

La transplantation d'îlots de Langerhans pour le traitement du diabète

Une nouvelle étude clinique à l'Hôpital Universitaire de Genève (le protocole d'Edmonton)

J. Oberholzer^a, C. Toso^a, P.-Y. Benhamou^b, C. Becker^c, P.-Y. Martin^d, J. Philippe^e, Ph. Morel^a

^a Clinique de Chirurgie Digestive, Unité de Transplantation, Hôpital Universitaire de Genève

^b Division de Diabétologie, Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble

^c Division de Radiologie,

^d Division de Néphrologie,

^e Division d'Endocrinologie et Diabétologie, Hôpital Universitaire de Genève

Introduction

L'insulinothérapie permet la survie des patients diabétiques de type I, mais ne prévient pas toujours les complications tardives. Celles-ci compromettent fortement la qualité de vie des patients et représentent une charge importante pour la société. La meilleure prévention est obtenue par un contrôle strict des glycémies. Un traitement d'insuline intensif peut réduire l'incidence de ces complications, mais cela ne peut se faire qu'au prix d'une augmentation importante des épisodes hypoglycémiques [1]. En plus, ce traitement intensif d'insuline demande une bonne compliance de la part du patient [2].

La transplantation d'îlots de Langerhans est à l'heure actuelle la modalité thérapeutique la plus prometteuse pour le traitement du diabète type I. Les objectifs de la transplantation d'îlots ne sont pas seulement d'éviter les contrôles glycémiques et les injections d'insuline pénibles, mais surtout de mettre le patient à l'abri des complications diabétiques tardives [3].

Correspondance:

Dr José Oberholzer

Clinique de Chirurgie Digestive et de Transplantation

Hôpital Universitaire

Rue Micheli-du-Crest 24

CH-1211 Genève 14

E-mail: celtrans@cmu.unige.ch

L'hôpital Universitaire de Genève effectue depuis 1992 des auto- et allotransplantations d'îlots de Langerhans [4]. L'intérêt pour les allogreffes a considérablement augmenté ces derniers 2 ans (fig. 1). Depuis 1999, l'Hôpital Universitaire de Genève est au sein de GRAGIL (Groupe Rhin-Rhone-Alpes et Genève pour la transplantation d'îlots de Langerhans), une collaboration entre les Centres Hospitaliers Universitaires de Lyon, Grenoble, Besançon et Strasbourg. Dans cette collaboration franco-suisse, Genève prépare les greffons d'îlots pour les différents centres. Avec GRAGIL, Genève se situe parmi les centres mondiaux les plus importants dans le domaine de transplantation d'îlots.

Jusqu'à ce jour, seuls des patients diabétiques avec des complications avancées ont bénéficié d'une transplantation d'îlots, en même temps ou après une transplantation rénale. Les résultats mentionnés dans le Registre International de Transplantation d'Îlots sont modestes: une insulino-indépendance a pu être atteinte chez moins de 20% des patients [5]. L'expérience de Genève démontre qu'une technique d'isolement d'îlots adéquate permet d'augmenter la fonction primaire des greffons de 50 à 100% [4] (fig. 2). Malheureusement, l'immunosuppression ne prévient pas toujours le rejet ou la récurrence de la maladie diabétique. De plus, la combinaison des stéroïdes avec des inhibiteurs de la calcineurine (Ciclosporine et Tacrolimus), provoque une importante résistance à l'insuline et une toxicité directe sur les cellules bêta. Alors que seuls quelques patients ont pu atteindre une insulino-indépendance complète, la majorité d'entre eux présente des glycémies stabilisées, des épisodes hypoglycémiques plus rares [6] et une hémoglobine glyquée normalisée grâce à la sécrétion endogène d'insuline [4].

Les résultats du groupe d'Edmonton publiés récemment [7] démontrent qu'une immunosuppression sans stéroïdes et une transplantation d'une masse adéquate d'îlots permettent d'atteindre une insulino-indépendance systématique lors de transplantations d'îlots seuls chez des patients diabétiques type I non-urémiques. Ce protocole est une percée majeure dans le domaine de la transplantation d'îlots. Le gouvernement américain a décidé de financer une étude internationale incluant les centres les plus renommés. L'Immune-Tolerance-Network (ITN, <http://www.immunotolerance.org>) dirige cette étude financée par le US-NIH et la Fondation du Diabète Juvenil (http://www.jdfi.org).

A l'heure actuelle, l'Immune-Tolerance-Network accepte des candidats pour participer à cette étude clinique multicentrique pour la transplantation d'îlots selon le protocole d'Edmonton. Elle devrait commencer au début de l'année 2001. Les hôpitaux universitaires de Genève, Milan et Giessen, sont les trois centres européens inclus dans l'Immune-Tolerance-Network.

Dans cet article, nous aimerions présenter le traitement du diabète de type I par transplantation et introduire ensuite le nouveau protocole d'Edmonton.

Figure 1
 Nombre d'allotransplantations d'îlots effectuées à l'Hôpital Universitaire de Genève entre 1994 et juin 2000.

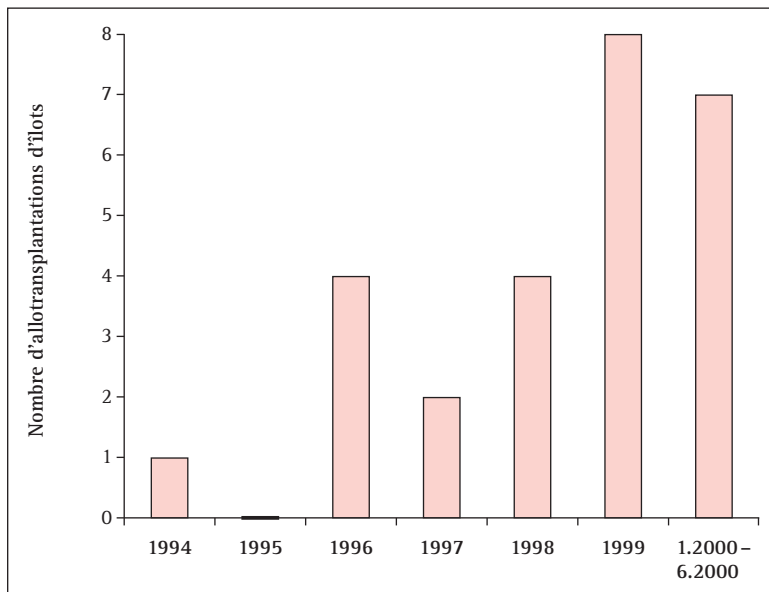
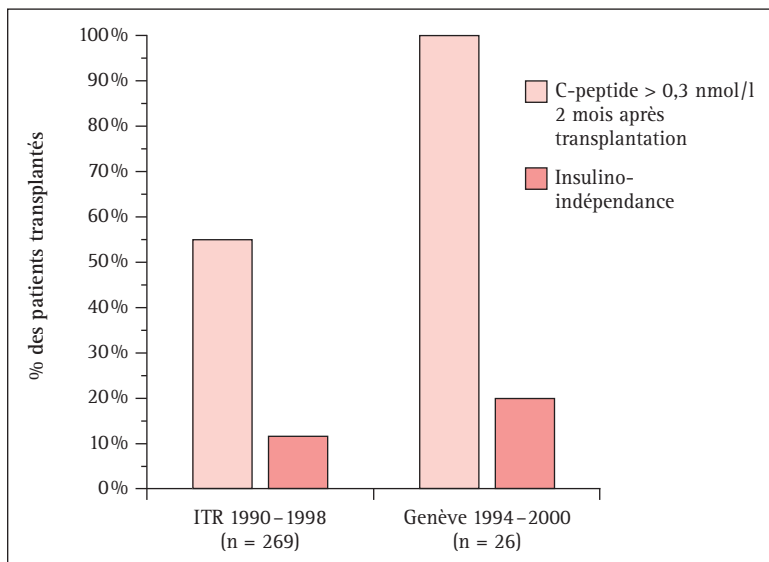


Figure 2
 Résultats de la transplantation d'îlots à l'Hôpital Universitaire de Genève en comparaison avec le registre international de greffe d'îlots (ITR) [5]. Un taux de C-peptide basal supérieur à 0,3 nmol/l (= 0,9 ng/ml), témoigne d'une production d'insuline endogène et par conséquent de la survie de la greffe d'îlots.



La transplantation d'îlots (fig. 3)

Les îlots de Langerhans se constituent en grande majorité de cellules bêta. Celles-ci produisent l'insuline, qui est utilisée dans le métabolisme du glucose. Chez le patient diabétique de type I (diabète juvénile), les cellules bêta sont détruites de façon erronée par le système immunitaire. Une production adéquate d'in-

suline n'est alors plus possible. La transplantation d'îlots, provenant d'un pancréas d'un donneur cadavérique, offre la possibilité de remplacer ces cellules détruites pour fournir l'insuline requise. Lors de la préparation, les îlots sont séparés du tissu environnant par une méthode semi-automatique. Une collagénase est injectée dans le canal pancréatique; le tissu conjonctif est ensuite digéré par cette enzyme à 37° et les îlots sont libérés par une dissociation mécanique dans une chambre de digestion. Cette technique a été décrite pour la première fois par Ricordi [8], la chambre de digestion a été modifiée par le Groupe genevois et contient aujourd'hui un système électronique de contrôle de la température (fig. 4).

La difficulté de cette procédure est de digérer l'organe suffisamment pour pouvoir isoler les îlots, mais sans détruire leur architecture. Afin de pouvoir produire des greffons fonctionnels, une longue expérience est nécessaire. Ce fait a ralenti le développement de la transplantation de façon importante et explique pourquoi à l'heure actuelle seulement une dizaine de centres dans le monde ont des résultats reproductibles.

Les îlots sont généralement maintenus en culture quelques jours avant d'être transplantés. Le protocole d'Edmonton recourt à des îlots fraîchement isolés. Ceux-ci sont injectés juste après l'isolement et ce de manière répétée à partir de préparations de deux donneurs, afin d'augmenter le nombre de cellules greffées. La greffe ne nécessite qu'une courte hospitalisation. Les îlots sont injectés dans la veine porte du foie sous contrôle radiologique (fig. 5). Une fois injectés, les îlots sont emportés par le flux sanguin et s'implantent dans les capillaires hépatiques (fig. 6). C'est là que les îlots commencent à produire l'insuline, comme ils le feraient au niveau du pancréas – en quelque sorte, le foie effectue désormais le travail normalement dévolu au pancréas (fig. 7).

Objectif de l'essai multicentrique

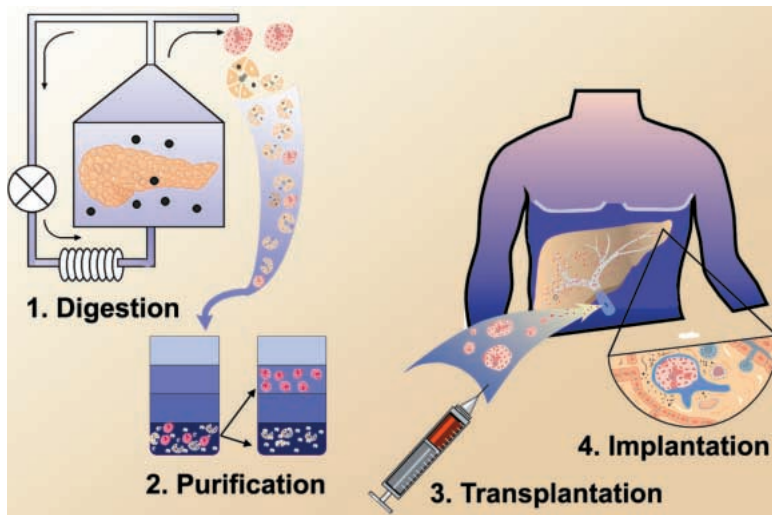
L'essai clinique multicentrique ITN du protocole d'Edmonton a été développé avec plusieurs objectifs. Le premier est de vérifier que les procédures développées par l'équipe d'Edmonton peuvent être reproduites avec succès dans d'autres centres [7]. Nous évaluerons cela en recourant à un nombre de patients légèrement plus élevé que dans l'étude initiale du groupe d'Edmonton, afin de mieux définir l'efficacité réelle de la procédure. A long terme, le but de l'ITN est de remplacer les combinaisons immunosuppressives actuelles nécessaires à la greffe d'îlots par de nouvelles approches thérapeutiques qui exposent à un nombre plus restreint d'effets indésirables.

Risques liés à la procédure

Il est important de garder à l'esprit que le protocole d'Edmonton est un traitement expérimental du diabète. Bien que cette thérapeutique apparaisse très ef-

Figure 3

Les principes de la transplantation d'îlots: Après l'injection de la collagénase dans le canal de Wirsung, le pancréas est digéré dans une chambre à température contrôlée (digestion). La suspension cellulaire est ensuite purifiée par un gradient de densité. Les îlots endocrines ont une densité plus faible que le tissu exocrine, ils montent dans le gradient (purification). Les îlots purifiés sont récoltés et injectés sous contrôle radiologique dans la veine porte (transplantation). Les îlots vont s'implanter au niveau des petites branches portales (implantation).



ficace [7], on n'en connaît pas encore l'efficacité à long terme ni les effets secondaires. Les risques potentiels de l'injection d'îlots sont l'hémorragie au point de ponction, ainsi que la thrombose de la veine porte. Dans l'expérience genevoise, avec plus de quarante patients (auto- et allogreffes), un hémopéritoine et deux hématomes hépatiques subcapsulaires ont été observés. On relève également une thrombose partielle d'une branche portale réversible après 6 semaines d'anti-coagulation.

Après transplantation, le patient doit prendre une immunosuppression pour prévenir le rejet ou la récurrence de la maladie diabétique. Ces médicaments doivent être pris chaque jour tant que le greffon fonctionne. Ces médicaments sont conçus pour réduire l'activité du système immunitaire et pour cette raison, elles exposent à plusieurs risques, dont certains ne sont pas encore bien définis. Parmi ces risques, il faut citer une susceptibilité accrue à diverses infections et au cancer.

Quels patients peuvent participer à l'étude?

L'essai ITN est destiné aux patients atteints de diabète de type I (ou diabète juvénile) et en particulier à ceux qui présentent un diabète difficile à contrôler. Les diabétiques de type II ne sont actuellement pas éligibles pour participer à cette étude. De même, tant que le risque potentiel et le bénéfice de cette procédure ne sont pas mieux précisés, les patients de moins de dix-huit ans ne peuvent pas participer à l'étude.

Seuls les patients diabétiques de type I, diagnostiqués depuis au moins cinq ans et âgés de dix-huit

à soixante-cinq ans, sont éligibles pour participer à l'étude. Les candidats doivent présenter une des situations suivantes malgré une prise en charge optimale du diabète (régime, traitement insulinaire intensif):

- Le patient présente des hypoglycémies non-resenties (glucose inférieur à 3,0 mmol/l ou 54 mg/dl).
- Le patient a présenté au moins une hypoglycémie sévère au cours des derniers 20 mois, qui n'a pas reçu d'explication claire et ayant nécessité une aide extérieure.
- Diabète instable (malgré un contrôle étroit des glycémies et un bon suivi d'un schéma d'insuline, le patient présente des variations rapides des glycémies en dehors de la norme).
- Développement des complications secondaires en aggravation progressive malgré un traitement insulinaire bien conduit:
 - Rétinopathie: progression de 3 degrés selon ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study) Grading System [9];
 - Néphropathie: augmentation de la microalbuminurie de 50 µg/min (72 mg/24 h.) ou plus dans une période de 3 mois (à n'importe quel moment durant les 2 dernières années) malgré un traitement par inhibiteur de l'angiotensine;
 - Persistance ou progression d'une neuropathie autonome ou périphérique, ne répondant pas à un traitement médicamenteux (antidépresseur tricyclique, Gapentin, Carbamazépin).

Les situations suivantes représentent des critères d'exclusion:

- Maladie coronarienne sévère (infarctus myocardique pendant les 12 derniers mois, sténose significative non-traitable à l'angiographie, réaction ischémique aux tests cardiaques fonctionnels);
- intoxication active par alcool, tabac ou autres substances (abstinence requise depuis au moins 6 mois);

Figure 4

La chambre de digestion genevoise avec un système électronique de contrôle de température. Le pancréas est digéré à 37°C et dissocié par agitation mécanique. La suspension tissulaire est filtrée à travers le système de circulation. Elle est ensuite récoltée pour les centrifugations consécutives (voir fig. 3).

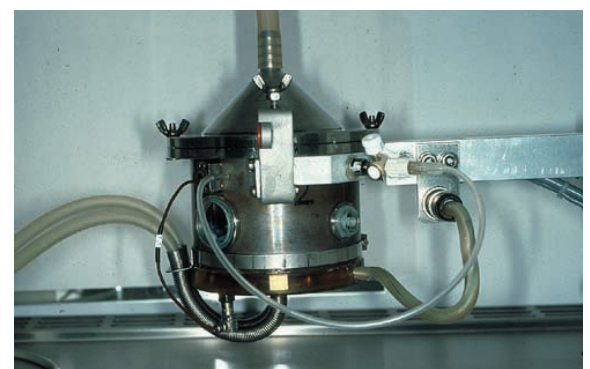


Figure 5

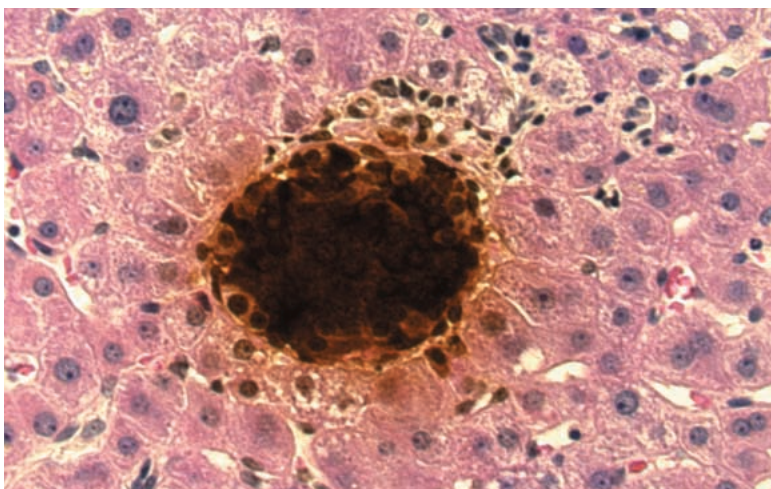
Chirurgie de transplantation minimalement invasive: Sous contrôle échographique et radiologique un cathéter est mis en place dans la veine porte et les îlots sont injectés. L'opération s'effectue sous anesthésie locale. La pression porte est contrôlée régulièrement.



- maladie psychiatrique majeure (confirmée par consultation psychiatrique);
- infection active (hépatite C, hépatite B, HIV ou test intradermique tuberculinique positif);
- antécédents cancéreux, excepté les cancers baso- ou spinocellulaires de la peau;
- surcharge pondérale (Body Mass Index, correspondant au kg/m^2 [poids corporel/taille au carré] >26);
- rétinopathie proliférative non-traitée;
- test de grossesse positif, désir de grossesse à court terme, impossibilité de mise en place de mesures contraceptives efficaces ou allaitement en cours;
- hémoglobine glyquée $>12\%$;

Figure 6

Îlots de Langerhans dans un foie humain, une année après transplantation. Coloration hématoxyline-éosine et immunomarquage avec un anticorps de souris anti-insuline humaine, agrandissement 400 fois.



- besoin insulinique $>0,7$ U/kg par jour;
- hyperlipidémie non-traitée;
- clairance à la créatinine <60 ml/min/ $1,73$ m^2 ;
- microalbuminurie (>300 mg/24 h.).

Le protocole d'étude

Dans le protocole d'Edmonton, l'immunosuppression fait appel à la combinaison des médicaments suivants: Sirolimus (Rapamune, Wyeth), Tacrolimus (Prograf, Fujisawa) et Daclizumab (Zenapax, Roche), sans corticoïde.

Une fois les îlots isolés, la transplantation doit être effectuée le plus vite possible. Ceci signifie que le patient doit pouvoir se rendre à l'Hôpital de Genève dans un délai de quelques heures. Dans la mesure du possible, l'insulinothérapie est arrêtée juste après la transplantation. Si les glycémies ne sont pas satisfaisantes sans insuline, le patient est laissé en liste d'attente et des îlots supplémentaires provenant d'un deuxième donneur sont transplantés pour que l'insulino-indépendance soit atteinte.

Pour l'étude, les patients sont contrôlés régulièrement à Genève pendant la première année. Une collaboration étroite avec les médecins traitants est indispensable.

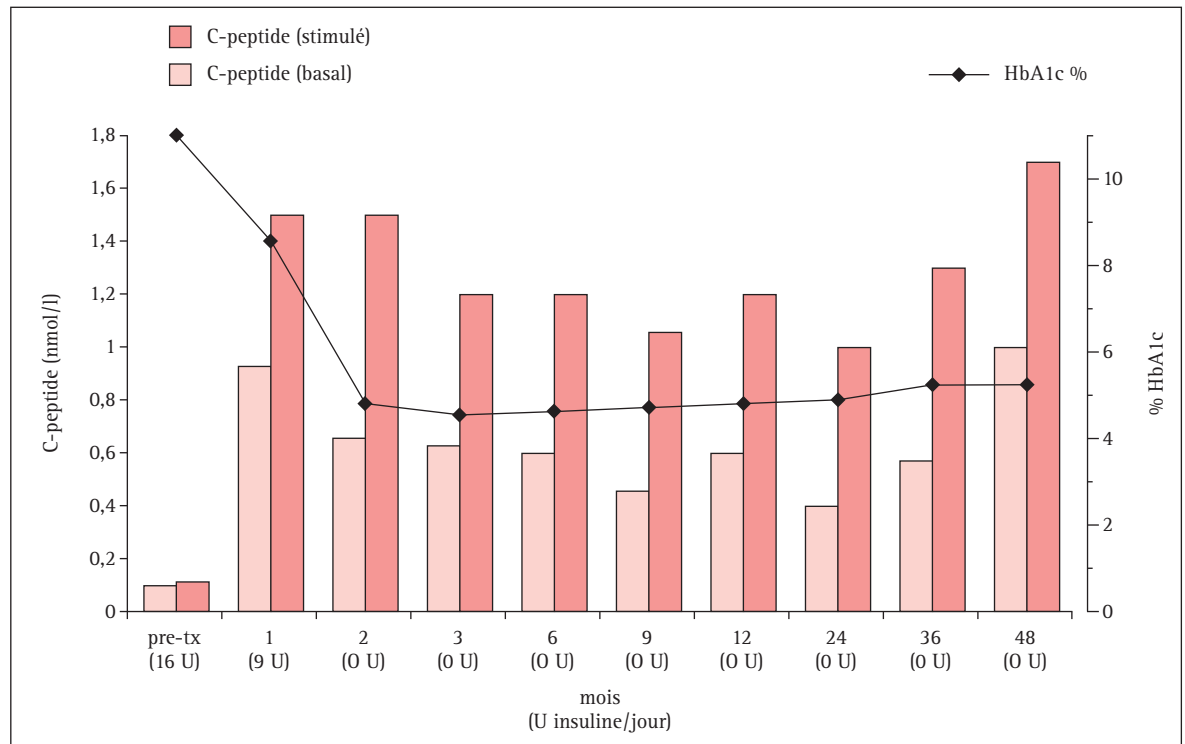
Des formulaires d'information et enregistrement pour une transplantation d'îlots sont disponibles sur Internet (<http://www.chirurgie-geneve.ch>) ou peuvent être demandés directement à Genève. Une partie du formulaire doit être remplie par le patient et une autre par le médecin traitant. L'ITN fera une présélection des patients, puis attribuera un ordre de priorité par tirage au sort. Les patients sélectionnés vont bénéficier d'une courte hospitalisation pour un bilan pré-greffe à Genève. Si le patient présente les critères d'inclusion et pas de contre-indication, il sera mis en liste d'attente lors d'un colloque interdisciplinaire auquel les médecins traitants sont invités.

Conclusions

Le protocole d'Edmonton a ouvert de nouvelles perspectives dans le domaine de la transplantation d'îlots. Pour la première fois dans l'histoire de la médecine, il offre le potentiel de guérir le diabète par une méthode peu invasive. Cette étude – dans sa conception unique – va montrer si la transplantation d'îlots peut s'imposer comme traitement pour les patients avec un diabète difficile à équilibrer. L'Hôpital Universitaire de Genève accepte de manière indifférenciée les patients de toute la Suisse et de la France voisine. Des documents d'information et d'enseignement pour les patients en allemand, en français et en italien peuvent être demandés à Genève, ou être chargés par Internet (<http://www.chirurgie-geneve.ch>)

Figure 7

Résultats métaboliques après transplantation d'îlots chez une patiente de 36 ans avec un diabète type I, 9 ans après transplantation rénale. Deux mois après transplantation d'îlots, l'insulinothérapie a pu être arrêtée. Depuis 4 ans la patiente est insulino-indépendante, est présente des taux de C-peptide basal et stimulé (après 1 mg de glucagon i.v.) dans la norme. Sans restriction diététique, la patiente a une HbA1c de 5,2%. L'immunosuppression chez cette patiente consiste en ciclosporine, mycophenolate et prédnisone.



Références

- Gautier JF, Beressi JP, Leblanc H, Vexiau P, Passa P. Are the implications of the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) feasible in daily clinical practice? *Diabetes Metab* 1996;22 (6):415-9.
- The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. 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* 1993; 329 (14):977-86.
- Weir GC, Bonner-Weir S. Scientific and political impediments to successful islet transplantation. *Diabetes* 1997;46(8): 1247-56.
- Oberholzer J, Triponez F, Mage R, et al. Human islet transplantation: lessons from 13 autologous and 13 allogeneic transplantations. *Transplantation* 2000;69(6):1115-23.
- Brendel MD, Hering B, Schultz AO, Bretzel RG. International islet transplant registry. Newsletter 8. Giessen: Justus-Liebig-Universität; 1999.
- Meyer C, Hering BJ, Grossmann R, et al. Improved glucose counterregulation and autonomic symptoms after intraportal islet transplants alone in patients with long-standing type I diabetes mellitus. *Transplantation* 1998;66(2):233-40.
- Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med* 2000;343(4):230-8.
- Ricordi C, Lacy PE, Finke EH, Olack BJ, Scharp DW. Automated method for isolation of human pancreatic islets. *Diabetes* 1988;37(4):413-20.
- Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs – an extension of the modified Airlie House classification. ETDRS report number 10. *Ophthalmology* 1991;98(5 Suppl):786-806.