ... & Illig, T. (2007). Variants of the transcription factor 7-like 2 gene (TCF7L2) are strongly associated with type 2 diabetes but not with the metabolic syndrome in the MONICA/KORA surveys. *Hormone and metabolic research*, 39(01), 46-52.
- [476] Saxena, R., Gianniny, L., Burt, N. P., Lyssenko, V., Giuducci, C., Sjogren, M., ... & Altshuler, D. (2006). Common single nucleotide polymorphisms in TCF7L2 are reproducibly associated with type 2 diabetes and reduce the insulin response to glucose in nondiabetic individuals. *Diabetes*, 55(10), 2890-2895.
- [477] Zhang, C., Qi, L., Hunter, D. J., Meigs, J. B., Manson, J. E., van Dam, R. M., & Hu, F. B. (2006). Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene and the risk of type 2 diabetes in large cohorts of US women and men. *Diabetes*, 55(9), 2645-2648.
- [478] Horikoshi, M., Hara, K., Ito, C., Nagai, R., Froguel, P., & Kadowaki, T. (2007). A genetic variation of the transcription factor 7-like 2 gene is associated with risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetologia*, 50(4), 747-751.
- [479] Humphries, S. E., Gable, D., Cooper, J. A., Ireland, H., Stephens, J. W., Hurel, S. J., ... & Talmud, P. J. (2006). Common variants in the TCF7L2 gene and predisposition to type 2 diabetes in UK European Whites, Indian Asians and Afro-Caribbean men and women. *Journal of Molecular Medicine*, 84(12), 1005-1014.
- [480] Tong, Y., Lin, Y., Zhang, Y., Yang, J., Zhang, Y., Liu, H., & Zhang, B. (2009). Association between TCF7L2 gene polymorphisms and susceptibility to type 2 diabetes mellitus: a large Human Genome Epidemiology (HuGE) review and meta-analysis. *BMC medical genetics*, 10(1), 1-25.
- [481] Peng, S., Zhu, Y., Lü, B., Xu, F., Li, X., & Lai, M. (2013). TCF7L2 gene polymorphisms and type 2 diabetes risk: a comprehensive and updated meta-analysis involving 121 174 subjects. *Mutagenesis*, 28(1), 25-37.

- [482] Verma, S., Srivastava, N., & Banerjee, M. (2016). PS 04-25 associations of tcf7l2 and ppar γ gene variants with type 2 diabetes mellitus in north indian population. *Journal of Hypertension*, 34, e139-e140.
- [483] Guewo-Fokeng, M., Sobngwi, E., Atogho-Tiedeu, B., Donfack, O. S., Noubiap, J. J. N., Ngwa, E. N., ... & Mbanya, J. C. (2015). Contribution of the TCF7L2 rs7903146 (C/T) gene polymorphism to the susceptibility to type 2 diabetes mellitus in Cameroon. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 14(1), 1-5.
- [484] Barros, C. M., Araujo-Neto, A. P., Lopes, T. R., Barros, M. A., Motta, F. J., Canalle, R., ... & Pinto, G. R. (2014). Association of the rs7903146 and rs12255372 polymorphisms in the TCF7L2 gene with type 2 diabetes in a population from northeastern Brazil. *Genet Mol Res*, 13(3), 7889-98.
- [485] Turki, A., Al-Zaben, G. S., Mtiraoui, N., Marmmuoch, H., Mahjoub, T., & Almawi, W. Y. (2013). Transcription factor-7-like 2 gene variants are strongly associated with type 2 diabetes in Tunisian Arab subjects. *Gene*, 513(2), 244-248.
- [486] Alsmadi, O., Al-Rubeaan, K., Mohamed, G., Alkayal, F., Al-Saud, H., Al-Saud, N. A., ... & Meyer, B. F. (2008). Weak or no association of TCF7L2 variants with Type 2 diabetes risk in an Arab population. *BMC medical genetics*, 9(1), 1-7.
- [487] Saadi, H., Nagelkerke, N., Carruthers, S. G., Benedict, S., Abdulkhalek, S., Reed, R., ... & Nicholls, M. G. (2008). Association of TCF7L2 polymorphism with diabetes mellitus, metabolic syndrome, and markers of beta cell function and insulin resistance in a population-based sample of Emirati subjects. *Diabetes research and clinical practice*, 80(3), 392-398.
- [488] Shokouhi, S., Delpisheh, A., Haghani, K., Mahdizadeh, M., & Bakhtiyari, S. (2014). Association of rs7903146, rs12255372, and rs290487 polymorphisms in TCF7L2 gene with type 2 diabetes in an Iranian Kurdish ethnic group. *Clin Lab*, 60(8), 1269-76.
- [489] Delgado-Lista, J., Perez-Martinez, P., Garcia-Rios, A., Phillips, C. M., Williams, C. M., Gulseth, H. L., ... & Lopez-Miranda, J. (2011). Pleiotropic effects of TCF7L2 gene variants and its modulation in the metabolic syndrome: from the LIPGENE study. *Atherosclerosis*, 214(1), 110-116.
- [490] Weedon, M. N. (2007). The importance of TCF7L2. *Diabetic Medicine*, 24(10), 1062-1066.
- [491] Sladek, R., Rocheleau, G., Rung, J., Dina, C., Shen, L., Serre, D., ... & Froguel, P. (2007). A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature*, 445(7130), 881-885.
- [492] Hirst, J. A., Farmer, A. J., Ali, R., Roberts, N. W., & Stevens, R. J. (2012). Quantifying the effect of metformin treatment and dose on glycemic control. *Diabetes care*, 35(2), 446-454.
- [493] Hibma, J. E., Zur, A. A., Castro, R. A., Wittwer, M. B., Keizer, R. J., Yee, S. W., ... & Giacomini, K. M. (2016). The effect of famotidine, a MATE1-selective inhibitor, on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of metformin. *Clinical pharmacokinetics*, 55(6), 711-721.
- [494] Tsuda, M., Terada, T., Mizuno, T., Katsura, T., Shimakura, J., & Inui, K. I. (2009). Targeted disruption of the multidrug and toxin extrusion 1 (mate1) gene in mice reduces renal secretion of metformin. *Molecular pharmacology*, 75(6), 1280-1286.

- [495] Buyse, S., Paugam-Burtz, C., Stocco, J., & Durand, F. (2007). Adaptation des thérapeutiques médicamenteuses en cas d'insuffisance hépatocellulaire. *Réanimation*, 16(7-8), 576-586.
- [496] Choi, J. H., Yee, S. W., Ramirez, A. H., Morrissey, K. M., Jang, G. H., Joski, P. J., Mefford, J. A., Hesselton, S. E., Schlessinger, A., Jenkins, G., Castro, R. A., Johns, S. J., Stryke, D., Sali, A., Ferrin, T. E., Witte, J. S., Kwok, P. Y., Roden, D. M., Wilke, R. A., McCarty, C. A., ... Giacomini, K. M. (2011). A common 5'-UTR variant in MATE2-K is associated with poor response to metformin. *Clinical pharmacology and therapeutics*, 90(5), 674–684.
- [497] Xiao, D., Guo, Y., Li, X., Yin, J. Y., Zheng, W., Qiu, X. W., ... & Liu, Z. Q. (2016). The impacts of SLC22A1 rs594709 and SLC47A1 rs2289669 polymorphisms on metformin therapeutic efficacy in Chinese type 2 diabetes patients. *International journal of endocrinology*, 2016.
- [499] Kalamajski, S., Huang, M., Dalla-Riva, J., Keller, M., Dawed, A. Y., Hansson, O., ... & MetGen Plus Consortium. (2021). Genomic editing of metformin efficacy-associated genetic variants in SLC47A1 does not alter SLC47A1 expression. *Human Molecular Genetics*.
- [500] Maruthur, N. M., Gribble, M. O., Bennett, W. L., Bolen, S., Wilson, L. M., Balakrishnan, P., ... & Clark, J. M. (2014). The pharmacogenetics of type 2 diabetes: a systematic review. *Diabetes Care*, 37(3), 876-886.
- [501] Watanabe, R. M. (2011). Drugs, diabetes and pharmacogenomics: the road to personalized therapy. *Pharmacogenomics*, 12(5), 699-701.
- [502] Vella, A. (2009). Pharmacogenetics for type 2 diabetes: practical considerations for study design.

Webographie :

- [2] <https://fnh.ma/article/actualite-culturelle/diabete-l-approvisionnement-en-medicaments-coute-a-l-etat-plus-de-140-mdh-annuellement> Consulté le 21 Decembre 2021
- [282] <http://www.chups.jussieu.fr/polys/diabeto/POLY.Chp.14.3.html> Consulté le 3 Mars 2020
- [286] Agence Nationale de l'Assurance Maladie. Validation et Approbations de protocoles thérapeutiques, [Communiqué de presse 190, 23 Juin 2015]. :http://www.anam.ma/anam.php?id_espace=9&id_actualite=190. Consulté le 16 Fév 2016.
- [287] Agence Nationale de l'Assurance Maladie. Lancement de la campagne de diffusion des recommandations de bonnes pratiques médicales, [Communiqué de presse 139, 26 Avr 2012]. :http://www.anam.ma/anam.php?id_espace=9&id_actualite=139. Consulté le 16 Fév 2016.
- [289]. Molécule d'insuline humaine. [Docteurlic, Dictionnaire médical] consulté en août 2015. Disponible sur

http://www.google.fr/imgres?imgurl=http%3A%2F%2Fwww.docteurlic.com%2Fgaleriepho%2Fimage_3097.jpg&imgrefurl=http%3A%2F%2Fwww.docteurlic.com%2Fgaleriepho%2Fimage_3097.jpg Consulté le 15 Février 2022

[459] <https://www.rfcrpv.fr/les-gliflozines-une-nouvelle-classe-dantidiabetique-oral/>:
Consulté le 20 février 2022


[462] <https://www.vidal.fr/medicaments/forxiga-10-mg-cp-pellic-123958.html#indications:>
Consulté le 20 février 2022

[467] Manuel du kit QIAamp DSP DNA Blood Mini 06/2012 :

[498] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs8065082?horizontal_tab=true#frequency_tab:
Consulté le 11 Janvier 2022

ANNEXES

Annexe 1

	COMITÉ D'ETHIQUE POUR LA RECHERCHE BIOMÉDICALE UNIVERSITÉ MOHAMMED V – RABAT FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE RABAT FACULTÉ DE MÉDECINE DENTAIRE DE RABAT														
KTIOUET Jamal Eddine Président Psychologie Médicale ABDALLAOUI Faiza Recherche Médecine Dentaire ABOUQAL Redouane Recherche Médecine BIHI El Habib Droit CHERKAOUI Mustapha Paramédical CHERRAH Yahia Sciences Pharmaceutiques DADSI BOUTALEB Fatima Société Civile BELKBIR Mohamed Religion HAMEUR Charki Recherche Médecine HAJJAJ – HASSOUNI Najia Recherche Médecine HARMOUCHE Hicham Recherche Médecine M'RABET Mustapha Santé Publique RIDA Sana Recherche Médecine Dentaire SLIMANI Seif El Islam Société Civile TAMOULO Abdessamad Philosophie ZEGGWAGH Amine Ali Recherche Médecine Secrétariat Administratif GUEDIRA Khaoula Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat ☎ + 212 537 77 35 60 quedirak@yahoo.fr	<p>Faculté de Médecine et de Pharmacie - Rabat Départ N°: 186 Date: 01 MARS 2018</p> <p>Rabat, le 22/02/2018</p> <p>Professeur Rachid JAUDI Faculté de Médecine et de Pharmacie Rabat</p> <p>N/R : Dossier n° 60/17 Reçu le : 22/02/2018</p> <p>Dans sa séance du 22/02/2018 le Comité d'Ethique pour la Recherche Biomédicale de Rabat a examiné le complément d'information du projet de recherche de l'étude intitulé ci après :</p> <p>TITRE ET REFERENCES</p> <ul style="list-style-type: none">• Titre : « la pharmacogénétique des antidiabétiques oraux : Cas des patients de l'HIMMV.» <p>DELIBERATIONS ET AVIS</p> <p>Ont participé à la délibération :</p> <table><tr><td>• KTIOUET Jamal Eddine</td><td>Président & Psychologie Médicale</td></tr><tr><td>• ABDALLAOUI Faiza</td><td>Recherche Médecine Dentaire</td></tr><tr><td>• ABOUQAL Redouane</td><td>Recherche Médecine</td></tr><tr><td>• BELEKBIR Mohamed</td><td>Religion</td></tr><tr><td>• M'RABET Mustapha</td><td>Santé Publique</td></tr><tr><td>• Sana RIDA</td><td>Recherche Médecine Dentaire</td></tr><tr><td>• SLIMANI Seif El Islam</td><td>Société Civile</td></tr></table> <p>DOCUMENTS EXAMINES</p> <ul style="list-style-type: none">- autorisation du responsable administratif- Formulaire d'information de patient	• KTIOUET Jamal Eddine	Président & Psychologie Médicale	• ABDALLAOUI Faiza	Recherche Médecine Dentaire	• ABOUQAL Redouane	Recherche Médecine	• BELEKBIR Mohamed	Religion	• M'RABET Mustapha	Santé Publique	• Sana RIDA	Recherche Médecine Dentaire	• SLIMANI Seif El Islam	Société Civile
• KTIOUET Jamal Eddine	Président & Psychologie Médicale														
• ABDALLAOUI Faiza	Recherche Médecine Dentaire														
• ABOUQAL Redouane	Recherche Médecine														
• BELEKBIR Mohamed	Religion														
• M'RABET Mustapha	Santé Publique														
• Sana RIDA	Recherche Médecine Dentaire														
• SLIMANI Seif El Islam	Société Civile														

الموافقة من اجل المشاركة بعينة دم

الموضوع :دراسة لجينات مضادات السكري من نوع 2 عن طريق الفم

انا الموقع اسفله الحامل للبطاقة الوطنية
رقم , و بعد اطلاعي على بطاقة المعلومات المتعلقة بالبحث المذكور
اعلاه، الذي يشرف عليه المستشفى العسكري محمد الخامس بالرباط، و إمامي بمضمونه و
فوائده الهادفة أوافق، عن وعي، على مساهمتي في هذا البحث بالمشاركة بعينة من الدم
قدرها 4مل من أجل إخضاعها للفحوصات المبينة في بطاقة المعلومات المرافقة

شرط أن تستعمل المعلومات الخاصة بي بطريقة سرية، وأن يخول لي حق الإطلاع عليها
لدى المسؤولين بالبحث.

إمضاء المسؤول

إمضاء المتطوع:

Fiche Patient

Formulaire d'information de patient

Annexe 4

Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat
 Centre de Recherche en Épidémiologie Clinique
 et Essais Thérapeutiques
 Equipe de recherche de Biotechnologie Médicale



Formulaire d'information de patient

1. Initiales du patient : _____ Si « oui » combien ? _____

2. Sexe : F M

3. Origine du patient : _____

4. Apparenté (e) ou caucasien (ne) : _____

5. Age : _____

6. Maladies héréditaires connues : _____

7. Est-il diabétique type 2 ? oui non

8. Ancienneté du Diabète ? _____

9. ATCD familiaux de diabète ? oui non

Si « oui » préciser le degré de parenté :

Degré	Maternel	Paternel	Nombre	Inconnu
-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	-----	-----
-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	-----	-----
-----	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	-----	-----

10. Antécédents familiaux d'insuffisance rénale : oui non inconnu

11. Le patient vous visite-t-il régulièrement pour contrôle ? oui non

12. Nombre de consultations dans la dernière année : _____

13. Traitement actuel : Diète ADO Insuline

14. Nombre d'injections quotidiennes d'insuline : _____
 Dose journalière (unités) ? _____

15. Antidiabétiques oraux ?
 Si « oui » préciser le traitement :

Sulfamide	
Metformine	
Inhibiteurs des alpha Glucosidases	
Sitagliptine	
Glinide	
Autres à préciser	

16. Le patient prend-il actuellement toutes autres médicaments à caractère hyperglycémiant ?
 oui non

Si oui précisez :

	DCI	Posologie
Corticoïdes		
Oestro progestatifs		
Diurétiques		
Immunosuppresseurs		
Autres		

17. Y-a-t-il eu perte de poids dans les 5 dernières années ?
 oui non

18. Tabagisme ? oui non Nombre de paquets/année
 sevré depuis _____

19. Est-ce qu'il est hypertendu ? oui non

Si oui traitement : Non
 Oui Précisez : _____

20. Ancienneté de l'HTA : _____

21. Autres traitements : _____

22. Présente-t-il d'une maladie coronarienne ? oui non

Si « oui » laquelle ? _____

23.

Micro albuminurie de 24h :	< 30mg/24h	
	Entre 30 et 300 mg/24h	
	> 300mg/24h (protéinurie)	

24. Mesure du tour de taille : _____ cm

25. IMC : indice de masse corporelle (kg/m²)

16 à 19,9	20 à 24,9	25 à 30	30 à 35	>35
-----------	-----------	---------	---------	-----

26. Taux du Cholestérol Total (g/l) : _____

27. Taux de LDL (g/l) : _____

28. Taux de HDL (g/l) : _____

29. Taux des Triglycérides (g/l) : _____

30. Micro albuminurie : _____

31. Créatinine : _____

32. Taux de glycémie à jeun : _____

33. Taux HbA1c : _____

34. Rétinopathie diabétique oui non

Si oui, lasérée ? _____

35. Infections : furoncles, dents, amygdalite, urinaires...etc. ?
 oui non

ARTICLES PUBLIES

RESUME

Le diabète est l'une des maladies dont la croissance est la plus rapide au monde, il touchera 693 million d'adultes d'ici 2045. Les complications macrovasculaires et microvasculaires peuvent entraîner une augmentation de la mortalité et une diminution globale de la qualité de vie chez les personnes souffrant notamment du diabète de type 2. Les facteurs environnementaux et cliniques ne peuvent pas prédire le risque de développement de diabète de type 2. Le dysfonctionnement de métabolisme glucidique, et les défauts dans les réponses sécrétoires d'insuline de la cellule beta pancréatique, cependant le ou les défauts primaires responsables du développement du syndrome restent insaisissables et ne seront probablement pas définis tant que l'on ne connaîtra pas mieux les gènes responsables du diabète de type 2.

Au Maroc peu de données sont rapportées a ce sujet, l'objectif de travail a été dans un premier temps basé sur l'étude de la prédisposition génétique du gène TCF7L2 et le risque d'atteindre le diabète de type 2 dans la population marocaine. Ensuite nous avons évalué la réponse de la métformine par l'influence du polymorphisme génétique du gène SLC47A1.

Au total, 250 sujets (dont 150 patients DT2 et 100 sujets témoins) ont été recrutés dans ce travail, L'étude a été approuvée par le comité d'éthique de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, tous les patients ont donné leur consentement écrit. Une fiche d'information est complétée pour chaque patient avec des données anthropométriques, cliniques, biologiques et thérapeutiques.

Les trois SNP étudiés ont été génotypés par une PCR en temps réel basé sur les sondes d'hydrolyse (TaqMan). Une association statistiquement significative a été démontré entre les patients diabétique de type 2 du gène TCF7L2 (rs7903146 et rs 12255372) et les contrôles. Les fréquences génotypique des (rs7903146 et rs12255372) étaient 33% pour CC contre 36% ; 42.7% contre 59% pour CT et 24% contre 5% pour les TT ($p < 0.0001$). et 28% contre 30% pour GG; 53.6% contre 65% pour les GT et 18.7% contre 6% pour TT ($p = 0.004$) respectivement. D'autre part, aucun impact de gène SLC47A1 (rs8206580) sur l'équilibre de HbA1c n'as été trouvé chez les patients marocains sous metformine en monothérapie. Ce constat ajoute des preuves que ces SNP peuvent être explorés comme un outil pour améliorer la prédiction médicamenteuse dans la population marocaine.

Mots clés : prédisposition génétique, TCF7L2 (rs7903146 et rs12255372), SLC47A1 (rs8065082), pharmacogénétique, antidiabétique oral, metformine

ABSTRACT

Diabetes is one of the world's fastest-growing diseases, with 693 million adults expected to be affected by 2045. In people with type 2 diabetes, macrovascular and microvascular complications can lead to increased mortality and a decrease in the overall quality of life. The risk of developing type 2 diabetes cannot be predicted by environmental or clinical factors.

The primary defects responsible for the development of the syndrome are carbohydrate metabolism dysfunction and defects in pancreatic beta-cell insulin secretory responses, which are unlikely to be defined until the genes responsible for type 2 diabetes are better understood.

In Morocco, few data are reported on this subject, The initial goal of the project was to investigate the genetic predisposition of the TCF7L2 gene and the likelihood of developing type 2 diabetes in Moroccans. Then we evaluated the metformin response by the influence of the genetic polymorphism of the SLC47A1 gene.

In this study, a total of 250 people were recruited (150 T2D patients and 100 healthy controls). The three SNPs studied were genotyped by real-time PCR based on hydrolysis probes (TaqMan). A statistically significant association was demonstrated between patients with type 2 diabetes of the TCF7L2 gene rs7903146 and rs 12255372 and controls. The genotypic frequencies of rs7903146 and rs1225537 were 33% and 36% for CC; 42.7% and 59% for CT and 24% versus 5% for TT ($p < 0.0001$) for diabetic, and 28% versus 30% for GG; 53.6% versus 65% for GT and 18.7% versus 6% for TT ($p < 0.0004$) for diabetic and controls, respectively.

on the other hand, no impact of SLC47A1 gene (rs8206580) on HbA1c balance was found in Moroccan patients on metformin monotherapy. This finding adds evidence that these SNPs can be explored as a tool to improve drug prediction in the Moroccan population.

Keywords: genetic predisposition, TCF7L2 (rs7903146 and rs12255372), SLC47A1 (rs8065082), pharmacogenetics, oral antidiabetic, metformin

Structure de Recherche: laboratoire MedBiotech