



THESE D'UNIVERSITE

Evaluation pré-clinique et clinique de l'autogreffe intramusculaire d'îlots de Langerhans

PRESENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT PAR

ADRIEN STERKERS

SOUTENANCE LE 13 SEPTEMBRE 2013

DIRECTEUR DE THÈSE : PR FRANÇOIS PATTOU

MEMBRES DU JURY :

PRÉSIDENT : PR FRANÇOIS PATTOU

RAPPORTEUR 1 : PR BART KEYMEULEN

RAPPORTEUR 2 : PR PIERRE CATTAN

EXAMINATEUR : DR THOMAS HUBERT

EXAMINATEUR : PR AMAR ABDERRAHMANI



**Centre Hospitalier Régional
Universitaire de Lille**

Au terme de ce travail, je remercie vivement :

Le Professeur François Pattou, de m'avoir aidé à entrer dans l'univers de la science, de m'avoir accueillie dans son laboratoire de recherche et de m'avoir accordé sa confiance dans la réalisation de ce projet. Merci pour votre disponibilité et votre aide tout au long de ces années.

Le Docteur Thomas Hubert pour son aide lors de la réalisation des actes chirurgicaux, ses conseils dans le déroulement du travail de recherche, sa rigueur pointilleuse dans la rédaction de ce mémoire et son soutien à chaque étape de ces années.

Les Professeurs Pierre Cattan et Bart Keymeulen pour l'honneur que vous me faites en acceptant de rapporter ce travail.

Le Professeur Amar Aberamhani pour me faire l'honneur de siéger parmi mes juges.

Nathalie Delalleau, pour toute son énergie déployée dans la réalisation des techniques d'immunomarquages et des isolements. Merci pour ta bonne humeur.

Le Docteur Valéry Gmyr pour son aide dans la réalisation des isolements porcins et dosages biologiques et pour tous ses bons conseils.

Julien Thevenet pour sa bonne humeur et son aide dans les manipulations lors des greffes intramusculaires.

Violeta Raverdy pour son aide précieuse dans le développement de la phase clinique du projet.

Tous les autres membres de l'équipe du laboratoire pour leur gentillesse :

Le Professeur Julie Kerr-Conte, Ericka Moerman, Isanga Aluka, Bruno Lukowiak, Sandrine Belaich, Rimed Ezzouaoui et Hélène Loiseau.

Arnold Dive et Michel Pottier. Merci d'avoir pris soins des animaux tout au long de l'année, merci pour votre aide si précieuse lors des actes chirurgicaux et pour votre humour.

Rose-Mary et Marie-Hélène du laboratoire d'histologie de la faculté de médecine de Lille pour leur gentillesse et leur disponibilité dans la réalisation des nombreuses lames d'histologie.

Les Docteurs Fanelly Torres, Gregory Baud, Robert Caiazzo et Raphael Degremont pour leur amitié et leur soutien au quotidien dans cette aventure.

L'ensemble des institutions et organismes qui ont et continuent à supporter ce projet: 7th Framework Programme of the European Commission (Beta-Cell Therapy), European Genomic Institute for Diabetes (EGID, ANR-10-LABX-46), INSERM (Programme National de Recherche sur le Diabète), Conseil Régional Nord-Pas de Calais, Université Lille2, Fonds Européen de Développement Economique et Régional et l'Agence de Biomédecine

A Cécile, Malo, Valentin et Gabin.

Résumé

La transplantation d'îlots permet la restauration d'une insulino-sécrétion endogène chez les patients diabétiques de type 1 par greffe allogénique et limite les conséquences métaboliques d'une pancréatectomie en cas d'autogreffe. Le site de référence intrahépatique présente néanmoins de nombreuses limites. Dans le cadre d'autogreffe, le risque hémorragique accru chez les patients récemment opérés liée à l'injection nécessairement conjointe des îlots et d'héparine en intraportale doit faire privilégier une technique de greffe mini invasive. De nombreux sites d'implantation ont été décrits.

L'hypothèse de ce travail de thèse était que la voie intramusculaire offrirait par rapport à la voie portale, l'avantage de simplifier l'acte de transplantation, de réduire le traumatisme pour le patient et d'améliorer la viabilité des îlots en limitant les processus inflammatoires immédiats et en optimisant les processus de néo-vascularisation.

Dans une première partie, nous avons pu démontrer, dans un modèle préclinique, que le site intramusculaire permet la survie, la revascularisation et la sécrétion des îlots autogreffés. Nous avons décrit une technique de greffe permettant d'améliorer le contrôle glycémique d'animaux autogreffés après pancréatectomie totale. Bien qu'inférieure à la voie intraportale, les tests fonctionnels nous ont permis de valider le site intramusculaire pour la greffe d'îlots autologues.

Dans une deuxième partie, nous décrivons un cas clinique original confirmant la possible transposition en clinique de l'autogreffe d'îlots en intramusculaire après pancréatectomie partielle. Ce cas clinique, confirme la faisabilité et suggère son innocuité. Il était cependant difficile dans ce contexte de pancréatectomie partielle d'établir un rapport entre l'absence de développement de diabète et la greffe.

Pour ce faire, nous décrivons dans une troisième partie, une étude pilote sur l'évaluation de la fonction des îlots autogreffés dans le muscle chez 8 patients ayant subi une pancréatectomie partielle. Dans ce but nous avons comparé la sécrétion d'insuline après stimulation par l'arginine mesurée simultanément dans le bras greffé et le bras non greffé après l'autogreffe par des tests de stimulation à l'arginine. Malgré une faible quantité d'îlots greffés, nous avons documenté une fonction primaire du greffon chez plus de la moitié des patients, ainsi que sa persistance à plus d'un an. Enfin, nous avons également montré que le gradient d'insulinémie entre le bras greffé et le bras systémique était corrélé avec la masse d'îlots greffés.

Le muscle est donc un site phare pour le développement d'un site alternatif lors de

greffe d'îlots intramusculaire. Le site intramusculaire permet un formidable site d'évaluation des îlots. Cette procédure, résolument mini-invasive, est particulièrement attractive par son extrême accessibilité aux biopsies, à l'imagerie et aux explantations. Cette accessibilité permet d'élargir les indications de greffe telles que l'autogreffe d'îlots provenant de pancréas tumoraux.

Sommaire

1. Introduction générale.....	7
2. Les îlots de Langerhans	10
2.1. Organisation générale.....	10
2.2. Genèse et renouvellement des îlots et des cellules β	11
2.3. Régulation de la synthèse d'insuline et anomalies fonctionnelles des cellules β au cours du diabète.....	12
3. Diabète sucré.....	12
3.1. Définition du diabète (Expert Committee 2013).....	12
3.2. Complications du diabète.....	13
3.2.1. Complications métaboliques aiguës du diabète et hypoglycémie.....	13
3.3.2. Symptômes inauguraux et diagnostic biologique du diabète de type 1 auto-immun .	17
3.4. Diabète anatomique	17
3.5. Traitement du diabète de type 1 et 3C.....	20
3.5.1. Traitement substitutif.....	20
3.5.2. Stratégies thérapeutiques pour la prévention des hypoglycémies sévères	21
3.5.3. Transplantation de l'organe pancréatique.....	21
4. La greffe d'îlots de Langerhans	23
4.1. greffe d'îlots allogéniques	23
4.1.1. Le contexte.....	23
4.1.2. Le prélèvement et le transport	24
4.1.3. Isolement des îlots	25
4.1.4. Le geste chirurgical	27
4.1.5. L'immunosuppression	27
4.1.6. Résultats actuels.....	28
4.2. Autogreffe d'îlots de Langerhans.....	29
4.2.1. Le contexte.....	29
4.2.2. La procédure d'isolement.....	29
4.2.3. Résultats actuels.....	31
4.3. Exploration de la fonction des îlots après transplantation	33
4.3.2. Hyperglycémie provoquée par voie orale et repas test.....	34
4.3.3. Test de tolérance au glucose administrée par voie intraveineuse	35
4.3.4. Test de stimulation par un sécrétagogue	36
4.4. Limites du site intra-hépatique	36
4.4.1. Evaluation de la contribution relative de la perte cellulaire immédiate et tardive.....	36
4.4.2. Activation des cascades de la coagulation et de l'inflammation	32
4.4.3. Hypoxie et toxicité médicamenteuse.....	39
4.4.4. Défaut de revascularisation.....	40
4.4.5. Rechute de l'auto-immunité et rejet immunologique	40
4.4.6. Complications métaboliques	41

5. Les sites alternatifs	41
5.1. <i>Intérêts et limites des différents sites</i>	41
5.1.1. <i>Le pancréas</i>	42
5.1.2. <i>Site sous-capsulaire rénal</i>	42
5.1.3. <i>La cavité péritonéale</i>	42
5.1.4. <i>La rate</i>	43
5.1.5. <i>La cavité médullaire</i>	43
5.1.6. <i>Les sites immunoprivilégiés</i>	43
5.1.7. <i>La sous muqueuse gastrique et le tractus uro-génital</i>	44
5.1.8. <i>La poche omentale</i>	44
5.1.9. <i>Le site intramusculaire</i>	44
5.2. <i>Essais cliniques récents et en cours dans des sites alternatifs</i>	44
6. Greffe intramusculaire	46
6.1. <i>Rationnel</i>	39
6.2. <i>Succès des transplantations de parathyroïdes par voie intramusculaire</i>	46
6.3. <i>Expérimentation des transplantations d'îlots par la voie intramusculaire chez l'animal et premiers essais chez l'Homme</i>	48
6.3.1. <i>L'expérimentation animale</i>	48
6.3.2. <i>Essais chez l'Homme</i>	49
6.4. <i>Avantages de la voie intramusculaire</i>	50
7. Hypothèse de travail/Objectifs	50
8. Approches méthodologiques et résultats	51
8.1. <i>Etablissement d'un modèle animal de diabète insulino-dépendant pour évaluer l'auto-transplantation par voie intramusculaire</i>	51
8.2. <i>Transplantation d'îlots par voie intramusculaire après pancréatectomie distale post-traumatique : à propos d'un cas</i>	53
8.3. <i>Documentation de la fonctionnalité de greffe autologues d'îlots par voie intramusculaire avec un recul supérieur à 1 an (manuscrit en préparation)</i>	54
9. Conclusions/Perspectives	70

Tableaux et figures

Introduction

Tableau 1.....	18
Tableau 2.....	22
Figure 1.....	23
Figure 2.....	25
Figure 3.....	26
Figure 4.....	29
Figure 5.....	37
Figure 6.....	38
Tableau 3.....	43
Figure 7.....	46

Article 1

Figure 1.....	52
Figure 2.....	53
Figure 3.....	53
Figure 4.....	53
Figure 5.....	54
Figure 6.....	54

Article 2

Figure 1.....	60
Figure 2.....	60
Figure 3.....	61

Article 3

Figure 1.....	68
Figure 2.....	69
Tableau 1.....	71
Tableau 2.....	73
Figure 4.....	75

Abréviations

InVS : Institut de veille sanitaire

ADA : American Diabetes Association

WHO : World Health Organisation

HbA1c : hémoglobine glyquée

TIPMP : Tumeur intracanalair papillaire et mucineuse du pancréas

CITR : Colaborative Islets Transplantation Registry

IEQ : Ilots équivalents

AIR : Acute Insulin Respons

AIRa : Acute insulin respons to arginin

AIRg : Acute insulin respons to glucose

IVGTT : Intraveinuous glucose tolerance test

SUITO : Secretory unit of islet in transplantation

TEF : transplant estimated function

GLP1 : Glucagon like peptide 1

FDG : fluorodesoxyglucose

IBMIR : Istant blood mediated Inflammatory reaction

VEGF : Vascular endothelial growth factor

PTH : parathormone

PET : tomographie par emission de positron

NOD : Non obese diabetic

vWF : von Willebrand Factor

Hb : Hemoglobine

AGIM : autogreffe intamusculaire d'ilots

ISI : indice de stimulation de l'insuline

ACR : Acute C peptide respons

1. Introduction générale

La transplantation d'îlots est une thérapie cellulaire innovante indiquée principalement dans les diabètes insulino-dépendants de type 1 instables d'origine auto-immune et à l'occasion d'une pancréatectomie.

Dans la première indication, il s'agit d'allo-transplantations à partir de donneurs décédés ou exceptionnellement de donneurs vivants. Dans la deuxième indication, une auto-transplantation est possible. L'objectif idéal de la transplantation d'îlots est d'infuser un nombre suffisant d'îlots fonctionnels de façon pérenne pour contrôler efficacement l'homéostasie glucidique sans nécessité de recourir à des injections d'insuline exogène.

De nombreux sites d'implantation ont été décrits. Cependant, chez l'Homme, seule la transplantation par voie intra-portale a fait la preuve de son efficacité en termes d'amélioration de la qualité de vie des patients et de stabilisation métabolique.

La perte immédiate et à long terme du nombre et de la fonction des îlots constitue une limite majeure à l'obtention d'une insulino-indépendance de longue durée. Avant même l'activation de la réaction immunitaire spécifique, l'hypoxie, la réaction inflammatoire locale et l'activation de la coagulation grèvent lourdement la survie cellulaire immédiate des îlots transplantés par voie intra-portale. A moyen terme, la mauvaise qualité de la revascularisation des îlots diminue l'efficacité de ce traitement. A cette perte cellulaire, s'ajoutent les risques de la procédure liés à l'injection intra-portale d'un matériel thrombogène. Une forte anticoagulation ne parvient à prévenir que partiellement la formation de thrombose porte alors qu'elle entraîne un risque hémorragique accru.

En situation allogénique dans les indications du diabète auto-immun, la toxicité des immunosuppresseurs, le rejet immunologique et la destruction des îlots par les réactions auto- et alloimmunes sont des facteurs de risque additionnels de perte cellulaire à long terme.

Ainsi l'amélioration de l'accessibilité des îlots, de leur viabilité et de leur fonctionnalité à court et long termes chez le receveur sont des objectifs à atteindre et dont dépendra le succès complet de la transplantation d'îlots.

L'hypothèse de ce travail de thèse était que la voie intramusculaire offrirait par rapport à la voie portale l'avantage de simplifier l'acte de transplantation, de réduire le traumatisme pour le patient et d'améliorer la viabilité des îlots en limitant les processus inflammatoires immédiats et en optimisant les processus de néo-vascularisation.

Le but de ce travail, résolument tourné vers l'application clinique, a consisté à utiliser une méthode optimisée d'isolement d'îlots pour évaluer la voie intramusculaire dans un modèle

animal (mini-porc). L'objectif était de démontrer la survie et la fonction des îlots après greffe intramusculaire et d'en optimiser la technique en vue de son application clinique (en cours).

2. Les îlots de Langerhans

2.1. *Organisation générale*

Les îlots de Langerhans ont été découverts en 1869 par un étudiant en médecine, Paul Langerhans. Les îlots constituent 1 à 2% de la masse pancréatique. Ils ont une activité métabolique intense (20% du volume sanguin délivré à l'organe leur est dédié). L'innervation des îlots est complexe incluant des fibres sympathiques et noradrénergiques (Myrsen, Keymeulen et al. 1996).

On considère qu'au moins 500 000 îlots sont nécessaires chez un adulte pour assurer l'homéostasie glucidique. Les îlots contiennent plusieurs types cellulaires, tous impliqués dans l'homéostasie glucidique. Ces différents types cellulaires secrètent l'insuline, l'amyline, le glucagon, la somatostatine et la ghréline. Il est vraisemblable qu'une homéostasie glucidique physiologique requière l'intégrité de la fonction de tous les constituants des îlots (Menger, Vajkoczy et al. 1994).

L'activité fonctionnelle de chaque type de cellules est soumise à une régulation complexe par des interactions hormonales in situ et par des hormones extra-pancréatiques. Une même hormone peut agir sur plusieurs types cellulaires. A titre d'exemple, le glucagon-like peptide-1 agit via des récepteurs spécifiques à la fois sur les cellules α et les cellules β (Holdstock, Ludvigsson et al. 2004; Andralojc, Mercalli et al. 2009). Récemment, il a été découvert que cette dernière hormone pouvait être produite au sein des îlots (Marchetti P, Lupi R et al. 2013).

Les interactions entre les différentes hormones assurant l'homéostasie glucidique constituent un système intégré de régulation. Le glucose stimule à la fois la sécrétion d'insuline et d'amyline par les cellules β , la sécrétion de somatostatine par les cellules δ et paradoxalement le glucagon par les cellules alpha en l'absence de rétrocontrôle lié à l'insuline (Gromada, Franklin et al. 2007, Hellman, Salehi et al. 2009).

Le rôle précis de chacune de ces 5 hormones et de leurs interactions est imparfaitement connu. Compte tenu des connaissances actuelles, la physiopathologie du diabète de type 1 auto-immun ne peut plus être rapportée à la seule altération des cellules β des îlots de Langerhans (Unger and Cherrington 2012). La preuve la plus convaincante est l'observation, au cours de cette maladie, d'une diminution non seulement du nombre des cellules β mais également du nombre total d'îlots (Doniach and Morgan 1973).

2.2. Genèse et renouvellement des îlots et des cellules β

La formation des îlots s'opère pratiquement exclusivement pendant la vie fœtale (Stefan, Grasso et al. 1983; De Krijger, Aanstoot et al. 1992). De nouveaux îlots peuvent néanmoins se développer à partir de progéniteurs après la naissance. Ces progéniteurs sont issus de cellules épithéliales du pancréas exocrine (Akhurst, Croager et al. 2001; Bonner-Weir, Toschi et al. 2004). Cette néogenèse a été observée dans des modèles animaux mais également chez l'Homme au cours de traumatismes pancréatiques ou de pancréatites. Elle est cependant très limitée, nécessitant des stimuli majeurs pour survenir (Demeterco, Hao et al. 2009). Les cellules β matures ont par ailleurs la capacité de se renouveler pendant toute la vie par division cellulaire (Davani, Ikonou et al. 2007). Il a été démontré que l'augmentation de la masse des cellules β dépend essentiellement de ce deuxième processus dans un modèle murin dans des conditions physiologiques au cours de la grossesse (Parsons, Brelje et al. 1992) ou après pancréatectomie partielle (Dor, Brown et al. 2004). Le turn-over mensuel des cellules β chez l'Homme est estimé à 2% (Guo and Hebrok M 2009). La démonstration de la prolifération des îlots humains greffés chez des souris immunodéficientes soumise à un régime riche en graisses a fait l'objet d'une publication récente (Gargani and Thevenet 2013). Les mécanismes régulant l'expansion des îlots sont complexes. Il a été récemment démontré que les microRNA contribuent à ce processus (Jacovetti, Abderrahmani et al. 2012). Néanmoins ces mécanismes de prolifération sont de faible amplitude et ne semble pas opérationnels pour augmenter la masse des îlots greffés.

Toutes les études évaluant l'impact de la concentration du glucose sur la survie des îlots ont conclu à l'importance du maintien de la glycémie dans un intervalle de valeurs étroit pour optimiser la survie, la fonctionnalité et la croissance des îlots, dans la période embryonnaire (Guillemain, Filhoulaud et al. 2007) et après transplantation (Jorns, Klempnauer et al. 2001). L'hyperglycémie peut réduire jusqu'à 50% de la masse totale des îlots *in vitro* (Ryu, Kodama et al. 2001). L'effet négatif d'une exposition au risque d'hyperglycémie semble moindre dans des modèles expérimentaux animaux *in vivo* sans doute en raison de rétrocontrôles protecteurs efficaces (Rosenberg, Duguid et al. 1992; Rosenberg, Lipsett et al. 2004).

L'homéostasie des cellules β des îlots de Langerhans a une influence sur l'homéostasie des autres types cellulaires des îlots. La destruction des cellules β dans le diabète de type 1 entraîne par exemple une augmentation transitoire des cellules α et affecte à la fois la fonctionnalité et la genèse des autres cellules.

2.3. Régulation de la synthèse d'insuline et anomalies fonctionnelles des cellules β au cours du diabète

L'insuline, synthétisée sous forme de pré-insuline, est transformée en pro-insuline par les cellules β des îlots de Langerhans.

La pro-insuline est à son tour transformée en insuline et peptide C contenus dans des granules de sécrétion prêts à relarguer leur contenu. La régulation de cette sécrétion se situe au niveau transcriptionnel et post-transcriptionnel. La sécrétion d'insuline se fait selon une séquence précise d'événements aboutissant à la fusion des granules de sécrétion avec la membrane plasmique.

L'insuline est sécrétée principalement en réponse à une stimulation par le glucose. Plus accessoirement, les acides gras et les acides aminés peuvent augmenter la sécrétion d'insuline induite par le glucose. De nombreuses hormones contribuent à la régulation de la sécrétion de l'insuline, telles que la mélatonine, les ostéogènes, les leptines, l'hormone de croissance et le glucagon-like peptide-1. (Fu, Gilbert et al. 2013)

3. Diabète sucré

3.1. Définition du diabète (Expert Committee 2013)

Le diabète est un groupe de pathologies caractérisées par une hyperglycémie liée à un déficit de sécrétion en insuline et/ou à son inefficacité. Le diagnostic de diabète sucré est évoqué si l'hyperglycémie induit un risque vital ou fonctionnel. Les valeurs seuil actuellement retenues sont une glycémie à jeun supérieure à 1,26 g/L ou post-prandiale supérieure à 2 g/L. Plus récemment, plusieurs sociétés savantes considèrent qu'un taux d'hémoglobine glyquée supérieure à 6,5% est aussi un critère diagnostique dans la pratique clinique courante. A partir des seuils cités, les patients sont à risque de développer une complication aiguë ou chronique liée à l'hyperglycémie justifiant une prise en charge thérapeutique. La majorité des patients diabétiques peuvent être classés en deux catégories. Le diabète de type 1 (cf. chapitre 3.3) résulte d'un déficit de sécrétion en insuline lié dans la majorité des cas à une pathologie auto-immune. Le diabète de type 2 associe une insulino-résistance avec une hyposécrétion relative d'insuline. De manière plus spécifique, le diabète de type 3 regroupe un ensemble de pathologies plus rares incluant le type 3c associé à un déficit pancréatique exocrine dans lequel peut être inclus le diabète anatomique induit par un geste de résection pancréatique (cf. chapitre 3.4). Enfin, le diabète de type 4 est représenté par la forme particulière du diabète gestationnel. La thérapie cellulaire offre la possible restauration

d'une insulinosécrétion chez les patients insulinodéficients. Pour cette raison, ce travail se focalise principalement sur les diabètes de type 1 et 3c.

3.2. Complications du diabète

3.2.1. Complications métaboliques aiguës du diabète et hypoglycémie

Elles sont de trois ordres: les comas acidocétosiques secondaires à des hyperglycémies majeures, les comas non acidocétosiques (acidose lactique) et les hypoglycémies.

Les complications aiguës métaboliques exposent les patients diabétiques à une mortalité par acidocétose secondaire à une augmentation massive de la glycémie et aux comas hypoglycémiques.

Les hypoglycémies sévères et/ou répétées pouvant constituer une indication à la transplantation d'îlots seront les seules complications métaboliques aiguës développées dans ce mémoire.

Une hypoglycémie est définie par la plupart des cliniciens par une concentration de glucose dans le sang circulant inférieure ou égale à 3,5-3,9 mmol/l (Frier 2009). En pratique clinique les accidents hypoglycémiques sont liés à un surdosage thérapeutique et souvent classés en fonction de leurs manifestations cliniques. Lors des hypoglycémies peu sévères, la prise orale de glucose et l'ajustement du traitement est assuré par le patient. En cas d'hypoglycémie sévère, en raison du retentissement cérébral, une tierce personne prend la relève. En l'absence de mesure adaptée, l'évolution vers un coma est possible. Dans les formes sévères, une injection intraveineuse de glucose est souvent nécessaire. Des hypoglycémies répétées peuvent être à l'origine d'une accoutumance appelée HAAF pour Hyperglycemia Associated Autonomic Failure. Les symptômes ne sont alors perçus par le patient que lorsque la glycémie chute aux alentours de 3 mmol/l.

Des études observationnelles européennes ont évalué l'incidence de survenue d'hypoglycémies sévères chez 35 à 42% des patients avec un taux moyen de 0,9 à 1,3 épisodes par an (Pramming, Thorsteinsson et al. 1991; ter Braak, Appelman et al. 2000). Les hypoglycémies sévères sont plus fréquentes après 15 ans que depuis moins de 5 ans d'évolution (46% versus 22%).

Les facteurs de risques d'hypoglycémies sont également l'âge avancé où la reconnaissance des symptômes est moindre et la perte de sécrétion endogène d'insuline majeure (détectée par des taux très faibles à indétectables de concentration du C-peptide plasmatique).

3.2.2. Complications chroniques

Les complications chroniques sont dues au moins en partie à la persistance malgré le traitement d'un taux de glucose circulant élevé, responsable d'altérations vasculaires. Ces angiopathies incluent les micro-angiopathies (atteintes des vaisseaux de petits calibres) et les atteintes des gros vaisseaux. Les principales complications des macro-angiopathies sont les infarctus du myocarde et les accidents vasculaires cérébraux précoces par accélération des processus d'athérosclérose. Ces deux complications sont responsables à elles seules de 50% des décès chez les diabétiques. Les atteintes vasculaires des membres inférieurs nécessitent parfois des amputations.

Les micro-angiopathies grèvent également lourdement le pronostic de la maladie diabétique. Malgré le traitement conventionnel actuel basé sur l'insulinothérapie, le risque de complications chroniques par micro-angiopathie a été évalué à 47% pour les rétinopathies et 17% pour les néphropathies. Les rétinopathies sont responsables d'apparition d'une cécité chez environ 2% des diabétiques de type 1. Chez un nombre plus important de diabétiques, estimé à environ 10%, elles ne conduisent pas à une cécité complète mais entraînent une baisse de l'acuité visuelle invalidante. Les micro-angiopathies rénales entraînent une insuffisance rénale plus ou moins importante. L'insuffisance rénale est responsable de 10% à 20% des décès chez les diabétiques. Les insuffisances rénales terminales nécessitant une transplantation ne sont pas rares (Nathan, Zinman et al. 2009).

Enfin les neuropathies diabétiques peuvent atteindre près de la moitié des patients ayant un diabète évoluant depuis plusieurs années. L'atteinte du système nerveux périphérique et autonome peut être responsable de nombreuses manifestations cliniques parfois aiguës et réversibles (mononeuropathie) ou chroniques (polynévrite, neuropathie douloureuse ou végétative) (Schlienger 2013)

Le moyen le plus efficace de réduire le risque de complications vasculaires et les neuropathies est l'obtention d'un contrôle glycémique optimal (Luzi and DeFronzo 1989).

3.3. Diabète de type 1 auto-immun

Le diabète de type 1 également connu sous le nom de diabète juvénile ou diabète insulino-dépendant est une maladie chronique auto-immune. Sa cause initiale reste débattue mais aboutit à la destruction des cellules β des îlots de Langerhans (Daneman 2006, Kosgren, Molin et al. 2012). Le début de la maladie est bimodal avec 2 pics à 4-6 ans et 10-14 ans d'âge (Desir, Van Cauter et al. 1982). Il n'y a pas de prédominance de sexe.

Bien que le diabète de type 1 ne représente que 5 à 10% des cas de diabète, 11 à 22 millions de personnes sont affectés dans le monde (World Health Organization Diabetes Fact Sheet n°312 August 2011 available at <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/index.html>. accessed April 19,2011). Selon l'InVS, l'incidence du diabète de type 1 chez l'enfant et l'adolescent en France aurait été de 13,5 individus pour 100 000 en 2004. Pour des raisons mal connues, l'incidence du diabète de type 1 est en phase de croissance non stabilisée (Daneman 2006).

Bien que l'espérance de vie des patients atteints de diabète s'est considérablement améliorée grâce à l'apport de l'insulinothérapie et au progrès de ses modalités d'administration (Borch-Johnsen 1999), les complications métaboliques aiguës et les complications chroniques du diabète affectent gravement la qualité de vie des patients et sont responsables de morbidité et mortalité notoires au sein de tous les pays industrialisés incluant la France.

3.3.1. Physiopathologie

Dans le diabète de type 1, l'hyperglycémie résulte de la destruction des cellules β des îlots de Langerhans, uniques cellules capables de sécréter de l'insuline. L'insuline est un polypeptide composé de 2 chaînes α et β . L'insuline est la seule hormone hypoglycémisante de l'organisme. Elle augmente la pénétration intracellulaire du glucose et son utilisation par les tissus insulinosensibles (muscles et tissu adipeux) en stimulant le transport du glucose et la glycolyse et indirectement en augmentant le taux d'acides gras plasmatiques. Elle diminue la libération du glucose par le foie en inhibant la glycogénolyse et la néoglucogenèse et en stimulant la glycogénèse et la glycolyse. Elle stimule la captation d'acides gras par le tissu adipeux et diminue la lipolyse du tissu adipeux et la cétogenèse hépatique. La sécrétion de l'insuline est stimulée par l'augmentation du glucose dans le sang. Sa libération se fait en deux temps : un pic bref durant environ 10 minutes est immédiat, son délai d'apparition étant de 5 à 10 minutes. Il est suivi par la seconde phase qui survient plus progressivement, atteint un plateau en 2 à 3 heures et persiste tant que la glycémie reste élevée. Des perturbations de la première phase est l'anomalie la plus précoce en cas de déficience fonctionnelle des cellules β .

Dans le diabète de type 1 auto-immun, l'hyperglycémie apparaît lorsque 80% à 90% des cellules β des îlots sont détruites. Le processus auto-immun responsable d'une insulite pancréatique débute ainsi de nombreuses années avant l'apparition de signes cliniques. Des facteurs génétiques et environnementaux sont responsables du déclenchement de cette maladie auto-immune. Les facteurs génétiques les mieux connus parmi les 20 gènes

identifiés sont les gènes HLA (Herold, Vignali et al. 2013). Les gènes de susceptibilité HLA confèrent à eux seul la majeure partie du risque génétique (Concannon, Rich et al. 2009). Parmi les facteurs environnementaux, les infections virales ont été fréquemment évoquées (Green, Casabonne et al. 2004; Hober and Sauter 2010, Ssane, Caloone et al. 2013) dont la rubéole congénitale et les infections par les virus Coxsackie ou cytomégalovirus ne sont que des exemples.

L'immunité cellulaire (dont lymphocytes T-CD8) joue un rôle déterminant dans la destruction des cellules β dont témoigne leur présence au sein de l'insulite qui caractérise le début de la maladie (Velthuis, Unger et al. 2010; Unger, Velthuis et al. 2011). Le diabète insulino-dépendant est également associé à la production d'anticorps. Ces anticorps n'ont pas en eux-mêmes de rôle pathogène. La meilleure démonstration est l'absence de destruction des cellules β chez les nouveau-nés issus de mères atteintes de diabète de type 1 malgré le passage transplacentaire de ces anticorps au cours du troisième trimestre de la grossesse. La présence de ces anticorps a par contre un intérêt diagnostique dans 2 situations 1) le dépistage de diabète de type 1 au stade préclinique chez les individus à haut risque (membre de la famille d'un cas par exemple) (Vandemeulebroucke, Keymeulen et al. 2010), 2) pour distinguer les diabètes de type 1 des diabètes de type 2 lorsque toutes les caractéristiques ni de l'une ni de l'autre forme de la maladie ne sont retrouvées. Ces anticorps peuvent également aider à la classification du diabète auto-immun (Vermeulen, Weets et al. 2011).

L'insuline et le glucagon agissent de concert pour réguler la glycémie (Dunning and Gerich 2007; Quesada, Tuduri et al. 2008). Le glucagon est une hormone hyperglycémisante dont la sécrétion par les cellules α des îlots est activée par l'hypoglycémie. Selon la sévérité de l'hypoglycémie, trois mécanismes sont mis en jeu : 1) le système nerveux central, 2) le système nerveux autonome et 3) l'action paracrine des cellules β sur les cellules α . Au cours du diabète de type 1, la sécrétion du glucagon par les cellules α est perturbée (Gerich, Langlois et al. 1973; Bolli, de Feo et al. 1983; Butler and Rizza 1991; Quesada, Tuduri et al. 2008).

Au début de la maladie, une hypersécrétion du glucagon est observée au cours des repas responsable d'une hyperglycémie qui pourrait contribuer aux complications chroniques du diabète. Au cours de l'évolution de la maladie, une hyposécrétion est observée. Les mécanismes couplant la destruction des cellules β au dysfonctionnement des cellules α au cours du diabète de type 1 sont mal connus (Gaisano, Macdonald et al. 2012).

Un des mécanismes récemment identifié est la diminution du nombre des terminaisons nerveuses dans les îlots de patients atteints de diabète de type 1 auto-immun.

Cette neuropathie est observée sélectivement dans la forme auto-immune du diabète de type 1 aussi bien chez l'Homme que dans les modèles animaux (Mei, Mundinger et al. 2002; Taborsky, Mei et al. 2009). Un deuxième mécanisme plus spéculatif consisterait en des altérations de l'activité paracrine des cellules β sur les cellules α secondaires à la destruction des cellules β (Taborsky and Mundinger 2012).

3.3.2. Symptômes inauguraux et diagnostic biologique du diabète de type 1 auto-immun

Les premiers symptômes sont liés à l'apparition d'une hyperglycémie. Ils peuvent survenir brutalement en quelques jours ou en quelques semaines associant de façon variable polyurie, polydipsie et un amaigrissement associé paradoxalement à un appétit plus développé. L'évolution du diabète est très variable d'un individu à l'autre. Chez certains patients, particulièrement les enfants et les adolescents, un coma acidocétosique inaugural peut révéler la maladie. D'autres patients présentent un diabète initialement modéré évoluant rapidement secondairement avec des hyperglycémies sévères associées à une acidocétose. Cette accélération de la maladie peut survenir au décours d'un épisode infectieux ou d'un stress. Au stade d'acidocétose, les patients ont des capacités faibles voire absentes de sécrétion d'insuline que traduit un taux de C-peptide extrêmement bas voire indétectable. Le traitement du diabète est basé sur l'insulinothérapie (voir chapitre correspondant).

Le diabète auto-immun évolue sur plusieurs années. Les signes cliniques n'apparaissent comme on l'a vu que lorsque 80% des îlots sont détruits. Le diagnostic peut être clinique au vu de l'association hyperglycémie, cétose et maigreur chez un individu de moins de 35 ans. Si un des critères manque, on peut étayer le diagnostic par la recherche d'auto-anticorps dirigés contre la décarboxylase de l'acide glutamique (GAD), les îlots (ICA) et l'antigène IA2 (Islet Antigen number 2). Plus accessoirement, le typage HLA révèle l'existence de facteurs génétiques de susceptibilité (hétérozygotie HLA-DR3/4 associée à HLA-DQ*03:02). La mesure du peptide C à l'état basal ou après stimulation (glucagon ou repas test) est rarement nécessaire en dehors de protocole de recherche où la sécrétion endogène résiduelle doit être mesurée.

3.4. Diabète anatomique

Un diabète anatomique est secondaire à une atteinte anatomique du pancréas endocrine. A l'opposé du diabète de type 1 et du diabète de type 2 qui ont été largement étudiés, le diabète anatomique reste relativement méconnu car peu évalué dans la pratique clinique courante. Cette entité n'est que rarement diagnostiquée (Ewald, Kaufmann et al.

2012). Le diabète de type 3c est défini par l'ADA et la WHO comme une pathologie pancréatique touchant le tissu pancréatique exocrine et endocrine à l'origine du diabète. Les diabètes anatomiques sont le plus souvent secondaires à une pathologie bénigne (Price, Cole et al. 2010), parmi lesquelles la pancréatite chronique est la plus fréquente (Ewald, Kaufmann et al. 2012). Les autres pathologies pancréatiques sous-jacentes les plus fréquentes sont les pancréatites aiguës, la mucoviscidose, l'hémochromatose, les traumatismes pancréatiques, les cancers du pancréas et plus rarement une agénésie du pancréas et bien sûr les pancréatectomies (Dabelea, Pihoker et al. 2011; Expert Committee 2003).

La prévalence de cette pathologie était estimée dans des études anciennes à 0,5-1,15% des diabétiques en Amérique du Nord. Une série rétrospective récente suggère que cette pathologie, représenterait en fait jusqu'à 15-20% de la population des sujets diabétiques en Asie et 8% en Occident (Abu-Bakare, Taylor et al. 1986; Ewald, Kaufmann et al. 2012).

La caractéristique principale de ce type de diabète est son association à une insuffisance pancréatique exocrine d'intensité variable et l'absence de marqueurs de diabète auto-immun ou d'insulinorésistance (Wallace, Levy et al. 2004). L'équilibre glycémique dépend de l'intensité de l'atteinte pancréatique allant d'un léger dysfonctionnement au stade de diabète instable avec de fréquentes hypoglycémies (Larsen, Hilsted et al. 1987). Le mécanisme physiopathologique principal serait la perte de contre-régulation des hormones hyperglycémiantes dont le modèle extrême est la pancréatectomie totale. Si l'étude de Jindal et al. suggère qu'un équilibre glycémique stable peut être obtenu après pancréatectomie totale (Jethwa, Sodergren et al. 2006), des études approfondies accompagnées d'un meilleur suivi, ont bien confirmé l'instabilité majeur du diabète après pancréatectomie totale (Muller, Friess et al. 2007; Parsaik, Murad et al. 2010). Ainsi, Parsaik et al. ont rapporté dans un suivi à long terme de patients ayant subi une pancréatectomie totale des d'hypoglycémies chez 80% des patients dont 30% avaient des hypoglycémies sévères. Les causes de la mortalité importante rapportée dans cette étude alors qu'il s'agissait de pathologies bénignes sont méconnues. Le taux important d'hypoglycémies sévères chez ces patients suggère néanmoins leur responsabilité dans la surmortalité observée. L'étude de Muller et al. renforce cette hypothèse en rapportant un taux d'hypoglycémies postopératoires immédiates proche de 20% selon la classification de Dindo et al. (Dindo, Demartines et al. 2004) où seules les complications sévères nécessitant un séjour en réanimation pour hypoglycémie sévère le mois suivant l'intervention sont prises en compte. Ainsi, les complications métaboliques d'une pancréatectomie totale ne devraient plus être appréciées en terme de quantité

d'insuline exogène nécessaire ni en terme du taux d'HbA1c comme le suggère Jeethwa et al. Mais devraient inclure également les complications métaboliques aiguës telles que les hypoglycémies.

En conséquence, la pancréatectomie totale est un geste peu réalisé en pratique clinique. Une pancréatectomie partielle lui est préférée car elle permet d'épargner une partie du parenchyme pancréatique. Certaines études font état d'un taux de diabète après spléno pancréatectomie de 8% en post opératoire immédiat (Shirakawa, Matsumoto et al. 2012). Mais ce chiffre est faussement rassurant, car toute résection même partielle du parenchyme pancréatique réduit de façon irréversible la masse de cellules bêta fonctionnelles. Au cours d'une étude longitudinale chez des patients atteints de tumeurs pancréatiques bénignes, Menge et al ont récemment montré que la résection de 50% du pancréas entraînait une diminution de moitié de la sécrétion d'insuline, associée à une détérioration de la glycémie à jeun et postprandiale (Slezak LA, Andersen DK 2001; Menge BA, Schrader H, 2009). Seuls 40% des donneurs ayant subi une héli-pancréatectomie en vue d'une allogreffe intrafamiliale - donc en l'absence de pathologie pancréatique préexistante - gardent un métabolisme glucidique normal ; 40% d'entre eux développent une intolérance au glucose, et 20% un diabète. Ce risque est encore nettement accru en cas de surpoids (Robertson RP, Seaquist ER 2002, Kumar AF, Gruessner RW 2008).

Ces conséquences métaboliques sont fréquemment reléguées au second plan face à la lourde morbi-mortalité de la chirurgie pancréatique. En effet, malgré les nombreux efforts consentis, la chirurgie pancréatique conserve une mortalité élevée de l'ordre de 5 % (Finks, Osborne et al 2011). La morbidité avoisinant 1 patient sur 2, est principalement liée au risque de fistule pancréatique. Les principales études récentes récapitulant la morbidité d'une pancréatectomie sont résumées dans le tableau ci dessous. Ces fistules sont d'autant plus redoutables en cas d'anastomose digestive associée (Iacono C, Verlato G 2013, McPhee, Hill et al. 2007). Les principaux facteurs de risque de fistule sont un parenchyme sain, un canal de Wirsung fin et l'obésité, récemment démontrée (Tranchart, Gaujoux et al. 2013). Ce risque opératoire est donc plus modéré chez les patients atteints de pancréatite chronique. Il semble légitime à prendre dans les pathologies au pronostic particulièrement sombre comme l'adénocarcinome du pancréas mais reste néanmoins controversé dans les pathologies bénignes telles que l'insulinome ou le traumatisme pancréatique. Cette problématique est particulièrement vraie dans la prise en charge d'une TIPMP qui peut amener à une résection tumorale étendue alors que l'évolution tumorale est incertaine. (Couvelard, Sauvanet et al. 2005)

Tableau 1 : récapitulatif des complications de la chirurgie pancréatique

Etude, année de publication	N	Complication N (%)	Fistule pancréatique N (%)	Gastroparésie N(%)	Hémorragie N(%)	Réintervention N (%)
Duodéno pancréatectomie						
Muscari, 2005	300	117 (39)	50 (17)		18 (6)	-
Winter, 2006	1175	415 (35)	52 (5)	161 (15)	-	35 (3)
Reid-Lombardo, 2007	1507	-	196 (13)	187 (13)	54 (4)	53 (4)
Braga, 2011	700	432 (62)	200 (28)	105 (15)	36 (5)	56 (8)
Assifi, 2012	553	272 (49)	61 (11)	31 (6)		
Pancréatectomie Distale						
Kooby, 2008	342	170 (50)	99 (29)	-	-	6 (2)
Kleef, 2007	302	105 (35)	35 (12)	14 (5)	10 (3)	29 (9)
Goh, 2008	232	107 (47)	72 (31)	-	-	11 (5)
Ferrone, 2008	462		133 (29)	-	-	-
Nathan, 2009	704	232 (32)	203 (29)	-	-	40 (6)

3.5. Traitement du diabète de type 1 et 3C

3.5.1. Traitement substitutif

Depuis la découverte de l'insuline en 1921, le traitement substitutif consistant à palier l'insuffisance de sécrétion d'insuline repose sur l'insulinothérapie. Il est maintenant bien démontré qu'un bon équilibre glycémique (HbA1C <7% pour une normale de 4 à 5,6, soit une glycémie moyenne inférieure à 1,50g/l) permet de prévenir l'apparition de complications sévères de micro-angiopathies, rétinopathies, glomérulopathies et neuropathies. Pour ce faire, les schémas d'insulinothérapie actuellement proposés visent à reproduire la sécrétion physiologique c'est-à-dire une sécrétion basale à laquelle s'ajoutent des pics de sécrétion adaptés aux besoins à l'occasion des repas. Ces pics peuvent être apportés soit par des bolus d'insuline avant chaque repas, soit par l'utilisation d'une pompe portable perfusant par voie sous-cutanée de l'insuline rapide avec un débit de base modulé par des bolus à la demande avant les repas. La surveillance de l'insulinothérapie par voie exogène est basée sur l'analyse de l'hémoglobine glyquée. Le principe de cette analyse est la fixation irréversible du glucose sur toutes les hémoglobines. L'hémoglobine glyquée reflète l'équilibre des 2 à 3 mois précédents. L'objectif est d'atteindre une valeur inférieure ou égale à 7% d'hémoglobine totale (correspondant à une glycémie moyenne de 1,5g/L).

L'insulinothérapie permet la survie des patients mais ne permet qu'un contrôle sub-optimal du métabolisme glucidique. Les effets secondaires de l'insulinothérapie sont principalement les hypoglycémies parfois mortelles, plus rarement une prise de poids excessive, exceptionnellement une allergie.

3.5.2. Stratégies thérapeutiques pour la prévention des hypoglycémies sévères

Le traitement des hypoglycémies sévères est préventif basé sur l'éducation du patient et des ajustements de l'insulinothérapie. Ces ajustements concernent la nature de l'insuline, son dosage, et son mode d'administration. Les analogues de l'insuline ont fait la preuve de leur efficacité dans la prévention des hypoglycémies nocturnes (Siebenhofer, Plank et al. 2006; Monami, Marchionni et al. 2008). L'injection continue sous-cutanée d'insuline à l'aide d'une pompe est la technique de choix lorsqu'un taux d'hémoglobine glyquée <8,5% ne peut pas être obtenu malgré un ajustement optimal des doses (Hanaire, Lassmann-Vague et al. 2008). L'obtention, dans cette situation, d'une diminution de risque d'hypoglycémies sévères est controversée (Pickup and Sutton 2008; Bolli, Kerr et al. 2009). Une avancée importante a été apportée par l'utilisation de moniteurs continus de la glycémie. Dans la plupart des études, l'utilisation de ces systèmes a été associée à une diminution du risque d'hypoglycémies sévères (Jeha, Karaviti et al. 2004; Garg, Zisser et al. 2006). Une étude a néanmoins rapporté que le monitoring continu n'avait pas d'incidence sur les hypoglycémies (Tamborlane, Beck et al. 2008).

3.5.3. Transplantation de l'organe pancréatique

Si l'insuline a permis d'éviter les décès aigus, elle présente plusieurs limites dominées par le risque d'épisodes d'hypoglycémies parfois fatales et associées à un impact négatif sur la vie personnelle et sociale (Cryer 2005; Cryer 2008) et à un équilibre glycémique instable avec son cortège de risques vasculaires (Nathan, Cleary et al. 2005; Clinical Trial. 1993)

Contrairement aux transplantations hépatiques, pulmonaires ou cardiaques, l'objectif des transplantations pancréatiques n'est pas la survie à court terme mais l'amélioration de la qualité de vie des patients. Les avantages de cette chirurgie doivent en conséquence être contrebalancés par les risques de l'acte chirurgical (Han and Sutherland 2010).

Le premier cas de transplantation pancréatique a été rapporté aux Etats-Unis en 1966. Après une augmentation continue du nombre total annuel de transplantations pancréatiques dans le monde ce nombre a commencé à diminuer à partir de 2004. De nos jours plus de 32 000 transplantations pancréatiques ont été rapportées par le registre international de transplantation pancréatique (www.iptr.umn.edu). Actuellement environ 1300 transplantations pancréatiques sont réalisées annuellement aux Etats-Unis (Gruessner, Sutherland et al. 2010) et environ 1100/an dans les autres pays du monde (Perosa, Boggi et al. 2011).

La transplantation pancréatique allogénique à partir d'un donneur décédé est une stratégie acceptée pour traiter une catégorie limitée de diabétique de type 1. En règle générale, la transplantation pancréatique est indiquée chez les diabétiques au stade d'insuffisance rénale terminale à l'occasion d'une transplantation rénale. Une double transplantation à partir du même donneur est la procédure la plus fréquente. Plus rarement deux donneurs décédés successifs (rein puis pancréas) ou un donneur décédé (pancréas) et un donneur vivant (rein) peuvent être utilisés.

Dans ces indications, la transplantation pancréatique dont l'objectif est de stabiliser le métabolisme glucidique, permet d'améliorer la qualité de vie des patients, de limiter voire supprimer les besoins en insuline et stabiliser les complications à long terme du diabète (Lipshutz and Wilkinson 2007). Cette stratégie permet également d'augmenter la durée de vie des patients comparativement aux diabétiques en insuffisance rénale sous hémodialyse ou ne bénéficiant que d'une transplantation rénale (Ojo, Meier-Kriesche et al. 2001; van Dellen, Worthington et al. 2013). Outre l'immunosuppression à vie exposant les patients aux risques infectieux et néoplasiques les complications directement liées à l'acte chirurgical ne sont pas rares (Steurer, Malaise et al. 2005; Troppmann 2010). La morbidité-mortalité survenant dans les temps précoces est rapportée dans une revue récente (Tavakoli and Liang 2012).

Les complications précoces les plus fréquentes sont les rejets immunologiques du greffon, les pancréatites, les collections liquidiennes intra-pancréatiques, l'insuffisance pancréatique exocrine, les thromboses vasculaires et les complications hémorragiques. Ainsi la survie à 5 ans est de 87% pour les transplantations simultanées rein-pancréas, 83% pour les transplantations pancréatiques postérieures aux transplantations rénales et 89% pour les transplantations pancréatiques isolées et le taux d'insulino-indépendance varie de 81% à 89% (Marchetti, Occhipinti et al. 2013). Ainsi, les patients ayant un risque important de morbidité-mortalité sont exclus des indications de pancréatectomie (Gruessner, Sutherland et al. 2012).

La transplantation d'îlots a été décrite presque simultanément à la greffe de pancréas avec l'espoir d'une égale efficacité dans un contexte de moindre agressivité. Le processus de transplantation d'îlots comporte l'isolement d'îlots fonctionnels à partir du pancréas d'un donneur non diabétique. Ces îlots sont ensuite injectés dans la procédure standard par voie intra-portale où ils migrent vers les sinus hépatiques richement vascularisés. Il s'agit d'une greffe hétérotopique, jugée préférable aux transplantations intra-pancréatiques exposant au risque de pancréatites sévères (Morrow, Cohen et al. 1984).

En 2012, un workshop international s'est tenu en Grèce. A cette occasion, les

résultats comparatifs des transplantations de l'organe pancréatique et des îlots ont été abordés. Ces résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2 : récapitulatif des résultats de transplantations pancréatiques et d'îlots

	<i>Pancréas</i>	<i>Îlots</i>
1 ^{er} cas rapporté	1966 (Minneapolis)	1974 (Minneapolis)
Nombre de cas rapportés en 2012	environ 30 000	environ 1 600
Absence d'insulinothérapie		
à 1 an	85%	80%
à 5 ans	70%	20-50%
Greffe fonctionnelle à 5 ans	70%	70%
Complications	Chirurgie lourde (fréquente-sévère)	Technique mini invasive (rare)
	Thromboses	Hémorragie
	Pancréatites	Thrombose portale
	Péritonites	
Mortalité	4%	0%
Nombre de donneurs	1	1-4

D'après Papas KK, Karatzas T et al. Clinical Transplantation 2013

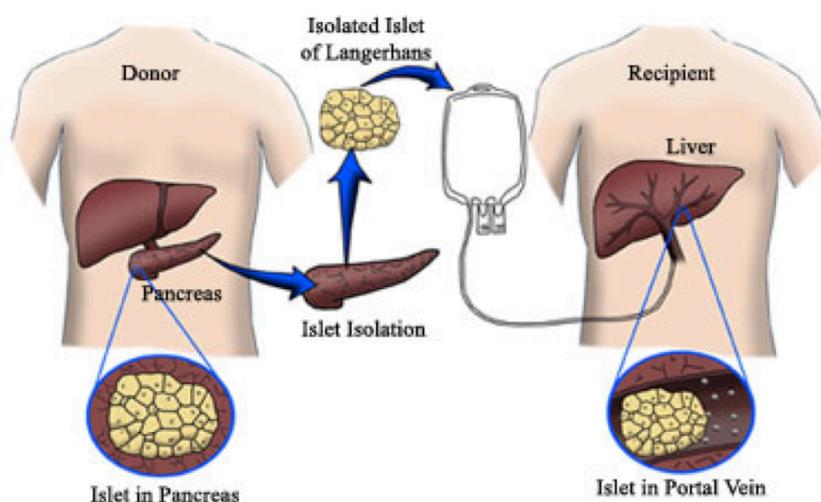
4. La greffe d'îlots de Langerhans

4.1. Greffe d'îlots allogéniques

4.1.1. Le contexte

La transplantation d'îlots a ainsi trouvé une place dans les formes de diabète de type 1 lorsque les accidents hypoglycémiques sévères restent fréquents malgré une éducation optimale du patient associée aux tentatives infructueuses de stabiliser la glycémie par de l'insuline exogène en utilisant toutes les approches mentionnées ci-dessus. Les transplantations d'îlots, si elles ne permettent pas de sevrer d'insuline exogène à long terme tous les patients ont en effet fait la preuve de leur efficacité dans la prévention des complications hypoglycémiques sévères. La possibilité d'éliminer une grande partie du contingent exocrine lors d'une greffe d'îlots de Langerhans ainsi que la facilité de procédure sans nécessité d'anastomose digestive a permis de diminuer la mortalité et la morbidité du geste en laissant la possibilité de restaurer une fonction endocrinienne (Shapiro, Lakey et al. 2000). Le principe général de la voie portale actuellement référente est décrit dans la [*figure 1*](#).

Figure 1 : Principe



D'après Camillo Ricordi & Terry B. Strom. Nature Review Immunology 2004.4:259-268.

Des progrès considérables ont été obtenus en transplantation d'îlots aux cours des dernières années. Depuis 2000, Shapiro et collaborateurs (Edmonton-Canada) rapportent une avancée majeure à partir d'une série de 7 patients tous devenus insulinodépendants à 1 an d'une transplantation d'îlots (Shapiro, Lakey et al. 2000). Ce succès a fait naître de grands espoirs reproduits ultérieurement par plusieurs équipes (Chang, Scudamore et al. 2004). Une large application de cette thérapie cellulaire est encore à ce jour limitée par des problèmes de disponibilité d'organe (aujourd'hui 2 à 4 pancréas sont nécessaires pour transplanter 1 patient). Des progrès restent à faire à tous les niveaux pour améliorer cette situation tant l'optimisation de l'isolement et la préservation des îlots que le maintien de leur viabilité et fonctionnalité à court, moyen, et long termes (Robertson 2001; Lakey, Burridge et al. 2003; Ricordi and Strom 2004; Narang and Mahato 2006).

4.1.2. Le prélèvement et le transport

La technique habituelle de préparation des îlots implique le prélèvement d'un pancréas sain chez un donneur cadavérique en état de mort encéphalique (Hubert, Arnalsteen et al. 2005). Le prélèvement doit préserver la capsule pancréatique intacte mais ne se soucie pas de la conservation vasculaire, facilitant la coopération des équipes impliquées dans le prélèvement d'organes. Les îlots sont alors transportés sur glace sur le site de production de la préparation à greffer. Certaines équipes utilisent pour le transport la

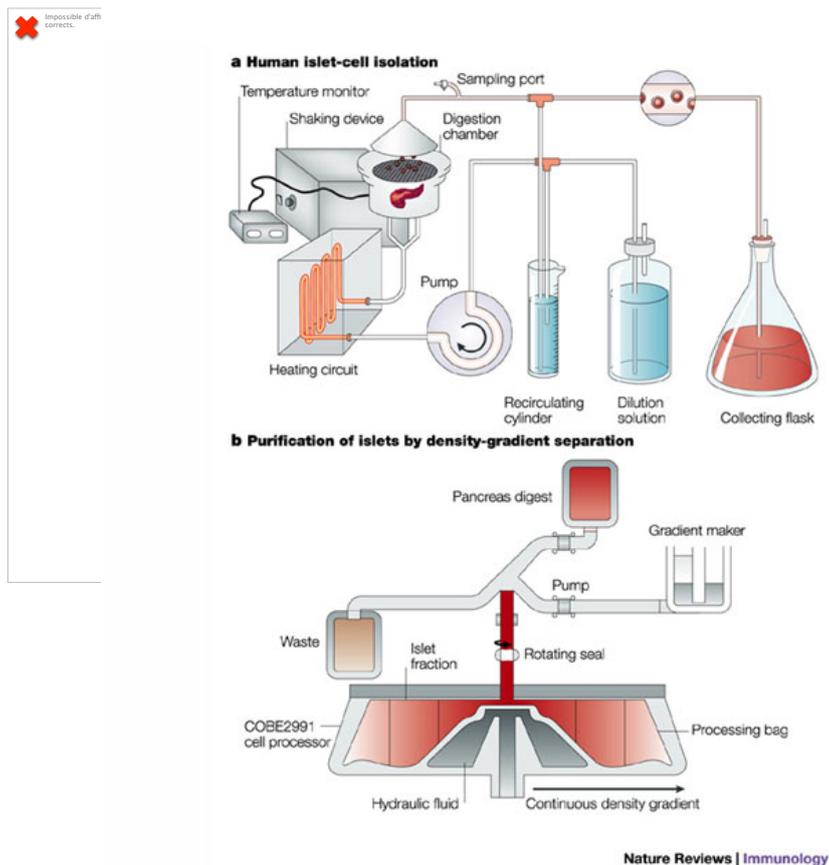
technique « Two Layer », consistant à conserver le pancréas à l'interface entre du liquide de conservation et du perfluorocarbure enrichi en oxygène. Ceci permet d'améliorer la conservation du pancréas (Kuroda, Kawamura et al. 1988; Hering, Matsumoto et al. 2002; Matsumoto, Qualley et al. 2002).

4.1.3. Isolement des îlots

La qualité des îlots isolés est un point clé de la procédure (Keymeulen, Korbitt et al. 1996; Keymeulen, Ling et al. 1998; Balamurugan, Chang et al. 2003). L'isolement inclut la dissociation des îlots du tissu exocrine par digestion enzymatique associée à une agitation mécanique. Les îlots sont ensuite purifiés par un gradient de centrifugation. Un point délicat est la durée du traitement par la collagénase et la concentration de celle-ci pour assurer une dissociation de qualité tout en gardant la viabilité et l'intégrité des îlots.

Depuis les premiers rapports de correction du diabète induit chez le Rongeur en 1972 et les premières tentatives d'autogreffes et allogreffes d'îlots cliniques dans les années 1980, de nombreuses avancées ont permis d'améliorer les résultats initiaux ces dernières années (Ballinger and Lacy 1972; Largiadere, Kolb et al. 1980; Najarian, Sutherland et al. 1980; Sutherland, Matas et al. 1980). Le développement d'une technique semi-automatique standardisée de traitement des îlots a marqué une étape essentielle (Ricordi, Lacy et al. 1988) (*figure2*).

Figure 2 : Technique semi-automatisée standardisée de traitement des îlots



Plusieurs tests qualitatifs et quantitatifs peuvent être utilisés pour vérifier la qualité du produit cellulaire après purification. Ces tests incluent en particulier le nombre d'îlots/kg chez les donneurs décédés (>5000 équivalents îlots/kg de poids du donneur), le volume du culot de la préparation (<7ml de tissu), la pureté en cellules d'îlots (>30%) et la viabilité des cellules (>70% par la technique d'inclusion de fluorescence ou d'exclusion d'un marqueur colorant les cellules mortes).

La nécessité de purifier les îlots reste néanmoins débattue (Gores and Sutherland 1993; Webb, Dennison et al. 2012). Les principales critiques émises contre cette technique sont l'induction d'un traumatisme supplémentaire et la perte de 30 à 50% des îlots. Des îlots non purifiés sont ainsi utilisés de manière courante dans les autogreffes intra-portales (Bramis, Gordon-Weeks et al. 2012). La persistance de tissu exocrine pourrait par ailleurs contribuer à la genèse de nouveaux îlots par transdifférenciation (Bonner-Weir, Taneja et al. 2000). A contrario, la purification des îlots permet de diminuer le volume de la préparation d'îlots injectés diminuant ainsi le risque de thrombose lors de la greffe (Casey, Lakey et al. 2002). Le nombre d'îlots greffés est déterminant pour le succès de cette technique (Keymeulen, Gillard 2006). Le rendement limité et hautement variable d'un isolement à l'autre reste donc un obstacle majeur (Hubert, Strecker et al. 2008). Dans de nombreux cas,

la réunion de plusieurs donneurs est nécessaire pour obtenir un nombre suffisant d'îlots (10000 IEQ/kg). Ces îlots sont soit greffés conjointement après réunion de plusieurs isollements en culture (Roep, Stobbe et al. 1999), soit par plusieurs greffes séquentielles comme nous le réalisons (Pattou, Vantyghem 2000)

4.1.4. Le geste chirurgical

La procédure standard chez l'Homme repose sur la greffe intra-hépatique par injection de la préparation dans la veine porte. La voie d'abord la plus commune est une voie percutanée par ponction de la veine porte, les îlots se fixant dans les capillaires sinusoides. Néanmoins, cette voie dite classiquement mini invasive semble provoquer plus de complications que la cathétérisation chirurgicale d'une veine mésentérique (Gao, Ai et al. 2012).

Figure 3 : complication de la greffe d'îlots par ponction portale percutanée



D'après R. Caiazzo (non publié)

4.1.5. L'immunosuppression

Une immunosuppression non spécifique (généralisée) est un pré-requis indispensable pour prévenir les rejets immunologiques allo- et autoimmuns dans les

allogreffe chez les patients diabétique de type 1. Les premiers protocoles d'immunosuppression incluaient de l'azathioprine, de la ciclosporine et des corticoïdes diabétogènes et toxiques pour les îlots (Drachenberg, Klassen et al. 1999).

Après des succès mitigés dans les années 90, l'équipe d'Edmonton a été la première à décrire un taux de succès remarquable à 1 an par la transplantation séquentielle d'îlots provenant de 2 voire davantage de pancréas en utilisant un cocktail d'immunosuppresseurs excluant les corticoïdes. Même si l'évolution à long terme s'accompagne d'une perte de fonction endocrine avec seulement 10% de patients insulinoindépendants à 5 ans (Ryan, Paty et al. 2005), ce protocole a largement contribué à développer cette thérapeutique à partir des années 1990 (Scharp, Lacy et al. 1990; Tzakis, Ricordi et al. 1990; Scharp, Lacy et al. 1991; Warnock, Kneteman et al. 1991; Warnock, Kneteman et al. 1992; Gores, Najarian et al. 1993; Soon-Shiong, Heintz et al. 1994; Carroll, Rilo et al. 1995; Luzi, Hering et al. 1996; Alejandro, Lehmann et al. 1997; Secchi, Socci et al. 1997; Keymeulen, Ling et al. 1998; Oberholzer, Triponez et al. 2000; Shapiro, Lakey et al. 2000).

4.1.6. Résultats actuels

Ainsi, depuis l'essai international d'Edmonton et ses résultats encourageants à long terme, le nombre de greffes d'îlots dans le monde n'a cessé de croître et les résultats de s'améliorer. Le taux de succès estimé grâce au registre CITR rapportant 412 allogreffes chez 257 receveurs est de 27% de patients insulinoindépendants à 3 ans. Les résultats de la greffe d'îlots ont continué de s'améliorer depuis avec en 2009 une fonction des greffons rapportée chez 64% de patients devenus insulinoindépendants à 2 ans malgré une large disparité des résultats en fonction des équipes (Shapiro, Ricordi et al. 2006; Vantyghem, Kerr-Conte et al. 2009). Certains centres ont par ailleurs obtenu plus de 50% d'insulinoindépendance à 5 ans grâce à l'optimisation de l'immunosuppression (Hering, Kandaswamy et al. 2004) ou de la force initiale du greffon (Vantyghem, Kerr conte et al. 2009). Dans cette dernière étude, le taux de fonction partielle du greffon était de 57%. Si l'on considère que le premier objectif de la greffe d'îlots est d'améliorer l'équilibre glycémique des patients diabétiques afin d'en diminuer les complications, la greffe d'îlots est un succès. Cette technique a en effet fait la preuve de son intérêt en terme d'amélioration de la qualité de vie et de diminution du risque d'hypoglycémie (Zhou, Zhang et al. 2008). En effet la disparition des hypoglycémies est observée avec une fonction partielle du greffon, et une fonction optimale du greffon permet la normalisation de l'équilibre glycémique (Vantyghem, Raverdy et al. 2012). Ainsi, lorsque la fonction du greffon est bonne, la greffe ectopique d'îlots même en situation allogénique permet de restaurer une sécrétion d'insuline endogène

et régule ainsi un équilibre glycémique quasi physiologique. La recherche d'une insulinoindépendance à long terme reste néanmoins un objectif à atteindre qui permettrait de prévenir les complications métaboliques aiguës mais également d'améliorer ou de stabiliser les complications micro-vasculaires et macro-vasculaires chez le patient diabétique (Fiorina, Gremizzi et al. 2005; Fiorina, Venturini et al. 2005; Warnock, Thompson et al. 2008). Récemment, un équilibre stable a pu être décrit par T Berney et al. (Berney, Ferrari-Lacraz et al. 2009)

Parmi les principaux obstacles au succès total de la greffe d'îlots, on compte l'inadéquation entre l'offre en pancréas prélevés et la demande. Cette situation est un frein majeur au développement de la technique. Dans un contexte de pénurie d'organe, la nécessité de l'infusion de 2-3 préparations par patient reste trop lourde pour la généralisation de cette technique. Par ailleurs, la restauration d'une insulinosécrétion se fait aux dépens d'une immunosuppression qui est toxique pour les îlots et le patient. Malgré les recherches intensives consenties dans l'objectif d'améliorer les résultats de la greffe intra-hépatique, ce site de référence historique est loin d'être optimal.

4.2. Autogreffe d'îlots de Langerhans

4.2.1. Le contexte

La principale indication de l'autogreffe d'îlots est la pancréatectomie pour pancréatite chronique. L'objectif de l'autogreffe est de diminuer les conséquences métaboliques du geste chirurgical. Parmi les patients souffrant de pancréatite chronique, moins de la moitié sont opérés pour des douleurs résiduelles ou plus rarement pour d'autres complications liées à la pancréatite (Ahmed, Wray et al. 2006). Une pancréatectomie totale exposant au risque de diabète associé à des hypoglycémies sévères en l'absence de sécrétion de glucagon résiduel n'est indiquée qu'en dernier recours (Parsaik, Murad et al. 2010). Une autogreffe d'îlots est la seule thérapeutique dans ce contexte qui puisse permettre d'éviter une perte complète de la fonction endocrine pancréatique (Blondet, Carlson et al. 2007). Ce traitement peut également être indiqué pour d'autres pathologies pancréatiques bénignes telles que les tumeurs kystiques, les insulinomes et autres tumeurs neuroendocrines (Blondet, Carlson et al. 2007).

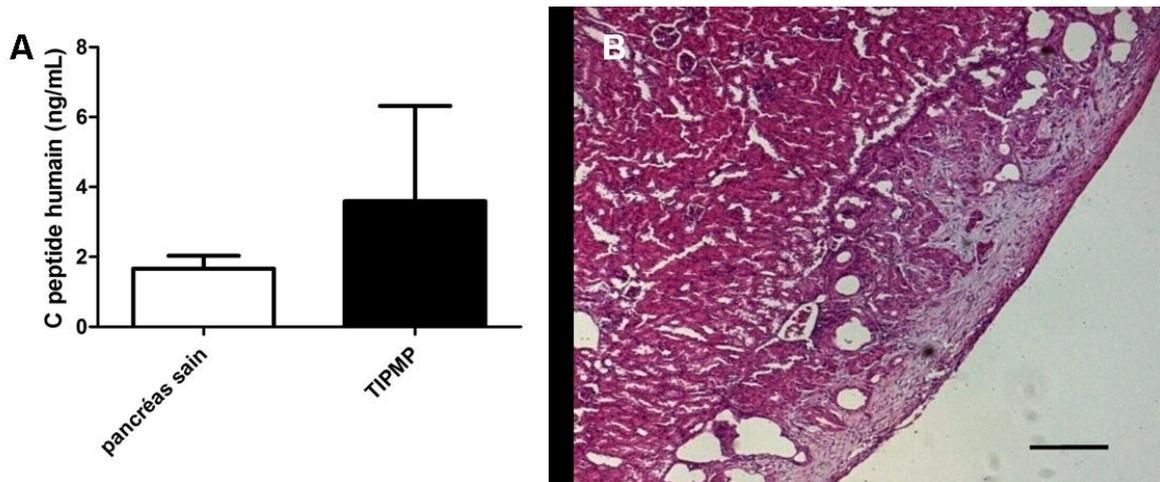
4.2.2. La procédure d'isolement

Si le prélèvement du pancréas ne diffère peu d'une pancréatectomie réglée, l'isolement est souvent plus difficile. L'isolement des îlots à partir de pancréas pathologiques reste généralement possible même si son rendement est souvent limité (Blondet et Carlsson

2007). La problématique est d'autant plus importante en cas d'isolement d'îlots provenant de pancréas tumoraux, notamment en cas de TIPMP (Tumeur intracanaulaire papillaire et mucineuse du pancréas) où l'atteinte peut être diffuse (Couvelard, Sauvanet, 2005). Ces tumeurs rares à évolution potentiellement maligne, peuvent imposer une pancréatectomie totale et induire un diabète anatomique sévère tel que décrit précédemment (Couvelard, Sauvanet 2005). Outre ce risque post chirurgicale, cette tumeur en elle même est étroitement liée au risque de diabète (Capruso, Borca, 2013). Lors de l'isolement et de la greffe de ce type de pancréas trois questions restent en suspens : le rendement d'isolement sur un pancréas polykystique, la capacité fonctionnelle des îlots isolés, ainsi que la capacité de la purification à assurer une élimination des cellule tumorale suffisante pour rendre le risque de récurrence tumorale acceptable. Au cours de l'année 2009, nous avons confirmé la faisabilité de l'isolement d'îlots provenant de 2 patients atteints de TIPMP et opérés (figure 4). La technique habituelle d'isolement nous a permis d'obtenir un nombre adéquat d'îlots équivalents (IE). Les tests fonctionnels et de viabilité in vitro (insuline intracellulaire, insuline sécrétée, viabilité cellulaire) étaient comparables aux préparations greffées en intra-hépatique au CHRU de Lille. Après l'isolement et la purification des îlots, 1000 IEQ ont été greffés sous la capsule rénale de Souris Nude selon la méthode QIVIPA décrite par notre équipe (Caiazza, et Gmyr 2008). Cette technique permet d'évaluer la capacité fonctionnel des îlots isolés à l'aide du dosage du C peptide humain (ne croisant pas avec le C peptide murin) à distance de la xenogreffe. Dans le cadre de ces deux isolements, trois mois après la greffe, un dosage de C peptide humain a confirmé la bonne fonction des greffons. L'absence de récurrence tumorale dans ce délai, malgré la présence de tumeur canalaire diffuse, semble indiquer la possibilité d'envisager cette stratégie sans risque important de récurrence.

Figure 4 : Isolement d'îlots à partir de pancréas pathologique

Sites	Pureté de la couche A (%)	Viabilité	Insuline basale/stimulée
Année 2008	71,3 ± 20,4	94,2 ± 2,9	2,3 ± 0,9
TIPMP 1	70	92,9	1,58
TIPMP 2	50	87,3	1,59



A. absence de différence de fonction dans le modèle QIVIPA entre des îlots provenant d'un pancréas sain (n=9) ou d'un pancréas atteint de TIPMP (n=5). B. absence de récurrence tumorale 3 mois après la greffe d'îlots de pancréas atteint de TIPMP (n=5).

D'après Sterkers et al. JFHOD, Paris 2008 (poster)

4.2.3. Résultats actuels

La première autogreffe à été réalisée à l'Université du Minnesota en 1977 (Sutherland, Matas et al. 1978). Il s'agissait d'une patiente chez laquelle une autogreffe d'îlots était programmée après une pancréatectomie subtotale motivée par la persistance de douleurs invalidantes liées à une pancréatite chronique. Cette patiente était restée insulinoindépendante et soulagée de ses douleurs pendant 6 ans avant de décéder d'une cause sans rapport avec l'autogreffe (Farney, Najarian et al. 1991). Les résultats des autogreffes ont récemment fait l'objet de deux méta-analyses (Dong, Parsaik et al. 2011, Bramis, Gordon-Weeks 2012). Pour l'ensemble des patients, la greffe était considérée après pancréatectomie. Elle était indiquée pour pancréatite chronique dans la majorité des cas de la première méta-analyse et dans l'ensemble des cas de la deuxième. Les résultats de ces deux études font état d'une insulino-indépendance de 21 à 46% pour un suivi de 2 à 5 ans. Ces résultats disparates sont possiblement dus à des différences notables d'expérience entre les équipes (Sutherland, Gruessner et al. 2008). Ils sont encourageants car comparables à ceux de l'allogreffe malgré un nombre d'îlots greffés plus faible. Ils présentent

de plus une meilleure stabilité de la fonction dans le temps (Sutherland, Gruessner et al. 2008 ; Robertson, Lanz et al. 2001, Blondet Carlson et al. 2007, Nebb, illouz et al. 2008). Il existait chez ces patients une corrélation entre le nombre d'îlots transplantés et l'insulino-indépendance, ce qui souligne l'importance d'un isolement de qualité (Sutherland, Gruessner et al. 2008). En 2013, Bellin et collaborateurs rapportaient les résultats d'autogreffes chez 27 patients atteints de diabète et de pancréatite chronique ayant bénéficié d'une pancréatectomie totale associée à une autogreffe. Après une injection d'une moyenne de 2060 équivalents îlots/kg, la moitié des patients avaient des concentrations considérées comme protectrices contre les complications métaboliques du diabète ($\geq 0,6$ ng/mL) (Bellin, Beilman et al. 2013).

D'autres indications sont en plein essor. Outre les rares cas d'autogreffe après traumatisme pancréatique (Jinda, Ricordi et al. 2010, Dardenne, Sterkers et al. 2012), l'autogreffe d'îlots peut être envisagée chez les patients atteints de tumeur bénigne du pancréas (Lee, Jee et al. 2005 ; Oberholzer, Triponez et al. 2000 ; Berney, Mathe et al. 2004). Les résultats font l'objet de trop petites séries pour évaluer son efficacité directe. La réalisation fréquente de pancréatectomie partielle associée à une greffe intraportale rend délicate l'interprétation de l'équilibre glycémique. Mais certains points semblent pertinents. Les séries d'Oberholzer et al et de Berney et al. montrent un meilleur résultat des isollements sur les pancréas atteints de tumeur bénigne en comparaison de ceux provenant de pancréas fibreux atteints de pancréatite chronique. Plus récemment, il a été suggéré que le rendement des isollements sur ces pancréas serait même supérieur au pancréas de donneur cadavérique (Ris, Niclauss 2011). Seul Lee et al. s'aventure à comparer les patients autogreffés à un groupe contrôle sans autogreffe. Mais le faible nombre de patients et l'absence de randomisation impose de regarder l'amélioration de la fonction métabolique des patients greffés avec circonspection. L'équipe de Genève a par ailleurs fait état d'un taux d'insulinoindépendance de 94% très encourageant (Ris, Niclauss 2011). Lors de cette dernière étude, les auteurs mettent l'accent sur le risque de récurrence tumorale en cas d'erreur anatomopathologique et ne considèrent la greffe d'îlots qu'en cas de pathologie bénigne.

Peu de centres se sont essayés à la greffe en cas de tumeur maligne. Si la greffe chez une patiente de 70 ans atteinte d'une tumeur pancréatique d'évolution lente semble raisonnable (Gala-lopez, Semlacher et al. 2013), le devenir de l'autogreffe chez les patients atteints d'adénocarcinome du pancréas est plus incertain. Balzano et al. ont fait état de résultats d'autogreffes en dehors du cadre de la pancréatite chronique (Balzano, Maffi et al. 2013). Les indications d'autogreffe intra-portale ou intra-osseuse étaient réservées à 43 patients atteints pour la plupart des tumeurs pancréatiques bénignes ou malignes. Il

s'agissait de pancréatectomies totales (n=35) ou subtotaux (n=8). Quarante-quatre pourcents des patients étaient insulino-indépendants à 1 an après avoir reçu une médiane de 151000 IEQ (range : 0, 335 950 IEQ). Les principaux facteurs indépendants influençant l'obtention de l'insulino-indépendance étaient la quantité d'îlots reçus et l'étendue de la résection pancréatique. La mortalité péri-opératoire dans cette étude était de 5,8% et dite non reliée à l'autogreffe.

Dans cette dernière série, le taux de complications à la greffe était de 38% dont 14 étaient sévères. Il s'agissait de complications hémorragiques chez 4 patients, d'une thrombose portale chez 3 d'entre eux et d'une septicémie chez 1 patient. Le site intra-portal dans ce contexte était donc loin d'être mini-invasif. Bien qu'aucune récurrence sur le greffon ou au sein du parenchyme non résécable n'ait été observée dans cette série, les auteurs soulignent néanmoins l'intérêt d'un site plus accessible pour la surveillance et une éventuelle explantation; La mortalité précoce était de 5%. La mortalité à 2 ans était de 6,2%. De façon intéressante, ces taux de mortalité ne sont pas supérieurs aux taux de mortalité après pancréatectomie totale seule (Vollmer, Sanchez et al. 2012). Les auteurs ne détaillaient pas les causes de décès. Malgré le faible effectif des séries, on ne peut qu'être alerté par la morbidité accrue liée à la greffe dans le cadre d'une chirurgie déjà grévée de nombreuses complications. Un site de greffe réellement mininvasif aurait ici tout son intérêt.

4.3. Exploration de la fonction des îlots après transplantation

La masse d'îlots fonctionnels est encore actuellement imparfaitement évaluable. Néanmoins, chez l'Homme et chez l'animal, des outils permettent de s'en rapprocher. Deux revues de la littérature font état des différents principes (Pacini, Omar et al.2013 ; Khan, Carr et al. 2008). L'évaluation de la masse d'îlots est basée sur des indices statiques faciles à utiliser en pratique clinique courante ou des tests de stimulation à l'insuline plus difficiles à mettre en œuvre mais plus précis. Ces tests, principalement utilisés dans le cadre de recherche, évaluent la masse fonctionnelle des îlots greffés à l'aide d'un stimulus sécrétoire. On distingue les stimuli glucidiques ou les sécrétagogues, qui sont administrés par voie orale ou par injection intraveineuse. La sécrétion d'insuline est alors exprimée par l'AIR (Acute Insulin Response) qui résulte de la différence entre la moyenne des insulïnémies stimulées et l'insulïnémie basale.

4.3.1. Indices de fonction du greffon en pratique clinique

Le premier indice de fonction a été développé et proposé par Ryan et al. en 2005. Le β score est basé sur des points attribués en fonction du taux d'HbA1c, des besoins en insuline, de la glycémie à jeun et du dosage d'un C peptide stimulé. Pour chaque critère est attribué 1 ou 2 points, dont la somme est corrélée à l'hyperglycémie provoquée par un repas test chez les patients allogreffés. Néanmoins ce test nécessite un test de stimulation. Pour cette raison, d'autres tests ont vu le jour, plus simples d'utilisation courantes et nécessitant moins de variables à tester. Le rapport C peptide / glucose au même titre que l'indice SUIO calcule un score en fonction du C peptide et de la glycémie à jeun et est corrélé avec la diminution des besoin en insuline et les résultats des IVGTT des patients ; enfin, le TEF comprend l'évaluation des besoins en insuline et le taux d'HbA1c est corrélé à des tests de stimulation du greffon.

Ces tests ont été comparés entre eux lors d'une étude de 2 cohortes récentes par Caumo et al. (Cuamo, Maffi et al. 2012). Aucun test n'est ressorti comme supérieur dans cette cohorte, ces tests ayant tous le même pouvoir discriminant. Le β score nécessitant plus de variables, dont un test de stimulation, semble moins facile à mettre en pratique courante. Par ailleurs, le SUIO et le HOMA-B pouvaient être non évaluables ou erronés chez les patients hypoglycémiques, rendant ces tests moins fiables chez les patients insulino-dépendants. A contrario, le rapport C pep/ gly et le TEF peuvent être évalués chez tous les patients. On retiendra que le TEF impliquant un dosage d'HBA1c ne peut être répété de manière trop rapprochée compte tenu de la demi-vie longue de l'HbA1c. Par ailleurs, une variation de l'hémoglobine (anémie ou traitement de cette dernière) influence grandement cet indicateur. Le rapport C peptide / glycémie quant à lui reste dépendant de la fonction rénale du patient, ce qui peut générer des erreurs d'interprétation chez les patients diabétiques dialysés ou greffés.

Plus récemment, l'arrivée des holters glycémiques dans la pratique clinique a permis de définir des nouveaux indicateurs de l'homéostasie glycémique. Dans ce cadre, le recueil sur plusieurs jours de la glycémie moyenne est un bon indicateur de la fonction du greffon. Le principal avantage de cette technique est de pouvoir objectiver la glycémie moyenne, sa variabilité dans la journée, ainsi que le temps passé en hyper ou hypoglycémie. L'ensemble de ces résultats reflète la fonction du greffon en évaluant son impact métabolique, et semble corrélé à la masse d'îlots fonctionnels (Vantighem, Raverdy et al. 2012).

4.3.2. Hyperglycémie provoquée par voie orale et repas test

Ce test paraît être le test le plus physiologique puisqu'il utilise la voie d'administration physiologique des sucres. Le but de ces tests est d'administrer un repas dont la composition

est contrôlée chez un sujet à jeun et d'évaluer la glycémie et les variations de sécrétion d'hormones hypo- et hyperglycémiantes par des prélèvements répétés dans le temps. Si cette technique est particulièrement intéressante pour évaluer au mieux l'impact d'un traitement chez les patients diabétiques, ses résultats dépendent non seulement de la masse de cellules bêta résiduelles mais aussi de l'insulinorésistance de l'organisme. Les troubles de la vidange gastrique et l'effet incrétine éminemment variable d'un sujet à un autre lors de l'administration orale influencent également les résultats lors de test comparatifs. La mesure du C peptide et le traitement mathématique des résultats sont indispensables pour étudier spécifiquement la fonction de la cellule bêta (Marie 2002)

4.3.3. Test de tolérance au glucose administré par voie intraveineuse

Ce test, appelé IVGTT (Intravenous Glucose Tolerance Test) a été développé dès la fin des années 70 par DeFronzo (DeFronzo and Beckles 1979). Il évalue de façon simultanée la sécrétion d'insuline et sa consommation (Bergman 1989). Cette technique consiste à mesurer les taux sanguins de glucose, insuline et C-peptide séquentiellement après une injection intraveineuse de glucose. L'avantage de la voie intraveineuse par rapport à la voie orale pour l'injection de glucose est la connaissance précise de la charge sanguine stimulant les cellules β des îlots de Langerhans sans interférence avec l'effet des hormones gastro-intestinales et les délais d'absorption. Les limites du test sont : 1) son caractère non physiologique, 2) son caractère invasif pour le patient et 3) la nécessité d'utilisation d'un traitement mathématique complexe pour l'interprétation des résultats.

Une diminution de la première phase de sécrétion d'insuline après injection de glucose est considérée comme un indicateur précoce du dysfonctionnement des cellules β survenant avant l'altération de la tolérance au glucose (Berkowitz, Peters et al. 1996). Néanmoins, chez certains patients diabétiques de type 2, cette phase précoce peut être abolie lors d'une stimulation par du glucose et maintenue lors de l'utilisation d'un autre agent stimulant (Butler, Janson 2003 ; Brunzell, Robertson 1976). Ce test est donc utile pour confirmer le caractère pathologique de la fonction des cellules bêta et mais discutable pour évaluer la masse de cellules bêta. La mesure de la sécrétion du C peptide après stimulation prolongée au cours d'un clamp hyperglycémique permet d'évaluer la seconde phase de sécrétion d'insuline. Ce test semble refléter plus fidèlement la masse de cellule bêta fonctionnelle à la phase précoce du diabète de type 1 (Keymeulen, Vandemeulebroucke et al. 2005) comme après greffe d'îlots (Keymeulen, Gillard et al. 2006). Les tests fonctionnels sont d'une importance primordiale pour évaluer la masse de cellules fonctionnelles après transplantation (Gillard, Keymeulen et al. 2010).

4.3.4. Test de stimulation par un sécrétagogue

De nombreuses voies de signalisation peuvent être impliquées dans la sécrétion d'insuline. Ainsi, en plus du glucose, la cellule bêta est stimulée par d'autres sécrétagogues, incluant l'arginine, l'alanine, le glucagon, le GLP1 et des médicaments tels que le tolbutamide et l'isoprotérénol. L'arginine est le sécrétagogue le plus utilisé en pratique même si sa supériorité n'a pas été démontrée. Le principal avantage de ces tests est leur sensibilité accrue grâce au phénomène de potentiation. Ainsi, une concentration de glucose élevée tend à sensibiliser l'effet de l'arginine sur la sécrétion d'insuline (Rickels, Nali et al. 2007). Ce principe a conduit à la réalisation d'un test développé initialement par Ward et collaborateurs (Ward, Bolgiano et al. 1984; Larsson and Ahren 1998). Le principe du test consiste à répéter les injections d'arginine pour stimuler la première phase de sécrétion. Il est réalisé chez un patient à jeun puis perfusé avec du glucose pour obtenir une hyperglycémie (Rickels, Nali et al. 2007). Cette méthode permet d'estimer les capacités fonctionnelles des cellules β , la sensibilité des cellules β au glucose, la sécrétion d'insuline en réponse au glucose. Dans le cadre d'une autotransplantation d'îlots, le test de stimulation à l'arginine (AIRa) semble stable dans le temps malgré une perte de stimulation au glucose (AIRg). De la même manière, l'AIRa semble mieux corrélée avec la quantité d'îlots transplantés et l'AIRg avec la qualité du contrôle glycémique (Hubert, Jany et al. 2005 ; Ryan, j Lakey et al. 2002 ; Hirsch, Odorico et al. 2012).

Bien que cette méthode donne de multiples informations sur la fonctionnalité des îlots, l'injection d'un bolus d'arginine ne permet pas l'induction d'une sécrétion biphasique d'insuline contrairement à l'injection prolongée d'arginine.

4.4. Limites du site intra-hépatique

La greffe intrahépatique des îlots est la technique de référence. Néanmoins, ce site présente de nombreux inconvénients.

4.4.1. Evaluation de la contribution relative de la perte cellulaire immédiate et tardive

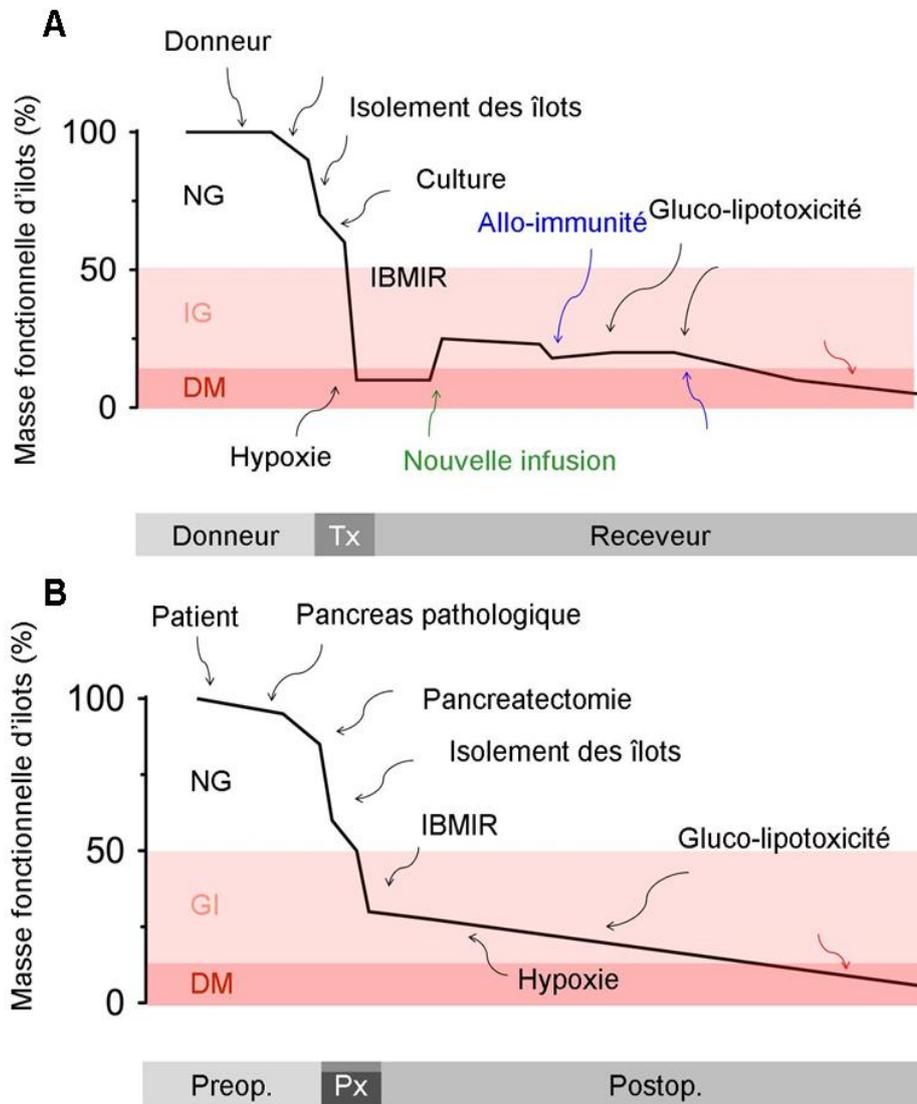
Dans la procédure de transplantation intra-portale, les îlots s'implantent dans les sinusoides hépatiques. Si les nombreux progrès de cette voie d'administration permettent aujourd'hui à la majorité des receveurs d'interrompre leur traitement par insuline la première année post-transplantation, le taux d'insulinodépendance n'est plus que de l'ordre de 60% à 3 ans et 10% à 5 ans dans de nombreuses équipes. La perte cellulaire est donc majeure. On considère en effet qu'un pancréas normal contient environ 500 000 îlots équivalents et que

50 à 100 000 sont suffisants pour maintenir l'homéostasie glucidique (Vasir, Reitz et al. 2000). Actuellement, 10 000 îlots équivalents par kg doivent être transplantés pour obtenir l'insulinodépendance. On peut donc estimer que seuls 10% à 20% des îlots survivent après leur transplantation et ce nombre diminue ensuite avec le temps (Korsgren, Nilsson et al. 2005). Les différentes modalités de la destruction des îlots sont détaillées dans la figure 5.

Souvent mis en avant, la réactivation de l'auto-immunité dans les indications de diabète auto-immun chez le receveur et de l'alloréactivité dans les transplantations à partir de donneurs décédés n'explique pas à elles seules la perte de la majeure partie des îlots. En effet, les taux de destruction dans les modèles animaux ne semblent pas sensiblement moindre en cas de greffe syngénique dans des diabètes non auto-immuns (Biarnes, Montolio et al. 2002). Après allogreffe d'îlots marqués par le FDG, la tomographie d'émission de positron a permis de démontrer la destruction de la majorité des îlots, avant même leur implantation dans le foie (Eriksson, Eich et al. 2009).

Ce délai très court est incompatible avec une origine immunologique auto- ou allo-immune. Les processus immunologiques par autoimmunité et/ou alloréactivité jouent cependant un rôle important dans les phases plus tardives de la greffe (Lewis, Shapiro et al. 2005).

Figure 5 : mécanismes conduisant à la destruction des îlots au cours de l'allogreffe (A) et de l'autogreffe (B) intraportale d'îlots de Langerhans

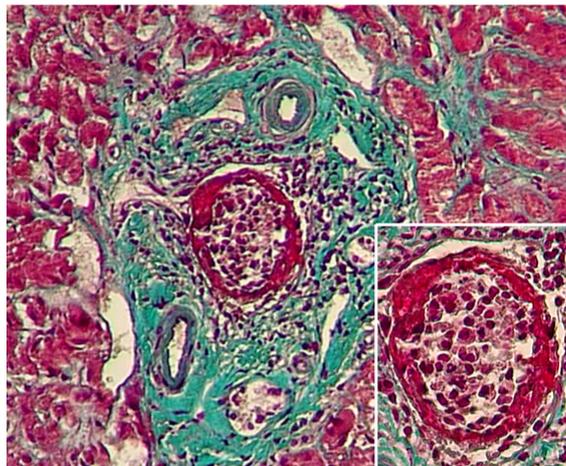


D'après F Pattou (non publié)

4.4.2. Activation des cascades de la coagulation et de l'inflammation

L'un des mécanismes majeurs de la destruction précoce est une réaction inflammatoire non spécifique secondaire à l'activation par le greffon de la cascade de la coagulation (Eich, Eriksson et al. 2007).

Figure 6 : Thrombose péri-îlots après greffe d'îlots intraportales chez le Miniporc



D'après F Pattou (non publié)

Cette réaction inflammatoire, appelée IBMIR (Instant Blood Mediated Inflammatory Reaction), survient immédiatement lors de l'injection de la préparation dans la veine porte et limite considérablement l'efficacité de la transplantation. Cette réaction inflammatoire est non seulement la cause d'une mort cellulaire importante parmi les îlots greffés mais expose également le patient au risque de thrombose portale (Bennet, Sundberg et al. 1999; Moberg, Johansson et al. 2002). Dans ce processus, le contact des îlots avec le sang entraîne une réaction pro-thrombotique et active la cascade du complément qui induit la formation d'un caillot péri-îlots, une infiltration leucocytaire où prédominent des polynucléaires neutrophiles et contribue à l'altération de l'architecture de l'îlot (Moberg 2005). Cette réaction inflammatoire est objectivée en clinique par une augmentation des complexes thrombine/anti-thrombine immédiatement après l'injection des îlots (Moberg, Johansson et al. 2002).

4.4.3. Hypoxie et toxicité médicamenteuse

La destruction d'une partie des îlots se poursuit après leur implantation. Bien que dans la transplantation par voie portale, les îlots s'implantent dans un organe richement vascularisé supposé irriguer les îlots par diffusion, les cellules localisées dans la partie centrale de l'îlot sont insuffisamment oxygénées, et fréquemment sujettes à l'hypoxie (Vasir, Aiello et al. 1998). Une évaluation par incorporation de pimonidazole a ainsi montré que 70% des îlots sont hypoxiques le lendemain de la greffe. Le pimonidazole permet de créer des liaisons covalentes avec les cellules hypoxiques sous 10 mm de Hg (Carlsson 2011). Ce marqueur qui n'est pas incorporé dans les cellules en apoptose ni en cas de lyse cellulaire, sous-estime probablement encore la quantité de cellules hypoxiques.

Le site intra-hépatique est aussi situé en aval de l'absorption intestinale, là où la concentration d'immunosuppresseur est maximale avec un effet toxique direct sur les îlots (Desai, Goss et al. 2003; Shapiro, Gallant et al. 2005).

4.4.4. Déficit de revascularisation

Comme rappelé précédemment, les îlots sont richement vascularisés à l'état physiologique. Ils prélèvent 10 à 20% du flux sanguin total du pancréas alors qu'ils ne représentent que 1% de la masse pancréatique totale (Lifson, Kramlinger et al. 1980; Menger, Vajkoczy et al. 1994). Cette vascularisation est détruite lors de l'isolement et, après leur implantation, la survie et la fonction des îlots reposent en grande partie sur la rapidité et la qualité de leur revascularisation. Les îlots tentent de favoriser leur revascularisation en sécrétant des médiateurs régulant l'angiogenèse et notamment le Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) (Vasir B, Reitz P et al. 2000). Les îlots greffés en intra-portal, comme en sous-capsulaire rénal ou en intra-splénique, présentent une faible revascularisation lorsqu'on les compare aux îlots natifs (Carlsson, Palm et al. 2002; Mattsson, Jansson et al. 2002; Lau and Carlsson 2009). En raison de cette faible revascularisation, les îlots sont soumis à une hypoxie persistante durant une durée minimale d'un mois (Carlsson 2011). Cette faible revascularisation semble s'améliorer avec le temps avec une diminution de l'incorporation du pimonidazole à 3 mois et un taux d'apoptose alors équivalent au pancréas natif. (Olsson, Olerud et al. 2011)

En plus de son rôle d'oxygénation et nutritif, la revascularisation a aussi un rôle trophique pour les cellules endocrines. Ainsi la laminine et la glycoprotéine thrombospondin-1 semblent contribuer à la prolifération des cellules bêta (Pinkse, Bouwman et al. 2006). Le mauvais drainage des îlots est responsable de dépôts amyloïdes décrits dans un modèle murin et lors de l'autopsie d'un patient receveur d'une greffe d'îlots intraportale (Westermarck, Westermarck et al. 2008).

4.4.5. Rechute de l'auto-immunité et rejet immunologique

Dans les indications de greffe allogénique (donneurs décédés) pour diabète auto-immun, les deux types de réaction immunologiques peuvent intervenir. Le rejet allogénique immunologique est commun à toutes les transplantations d'organe. Dans le diabète auto-immun s'ajoute le risque de réactivation des lymphocytes T auto-immuns spécifiques des cellules β . L'instauration d'une immunosuppression est ainsi un complément indispensable de la procédure de transplantation pour prévenir ces deux réactions. La plupart des drogues immunosuppressives ayant fait la preuve de leur efficacité (dont la ciclosporine et le

tacrolimus) dans la transplantation pancréatique sont malheureusement aussi toxiques pour les îlots (Drachenberg, Klassen et al. 1999). Cette situation a conduit à évaluer l'efficacité et la toxicité de nouveaux protocoles immunosuppresseurs (encore imparfaits à ce jour) et à évaluer l'efficacité des transplantations dans les sites immunoprivilégiés (Ksander and Streilein 1994) ou après encapsulation à l'aide d'alginate semi-perméable afin de limiter la réponse immunitaire.

4.4.6. Complications métaboliques

Le déficit de la réponse à l'hypoglycémie des cellules α a été clairement démontré lorsque la voie intra-portale est utilisée pour transplanter des îlots (Pyzdrowski, Kendall et al. 1992; Gupta, Wahoff et al. 1997; Kendall, Teuscher et al. 1997; Paty, Ryan et al. 2002; Rickels, Schutta et al. 2005). Le défaut de sécrétion de glucagon pourrait être spécifique au site intra-hépatique. Les cellules α des îlots greffés dans le foie sont en effet exposées prématurément au glucose libéré in situ par la glycogénolyse lors de l'hypoglycémie (Zhou, Zhang et al. 2008). Cette altération de la réponse à l'hypoglycémie pourrait exposer les patients transplantés par voie intra-portale à un risque accru de neuroglycopénie en particulier lorsque le sevrage en insuline est incomplet.

L'implantation en intra-hépatique des îlots provoque aussi une lipogenèse à long terme avec un risque de stéatose hépatique (Markmann, Rosen et al. 2003; Bhargava, Senior et al. 2004; Lee, Ravazzola et al. 2007 et ref diapo ADA milan). Chez le Rongeur, la survie des îlots peut être améliorée si cette lipogenèse est prévenue (Lee, Ravazzola et al. 2007) et semble inversement proportionnelle chez l'Homme à la stéatose hépatique (Leitão, Bernetti et al. 2010). Dans le site intra-hépatique, la fonction globale des îlots greffés semble également altérée comme le démontre le défaut d'oxydation du glucose, de la synthèse de pro-insuline, du contenu en insuline des cellules β et les défauts d'expression de marqueurs de différenciation tels que PDX1, du glucose transporteur-2, de la glucokinase, de la pyruvate carboxylase et de la glycérol phosphate déshydrogénase mitochondriale (Lau, Mattsson et al. 2007).

5. Les sites alternatifs

5.1. Intérêts et limites des différents sites

Idéalement, le site de greffe des îlots doit :

- permettre une bonne revascularisation des îlots,
- permettre de mimer la physiologie de la sécrétion d'insuline,
- limiter l'activation des cascades de coagulation et d'inflammation,

- être immunoprivilégié,
- permettre une technique de greffe peu invasive,
- être accessible à la biopsie, à l'imagerie voire à l'exérèse du greffon dans le cadre d'une autogreffe (Merani, Toso et al. 2008).

De nombreux sites ont montré leur intérêt dans des modèles murins. En revanche, les succès chez le grand Mammifère ou chez l'Homme restent rares. Les principaux sites explorés chez l'animal comprennent le pancréas, la capsule rénale, le péritoine, la rate, la moelle, la chambre antérieure de l'œil, le thymus, le testicule, le tractus uro-génital et la muqueuse gastrique (Cantarelli and Piemonti 2011).

5.1.1. Le pancréas

Le pancréas a l'avantage d'être le site le plus physiologique offrant a priori un microenvironnement idéal. Des essais ont été réalisés avec succès chez l'animal (Carlsson, Liss et al. 1998; Stagner, Rilo et al. 2007). Ce site ne semble cependant pas envisageable chez l'Homme en raison principalement du risque de pancréatite lié à l'injection intrapancréatique.

5.1.2. Le site sous-capsulaire rénal

La greffe sous-capsulaire rénale est la technique de référence dans les modèles murins. Une greffe de moins de 25% du nombre d'îlots contenu dans le pancréas normal suffit en effet à assurer une normoglycémie (van Suylichem, Strubbe et al. 1994). Malheureusement, les bons résultats observés chez le Rongeur ne sont pas extrapolables à l'Homme. En effet, les résultats supérieurs du site sous-capsulaire rénal en comparaison avec le site intra-hépatique chez le Rat (Mellgren, Schnell Landstrom et al. 1986) n'ont pas été retrouvés en pratique clinique (Jindal, Sidner et al. 1998). Au même titre que le site rénal, le cerveau (Tze and Tai 1984) et les testicules (Margolis, Holup et al. 1986) ont fait la preuve de leur intérêt chez le Rongeur mais leur potentielle transposition à l'Homme reste à démontrer.

5.1.3. La cavité péritonéale

La cavité péritonéale a été largement explorée comme site d'implantation des îlots en raison de l'absence de restriction en terme de volume du transplant. Les résultats initiaux semblaient décevants en raison d'une perte de l'architecture des îlots et de l'absence d'innervation du transplant (Fritschy, van Straaten et al. 1991). L'intérêt du site péritonéal est en revanche évident pour la greffe d'îlots encapsulés qui nécessitent un large espace

d'implantation. De nombreux essais ont été réalisés faits chez le Rongeur, le Chien ou le Singe (Kobayashi, Aomatsu et al. 2003). La dissémination des îlots au sein de la cavité abdominale rend, par ailleurs, leur explantation difficile si elle est nécessaire (Qi, Lacik et al. 2011). Les résultats chez l'Homme restent modestes (Calafiore, Basta et al. 2006; Basta, Montanucci et al. 2011) mais continuent de faire l'objet d'intenses recherches (Jacobs-Tulleneers-Thevissen, Chintinne et al. 2013).

5.1.4. La rate

Plusieurs publications font état de l'intérêt du site intra-splénique chez le grand Mammifère (Alderson, Farndon et al. 1984; Sutton, Gray et al. 1989; Gray 1990; Kaufman, Morel et al. 1990). Cette voie expose néanmoins au risque hémorragique et nécessite une injection intra-vasculaire qui expose les îlots au risque de réaction IBMIR. Par ailleurs, l'accessibilité limitée de la rate limite son utilisation en clinique.

5.1.5. La moelle osseuse

Récemment décrit, ce site offre l'avantage théorique d'assurer à l'implant un apport en nutriments et en oxygène de bonne qualité grâce à un environnement richement vascularisé. L'efficacité et l'innocuité de ce site a été rapporté dans un modèle syngénique chez la Souris (Cantarelli, Melzi et al. 2009), allogénique et xenogénique chez le Rat (Salazar-Banuelos, Wright et al. 2008). Un essai clinique est en cours chez des patients ayant une contre-indication à l'injection par voie portale par injection dans la crête iliaque (Frassoni, Gualandi et al. 2008).

5.1.6. Les sites immunoprivilégiés

La chambre antérieure de l'œil est un site dit immunoprivilégié en raison de l'absence de réponse immunitaire à son niveau. L'efficacité et l'innocuité de l'implantation par cette voie ont été démontrées chez le petit animal (Speier, Nyqvist et al. 2008; Bellin, Sutherland et al. 2011; Perez, Caicedo et al. 2011).

Des résultats intéressants ont été obtenus par inoculation dans la chambre antérieure de l'œil chez le Singe (Perez, Caicedo et al. 2011). Dans cette étude, les auteurs ont rapporté une sécrétion d'insuline stimulable trois mois après la greffe allogénique d'îlots chez le Babouin. Néanmoins, la possible survenue de cataracte secondaire remet en cause son application clinique (Perez, Caicedo et al. 2011).

L'espace implantable limité est un autre inconvénient de ce site. Le testicule est également un site immunoprivilégié mais qui, jusqu'à ce jour, n'a jamais été exploré chez le grand Mammifère ni a fortiori chez l'Homme (Ferguson and Scothorne 1977).

5.1.7. La sous-muqueuse gastrique et le tractus uro-génital

Ces sites ont l'avantage de leur accessibilité par voie endoscopique permettant un geste chirurgical simple et peu traumatisant ainsi qu'un accès facile au suivi post-greffe (imagerie/biopsie)(Caiazzo, Gmyr et al. 2008).

Des essais encourageants ont récemment confirmé les résultats de notre équipe réalisés notamment chez le Porc (Echeverri, McGrath et al. 2009; Wszola, Berman et al. 2009).

5.1.8. La poche omentale

La création d'une poche épiploïque est développée depuis plusieurs années (Ao, Matayoshi et al. 1993). Une relative efficacité chez 5 singes diabétiques a été récemment rapportée. Malgré une efficacité moindre que le site hépatique (Berman, O'Neil et al. 2009), l'apport des biomatériaux dans ce site semble ici particulièrement intéressant (pedraza, bradi cell transp 2013 ; kriz, vilk, am j surg 2012).

5.1.9. Le site intramusculaire

Sera abordé plus en détail ci-dessous.

5.2. Essais cliniques récents et en cours dans des sites alternatifs

Il n'existe pas encore de site optimal pour la transplantation d'îlots. Cette situation justifie la poursuite des efforts de recherche déjà consentis. Le tableau ci-dessous récapitule les essais cliniques initiés récemment dans ce but.

Sites	Autogreffe	Allogreffe	Type d'essai	Lieu de l'essai
Moelle	oui	oui	Etude pilote	Institut scientifique Saint Raphael / Milan / Italie
Omentum	non	oui	Essai phase I/II	Université de Bruxelles / Belgique
Intramusculaire	oui	non	Etude pilote	Institut Karolinska / Stockholm / Suède Université de Lille / Lille / France
Péritoine	non	oui	Essai de phase I	Université de Perugia / Perugia / Italie
Sous-cutané	non	oui	Essai de phase I/II	Chritus Santa Rosa Transplant / San Antonio / Texas / USA
Sous-cutané	non	oui	Essai de phase I	Hôpital Universitaire Saint Luc /

- (1) Post-pancréatectomie
- (2) Pour diabète instable

(d'après Cantarelli E et Piemonti L. Curr Diab Rep 2011 ; 11 :364-374)

6. Greffe intramusculaire

6.1. *Rationnel*

Dès 1934, à partir d'expériences de greffes de tissu endocrine chez le Chien, Stone et collaborateurs arrivent aux conclusions suivantes : 1) l'implantation doit se faire dans un tissu vascularisé à partir duquel des néo-vaisseaux pourront se développer et assurer la survie des greffons à long terme, mais sans que le réseau capillaire soit trop important (rate, foie par exemple) pour limiter le risque d'hématome susceptible d'entraîner une nécrose, 2) la texture du tissu doit être suffisamment lâche pour minimiser la pression exercée sur l'implant, susceptible de limiter sa croissance, 3) les fragments implantés doivent être suffisamment petits pour permettre l'apport de sang par osmose et diffusion (Stone, Owings et al. 1934). La voie intramusculaire est compatible avec l'ensemble de ces contraintes.

6.2. *Succès des transplantations de parathyroïdes par voie intramusculaire*

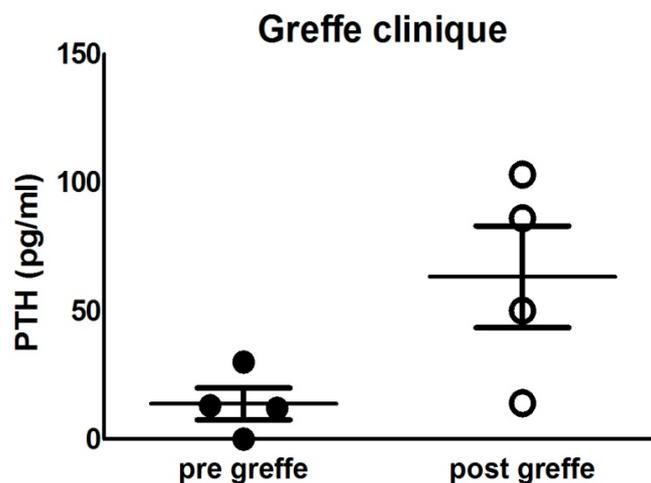
Le succès d'autres transplantations de tissu endocrine dans le muscle laisse présager du succès potentiel des greffes d'îlots dans ce site.

La première trace de greffe parathyroïdienne a été réalisée par Halsted chez le Chien (Halsted 1909). Ces travaux ont rapidement conduit aux premières greffes cliniques de parathyroïdes avec réimplantation intramusculaire de parathyroïde au cours d'une thyroïdectomie totale. Depuis, cette pratique s'est largement rependue notamment depuis les années 1970 (Wells, Gunnells et al. 1975). Dans cette procédure, les fragments de parathyroïde sont placés par des petites incisions pratiquées à l'interface du fascia et du muscle brachio-radial du bras non dominant. Sur une période de 30 mois, l'équipe de Wells a inclus 29 patients (dont 28 autogreffes et 1 allogreffe). Parmi 11 patients ayant un suivi de 1 an, 10 étaient normo-calcémiques et un seul supplémenté en calcium. Les résultats anatomopathologiques à partir de biopsies montraient un greffon d'architecture normale contenant en moyenne 179 nanogrammes d'hormone parathyroïdienne. Les principales indications de la greffe parathyroïdienne sont actuellement la réimplantation lors d'une thyroïdectomie d'une ou plusieurs parathyroïdes dévascularisées pendant l'acte (Shaha, Burnett et al. 1991; Pattou, Combemale et al. 1998) ou l'autogreffe synchrone ou métachrone après parathyroïdectomie totale chez des patients insuffisants rénaux (Kievit, Tinnemans et al. 2010). Plus récemment, la greffe de tissus cryopréservés a permis la restauration d'une fonction parathyroïdienne chez des sujets hypoparathyroïdiens.

Actuellement, 4 patients insuffisants rénaux et autogreffés avec du tissu parathyroïdien cryopréservé 3 à 12 mois après la réalisation d'une parathyroïdectomie subtotale sont suivis

dans le service de chirurgie endocrinienne. Tous ont augmenté leur PTH après la greffe sans effet secondaire notable ni complication spécifique (figure 7). Trois patients ne sont plus hypoparathyroïdiens à ce jour. Néanmoins le rapport coût/efficacité de cette technique est actuellement débattu (Borot, Lapierre et al. 2010; Schneider, Ramaswamy et al. 2012; Shepet, Alhefdhi et al. 2013).

Figure 7 : Expérience du service de chirurgie endocrinienne du CHRU de Lille de l'autogreffe de tissu parathyroïdien cryopréservé



D'après F Pattou (non publié)

Le taux de succès après autogreffe de parathyroïdes est compris entre 55 et 100% (Herrera, Grant et al. 1992). Ces bons résultats sont liés à la capacité du tissu parathyroïdien à se revasculariser et à se ré-innervier (Carter, Uy et al. 2000), la localisation intramusculaire ne provoquant pas, dans ce cas, d'altérations du tissu endocrinien. La démonstration de la sécrétion du greffon est facilitée lorsqu'il est greffé dans le muscle brachio-radial grâce à l'exclusion vasculaire du bras greffé (Schlosser, Sitter et al. 2004) ou la recherche d'un gradient du taux de PTH entre les deux bras (Lo and Tam 2001). Le deuxième grand avantage de ce site est la possibilité d'explanter le greffon en cas de récurrence de l'hyperparathyroïdisme (Tominaga, Matsuoka et al. 2010). Cette stratégie est couramment employée en endocrinologie car elle présente d'excellents résultats sans effets secondaires importants en l'absence de thérapeutique médicamenteuse substitutive efficace. Dans un autre champ d'application, la greffe de cellules thyroïdiennes n'est pas de pratique courante en clinique. Le traitement hormonal substitutif permet de palier de manière satisfaisante à l'insuffisance endocrinienne en cas d'hypothyroïdie. Néanmoins, plusieurs études chez l'animal ou en pratique clinique font état de la capacité de cet autre tissu endocrinien à se

revasculariser et à assurer la restauration de la fonction thyroïdienne après greffe intentionnelle ou accidentelle (Al-Samarrai, Crankson et al. 1988; Eickhoff, Schafer et al. 1994; Karaman, Tuncel et al. 2012). Les mêmes constatations ont été faites lors de la greffe de tissu surrénalien chez le Rongeur et chez l'Homme (Barzilai, Dickstein et al. 1980; Scheumann, Hiller et al. 1989; Grodstein, Hardy et al. 2010).

6.3. Expérimentation des transplantations d'îlots par voie intramusculaire chez l'animal et premiers essais chez l'Homme

6.3.1. L'expérimentation animale

La voie intramusculaire pourrait offrir l'avantage d'une meilleure vascularisation comparativement à la voie intra-hépatique dans les greffes d'îlots et limiter ainsi la perte fonctionnelle du transplant à long terme. Le muscle est en effet le seul tissu chez l'adulte où l'angiogenèse est active physiologiquement. Des 1978, Weber et collaborateurs démontraient la faisabilité de transplanter par voie intramusculaire du tissu pancréatique de rats nouveau-nés à des rats congéniques. En 1981, Axen et Pi-Sunver rapportaient également chez le Rat la correction rapide d'un diabète induit par la streptozotocine. La comparaison de la voie intramusculaire à la voie intra-péritonéale ne montrait pas de supériorité de l'une par rapport à l'autre. Dans les 2 situations, la concentration sérique de glucagon et les tests fonctionnels à l'arginine étaient normaux, 10 mois après la greffe (Axen and Pi-Sunyer 1981). En 2009, Witkowski et collaborateurs utilisent la technique de tomographie à émission de positron (PET) et en parallèle des méthodes immunohistochimiques pour démontrer l'intérêt de la voie intramusculaire pour la transplantation d'îlots associés à des biomatériaux favorisant la revascularisation du transplant chez le Rat (Witkowski, Sondermeijer et al. 2009). En 2010 cependant, Lund et collaborateurs rapportaient la supériorité de la voie intra-portale comparativement à la voie intramusculaire en raison d'une inflammation par voie musculaire entraînant une accumulation d'IL6 et IL8 et aboutissant à une fibrose autour des îlots greffés. La voie intramusculaire était cependant faisable au prix d'un doublement de la quantité d'îlots injectés (Lund, Korsgren et al. 2010). La dispersion des îlots à la manière du montage d'un collier de perles (perle à perle) pourrait contourner cette difficulté (Lund, Korsgren et al. 2010). Récemment, Christoffersson et collaborateurs confirment l'intérêt de la voie intramusculaire et rapportent l'observation intéressante d'une meilleure revascularisation des îlots par voie intramusculaire comparativement à la voie intra-hépatique chez la Souris sous le contrôle de la sécrétion locale de VEGF par une sous-population de granulocytes (Christoffersson, Henriksnas et al. 2010). En 2011, Svensson et collaborateurs confirment la

qualité de la revascularisation des îlots transplantés par voie intramusculaire chez le Rat et sa supériorité par rapport au site sous-capsulaire rénal (Svensson, Lau et al. 2011). Dans cette étude, les îlots greffés dans le muscle avaient une vascularisation trois fois plus abondante que les îlots greffés dans le site sous-capsulaire rénal après 2 mois de suivie bien qu'inférieure à la vascularisation physiologique intra-pancréatique. Ces auteurs soulignent néanmoins la faible survie initiale du tissu greffé en intramusculaire aux temps précoces post-greffe et suggèrent l'intérêt probable de l'utilisation de matrices prévenant cette mortalité pour l'optimisation de ce site.

6.3.2. Essais chez l'Homme

En 1978, encouragés par les résultats qu'ils avaient obtenus chez l'animal, Weber et collaborateurs ont réalisé les premiers des transplantations d'îlots par voie intramusculaire. Dans cette étude, les îlots étaient isolés à l'occasion d'une pancréatectomie pour pancréatite et injectés après 7 jours de culture. L'étude de la fonctionnalité du greffon par le dosage d'insuline et de C-peptide n'a cependant pas permis de confirmer la survie du greffon (4 mois post-transplantation) (Weber, Hardy et al. 1978). En 1997, Stegall M.D. et collaborateurs ont à nouveau utilisé la faisabilité de la voie intramusculaire chez 3 patients diabétiques déjà sous traitement immunosuppresseur car porteurs d'une greffe rénale. L'objectif principal de cet essai clinique était l'analyse histologique de la réaction immunitaire après l'allogreffe intramusculaire. Les résultats ont confirmé, chez 2 des 3 patients, la prise transitoire du greffon, documentée par la présence de cellules exprimant l'insuline et le glucagon en immunohistochimie (Stegall 1997).

Encouragés par le succès des autogreffes de parathyroïdes par voie intramusculaire, Rafael et collaborateurs ont réalisé en 2008 une autogreffe d'îlots par voie intramusculaire chez une enfant de 7 ans souffrant d'une pancréatite sévère congénitale et ayant subi une pancréatectomie subtotale (Rafael, Tibell et al. 2008).

L'injection de 6400 équivalents îlots/kg a permis d'obtenir un bon contrôle métabolique après l'autogreffe au prix d'une supplémentation modérée en insuline exogène. La fonction du greffon a été suggérée par la sécrétion de C-peptide à l'état basal et après stimulation.

Encouragé par des résultats précliniques très prometteurs en 2009, notre équipe a également réalisé une autogreffe d'îlots transplantés dans le muscle brachio-radial gauche. Dans cette observation, une pancréatectomie subtotale était indiquée en raison d'un insulinome. Pour la première fois, l'imagerie et les épreuves de sécrétion d'insuline en

réponse à l'arginine avant et après exclusion vasculaire du greffon ont permis de démontrer la survie et la fonction des îlots greffés dans le muscle (Pattou, Kerr-Conte et al. 2010).

6.4. Avantages de la voie intramusculaire

Outre l'avantage théorique d'une meilleure revascularisation du transplant, les premiers essais de greffe d'îlots intramusculaire ont permis de confirmer les avantages pratiques réels de ce site d'implantation. Cette procédure fait appel à un geste chirurgical simple et peu traumatisant pour le patient. Le greffon est facilement accessible à la biopsie et les réimplantations d'îlots sont possibles.

7. Hypothèse de travail/Objectifs

Comme cela a été largement discuté dans les chapitres précédents, il n'existe pas actuellement de site optimal pour la transplantation d'îlots combinant l'ensemble des qualités nécessaires pour la sécurité et l'efficacité de la greffe.

Cette situation explique que la voie intra-portale reste la voie de référence malgré ses limites et notamment la perte d'une partie importante du transplant dès la phase initiale post-transplantation.

Notre hypothèse de travail était que la voie intramusculaire était un site alternatif potentiellement intéressant en raison :

- de la riche vascularisation du muscle strié, seul organe ayant une capacité de néo-vascularisation à l'état physiologique chez l'Homme l'adulte,
- du caractère peu invasif du geste chirurgical,
- de l'accessibilité facile aux biopsies et/ou méthodes d'imagerie pour le suivi de la survie des îlots.
- de la possibilité de réintervenir pour explanter le greffon en cas de nécessité.

Cette hypothèse était étayée par :

- le succès incontestable des greffes d'autres tissus endocriniens (parathyroïdes) par voie intramusculaire chez l'Homme,
- Le succès récent chez un enfant de cette approche dans le cadre de la greffe d'îlots.

L'objectif de ce travail, résolument tourné vers la clinique, était de vérifier notre hypothèse dans un modèle préclinique (Miniporc) afin de transposer rapidement la technique chez les patients.

8. Approches méthodologiques et résultats

8.1. Etablissement d'un modèle animal de diabète insulino-dépendant pour évaluer l'auto-transplantation par voie intramusculaire

Les modèles animaux sont un préliminaire indispensable aux avancées de la recherche dans le domaine de la transplantation d'îlots avant d'envisager leur application en pratique clinique.

Expérimentalement, 3 approches peuvent être utilisées pour provoquer un diabète 1) les modèles de diabète spontané tels que la souris NOD, 2) l'induction d'un diabète pharmacologique par la streptozotocine ou l'alloxan et 3) la pancréatectomie totale. La troisième approche a l'avantage d'être le modèle le plus proche de la situation clinique d'auto-transplantation après pancréatectomie totale. Elle a par ailleurs largement démontré son efficacité pour évaluer les sites alternatifs de transplantation (Madureira 1994; Levy, Ketchum et al. 2002; Rajab, Buss et al. 2008; Christoffersson, Henriksnas et al. 2010). Le modèle de transplantation après pancréatectomie est par ailleurs également transposable aux modèles d'allo-transplantation.

Dans ce premier travail, notre choix s'est porté sur le Miniporc en raison de la maîtrise de ce modèle par notre équipe (Caiazza, Gmyr et al. 2007). Lors du prélèvement, la technique chirurgicale était adaptée pour minimiser au maximum l'ischémie chaude. L'ischémie froide était limitée à moins d'une heure. L'isolement des îlots utilisait une technique optimisée de digestion avec ou sans purification, afin d'évaluer les conséquences de cette étape sur l'avenir du greffon. Deux techniques d'implantation ont été comparées : la méthode standard utilisée pour la greffe de tissu parathyroïdien après incision de l'aponévrose du muscle gracile, et une méthode d'injection à l'aiguille fine supposée moins traumatisante. Des clips métalliques permettaient de repérer chaque site d'implantation. Des méthodes immunohistochimiques ont permis d'évaluer la survie des greffons (marquage de l'insuline), leur vascularisation (marquage vWF) et l'hypoxie in situ (marquage du pimonidazole). La fonction du greffon a été évaluée par des tests de sécrétion d'insuline en réponse à une charge en glucose.

Cette étude nous a permis de démontrer de manière univoque que le site intramusculaire permet la survie, la revascularisation et la sécrétion des îlots autogreffés. Elle a montré par ailleurs l'avantage de la purification des îlots et d'une approche moins traumatisante pour la survie du greffon. Avec cette technique, l'efficacité de la greffe intramusculaire sur le contrôle glycémique a été confirmée chez quelques animaux. Ce succès est néanmoins moins important que lors de la greffe de cellules parathyroïdiennes. L'impact de la technique de greffe ainsi que la nécessité de purification des îlots montrent

une plus grande fragilité relative des îlots. Parmi les hypothèses pouvant expliquer ce phénomène, on peut retenir : le caractère toxique de la contamination du tissu exocrine au même titre que lors de culture d'îlots, la plus faible capacité de renouvellement des îlots en comparaison au tissu parathyroïdien, l'architecture plus complexe de l'îlot en temps qu'unité fonctionnelle en faisant un organe au sein d'un autre organe.

Bien qu'inférieure à la voie intraportale, les tests fonctionnels nous ont permis de valider le site intramusculaire pour la greffe d'îlots autologues. Ainsi, ces résultats ne permettaient pas de substituer ce site à la greffe intra-hépatique chez les patients diabétiques de type 1 en attente d'allogreffe. En revanche, les résultats obtenus et la grande simplicité de la greffe intramusculaire, permettaient d'envisager son application clinique dans le cadre d'autogreffe, lorsque le site intrahépatique semble difficile, notamment après pancréatectomie étendue pour lésion tumorale.

8.2. Transplantation d'îlots par voie intramusculaire après pancréatectomie distale post-traumatique : à propos d'un cas

La principale indication des autogreffes pancréatiques ou d'îlots est la pancréatectomie pour pancréatite chronique. Les progrès à venir dans le domaine de la greffe d'îlots devraient permettre d'élargir les indications d'autogreffes à d'autres pathologies plus rares comme les traumatismes pancréatiques. Certains traumatismes pancréatiques peuvent être traités par débridement et simple drainage. En cas de ruptures isthmiques, une pancréatectomie distale est cependant indiquée. En cas de traumatisme de la tête de l'organe et impliquant le canal, la procédure est plus complexe et peut nécessiter une duodéno pancréatectomie (Sharma 2012).

Dans le cas rapporté ci-après chez un patient de 23 ans pesant 65 kg, une section complète post-traumatique au niveau de la queue du pancréas était observée associée à un hématome et à une importante inflammation. Une pancréatectomie caudale (50%) a donc été pratiquée en urgence dans le service des urgences du CHRU de Lille a permis d'envisager l'isolement des îlots de Langerhans en vue d'une autogreffe.

L'isolement et la purification du pancréas caudal réséqué a permis de récupérer une préparation de 37 044 IEQ dans un culot de 1,2 mL, avec une pureté de 43%, et une viabilité de 100%. Devant l'absence d'anomalie anatomique du pancréas la préparation a été autogreffée dans le muscle brachioradial du bras non dominant (bras gauche) moins de 24 heures après la pancréatectomie sous anesthésie locale. La technique de greffe directement tirée de notre travail chez le Miniporc a consistée en 12 injections intramusculaires d'îlots sous contrôle de la vue par une courte incision cutanée.

Les suites opératoires immédiates ont été simples tant sur le plan pancréatique que sur le plan du greffon. Aucune complication ni symptôme n'ont été rapportés au cours de son suivi. Le patient n'est pas diabétique en post opératoire.

Ce cas clinique nous a permis de confirmer la faisabilité de l'autogreffe d'îlots par voie intramusculaire chez ce type de patient. L'organisation et la réalisation de la greffe ont pu être menées dans de bonnes conditions malgré le caractère urgent de la chirurgie pancréatique et la nécessité de coordination de plusieurs équipes chirurgicales. Il est cependant difficile dans ce contexte de pancréatectomie partielle d'établir un rapport entre l'absence de développement de diabète et la greffe étant donné le faible nombre d'îlots greffés, la taille du pancréas laissé en place et le jeune âge du patient sans surcharge pondérale.

Ceci souligne l'importance du développement d'un test susceptible d'évaluer et quantifier la fonction du greffon.

8.3. Documentation de la fonctionnalité de greffe autologues d'îlots par voie intramusculaire avec un recul supérieur à 1 an (manuscrit en préparation)

Dans les greffes d'îlots intraportales, la fonction des îlots greffés est évaluée par des méthodes indirectes incluant les dosages sériques de C-peptides et d'Hb glyquée. On utilise plus rarement l'étude de la tolérance à des charges glucidiques et/ou après stimulation par l'arginine dans la circulation périphérique. L'évaluation sélective de la fonction du greffon n'est cependant possible qu'en l'absence de sécrétion endogène chez le diabétique de type 1 ou après pancréatectomie totale. Les greffes par voie intramusculaire lorsqu'elles sont pratiquées dans le bras offrent l'opportunité d'évaluer plus directement la fonction du greffon en comparant les résultats des tests métaboliques dans le bras greffé versus le bras non greffé (Pattou, Kerr-Conte et al. 2010)

Une fois démontrées la faisabilité et l'innocuité des autogreffes d'îlots par voie intramusculaire, cette 3^{ème} étude avait pour objectif d'évaluer la fonction des îlots autogreffés dans le muscle chez 8 patients ayant subi une pancréatectomie partielle.

Dans ce but nous avons comparé la sécrétion d'insuline après stimulation par l'arginine mesurée simultanément dans le bras greffé et le bras non greffé 3 mois après l'autogreffe. Cette technique a été initialement décrite pour évaluer la fonction du greffon dans les autogreffes intramusculaires de parathyroïdes.

La méthode a consisté à quantifier la réponse insulinique à une charge en arginine. Ces mesures étaient faites à la greffe à 1-3 mois post-greffe puis annuellement.

Une augmentation de 20% de la réponse insulinique dans le bras greffé opposé au bras non greffé, était considérée comme une évidence de fonctionnalité du greffon. Avec ce critère 4/7 receveurs avaient un greffon fonctionnel dont un patient avec plus de 1 an de recul.

TITRE: Evaluation de la sécrétion de l'autogreffe intramusculaire d'îlots pancréatiques après pancréatectomie: étude pilote chez 8 patients.

Adrien Sterkers ^{1,2}, Gregory Baud ^{1,2}, Robert Caiazzo ^{1,2}, Fanelly Torres ^{1,2}, Raphael Degremont ^{1,2}, L. Quintane ², Violetta Raverdy ², Valery Gmyr ², M Scotte ⁴, Marie-Christine Vantghem^{2,3}, Julie Kerr-Conte², Thomas Hubert², François Pattou ^{1,2}.

Introduction

L'allogreffe intraportale d'îlots pancréatiques permet la restauration d'une insulinosécrétion endogène et la normalisation prolongée de l'équilibre glycémique chez les patients diabétiques de type 1 (Vantyghem, Kerr Conte et al. 2009). Parallèlement, l'autogreffe d'îlots de Langerhans a prouvé son efficacité pour prévenir le diabète lié à une pancréatectomie étendue voire totale. La majorité des autogreffes ont été réalisées après pancréatectomie chez des patients atteints de pancréatite chronique (Dong, Parsaik et al 2011 ; Bellin, Sutherland et al. 2011; Sutherland, Radosevich et al. 2012). Plus rarement, cette technique est envisagée pour une tumeur ou un traumatisme pancréatique (Ris, Niclauss et al. 2011, Oberholzer, Mathe et al. 2003, Lee et al. 2005, Garraway, Dean et al 2009, Jundal, Ricordi et al 2011, Dardenne, Sterkers et al. 2012, Balzano , Maffi et al. 2013, Kobayashi , Sato et al. 2012, Reddy, Wolfranget al. 2009; Lyegha, Asghar et al 2012).

Dans ces dernières indications, le site de référence intrahépatique semble inapproprié. Le risque d'une possible récurrence tumorale sur le greffon rend préférable la greffe dans un site accessible compatible avec l'explantation du greffon. De même le risque hémorragique accru chez les patients polytraumatisés liée à l'injection nécessairement conjointe des îlots et d'héparine en intraportal doit faire privilégier une technique de greffe mini invasive.

Nous avons récemment montré dans un modèle pré clinique que le site intramusculaire était une alternative possible au site intrahépatique. Ces résultats sont étayés dans la littérature par plusieurs cas qui démontrent la faisabilité du geste et la survie du greffon en intramusculaire (Pattou, Kerr Conte 2010; Rafael, Tibell et al. 2008). Néanmoins, le succès de cette technique ne peut être affirmé sans la démonstration univoque de la sécrétion du greffon associée à la réversibilité de la stimulation lors de l'exclusion des îlots greffés (Pattou, Kerr Conte et al. 1998).

Nous rapportons dans cette étude, les résultats de l'évaluation de la sécrétion de l'autogreffe intra-musculaire d'îlots après pancréatectomie chez huit patients. Inspirés du test de Casanova, nous avons notamment étudié l'intérêt de l'exclusion vasculaire du bras greffé lors de l'évaluation de la fonction du greffon.

Méthode

Caractéristiques des patients

Tous les patients ayant bénéficié d'une autogreffe intra musculaire d'îlots (AGIM) après pancréatectomie réglée au CHRU de Lille et de Rouen entre janvier 2009 et mai 2013 ont été inclus dans cette étude. Dans tous les cas, l'autogreffe d'îlots a été réalisée au décours immédiat d'une pancréatectomie étendue pour une pathologie bénigne et sporadique du pancréas. Les principales indications dans ce contexte étaient représentées par les patients atteints d'une tumeur endocrine du pancréas, de lésion kystique du pancréas, d'un traumatisme pancréatique ou d'une pancréatite chronique avec contre indication à la greffe intra portale. En dehors des traumatismes, une analyse anatomopathologique confirmant le caractère bénin de la tumeur a conditionné la réalisation de l'AGIM. Tous les patients recevaient une information détaillée et ont signé un consentement éclairé. L'ensemble de la procédure de la pancréatectomie à la greffe est illustré dans la figure 1.

Pancréatectomie

Toutes les résections pancréatiques ont été réalisées en laissant un maximum de parenchyme pancréatique in situ. La possible greffe d'îlots n'a jamais influencé l'étendue de la résection pancréatique.

La pancréatectomie était réalisée selon les règles de l'art. La résection était conduite en préservant le plus longtemps possible la vascularisation artérielle du pancréas afin de limiter la durée d'ischémie chaude. La présence d'une tumeur imposait soit la résection de la pièce de pancréatectomie puis son envoi au service d'anatomo-pathologie dont la réponse est obtenue dans les 48 heures suivant la pancréatectomie.

Une fois prélevé, le pancréas était immédiatement conditionné dans un liquide de conservation d'organes à 4°C. En cas de pancréatectomie réalisée à distance du site de production des îlots, un traceur de température était inséré dans le conditionnement au cours du transport afin de contrôler les fluctuations thermiques.

L'organe était ensuite acheminé vers l'Unité de préparation des Ilots Humains (UPIH) dans un délai minimal et toujours inférieur à 8 heures suivant l'intervention, pour limiter le temps d'ischémie froide.

Production et acheminement des îlots de Langerhans

La préparation des îlots était assurée par l'Unité de Préparation des Ilots Humains (UPIH) de l'unité l'INSERM U859. Les îlots étaient isolés selon la technique standardisée classiquement

réalisée pour les allogreffes. Le principe de l'isolement des îlots consistait en une digestion mécanique et enzymatique à l'aide d'une collagénase du pancréas, suivi d'une purification dans un gradient de densité.

Les îlots de Langerhans obtenus étaient ensuite mis en culture à 37°C dans un milieu enrichi dans l'attente des résultats d'anatomopathologie et ce pour une durée maximale de 3 jours. (Kerr conte, Vandewalle 2010)

Greffe d'îlots

Les îlots étaient transplantés dans le muscle de l'avant-bras, selon la technique mise au point au cours de nos études pré cliniques (Sterkers, Hubert 2013).

La greffe intramusculaire était réalisée sous anesthésie locale. Le patient était placé en décubitus dorsal. Après incision de 2 cm en regard du muscle brachioradial du bras non dominant, une dissection était réalisée plan par plan jusqu'à l'aponévrose.

Une seringue à insuline de 1 ml associée à une aiguille de taille 14G, étaient utilisées pour la réalisation de l'injection. Les îlots, qui étaient acheminés pour le transport dans des tubes Falcon de 15 ml ou 10 000 IE/tube, étaient préalablement décantés avant le prélèvement et le transfert dans la seringue. Les injections étaient effectuées à raison de 0,1 à 0,5 ml de volume cellulaire par injection avec un retrait progressif selon la technique « pearl on string » décrit par Christofferson et al (Christofferson, Henriksnas et al. 2010).

Figure 1 : de la pancréatectomie à l'autogreffe intramusculaire



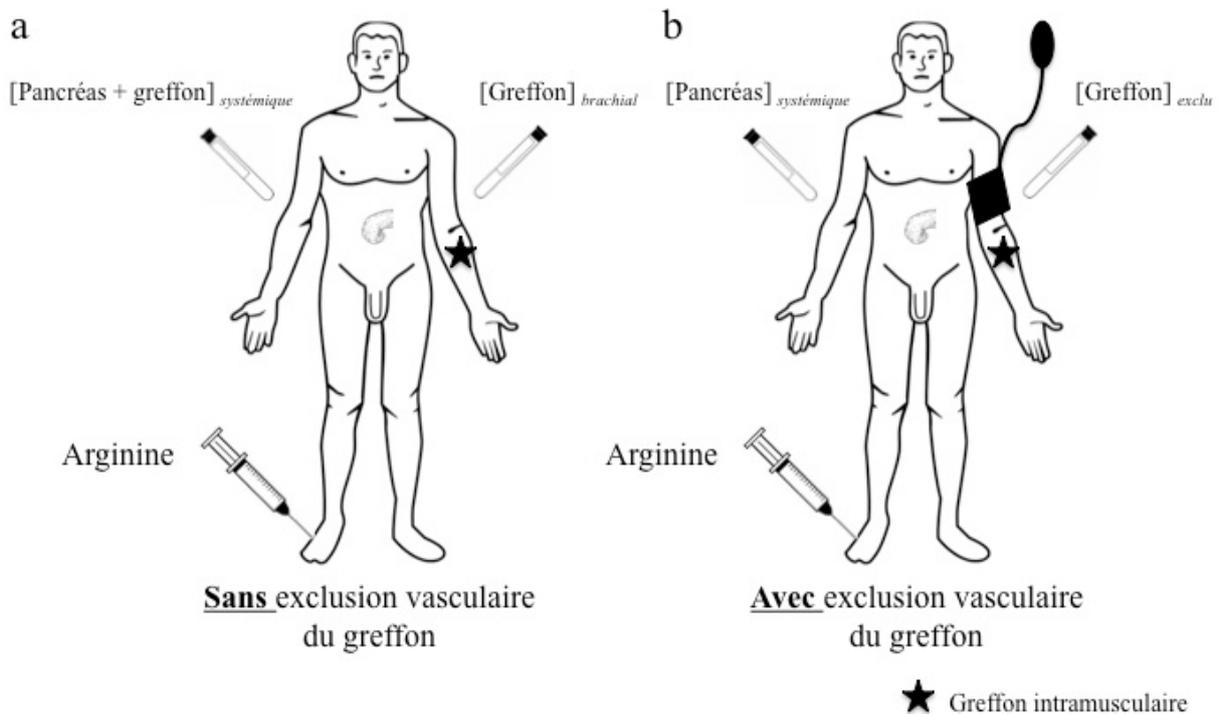
Évaluation de la fonction du greffon

Le suivi métabolique était réalisé par le diabétologue référent de chaque patient selon les recommandations en vigueur.

L'évaluation de la fonction primaire du greffon était réalisée 3 mois après la greffe. Pour la première patiente, la technique n'étant pas encore standardisée, l'évaluation de la fonction primaire du greffon a été réalisée un an après la greffe. La méthode d'évaluation était directement inspirée du test de Casanova utilisé lors de l'évaluation de la greffe de parathyroïdes (Tominaga, Matsuoka et al. 2010). Deux tests étaient ainsi réalisés, un sans exclusion du greffon et l'autre avec exclusion vasculaire du greffon (figure 2).

Dans un premier temps, chez un patient à jeun, une stimulation des îlots était provoquée par une injection de 2 ampoules d'arginine (8,4g) par voie IV sur 30 secondes. Des prélèvements veineux simultanés dans les deux bras étaient réalisés 10 minutes avant (T-10) puis régulièrement pendant 10 minutes à T0, T2, T3, T4, T5, T7 et T10 après l'injection d'arginine au vue de la mesure de l'insuline et du C peptide. Le but de ce test était de mesurer la différence de sécrétion d'insuline ou de C peptide entre le bras greffé et le bras systémique.

Figure 2 : tests de stimulation à l'arginine avec ou sans exclusion du greffon



Dans un deuxième temps, deux heures après la première stimulation, un brassard gonflable était disposé au niveau du bras (au-dessus de l'emplacement du greffon). Le brassard était gonflé à une pression de 80 mm de mercure au dessus de la pression systolique du patient afin d'assurer l'exclusion vasculaire du greffon. Une nouvelle injection d'arginine et les dosages simultanés dans les deux bras étaient ensuite réalisés selon les modalités décrites précédemment. Le but de ce test était d'apprécier d'une part, l'absence de stimulation du greffon lors de son exclusion vasculaire et d'autre part de quantifier par soustraction la sécrétion provenant du greffon.

Indices d'évaluation de la sécrétion d'insuline et de C peptide

L'indice de stimulation à l'insuline (ISI) correspondait à la moyenne des taux d'insuline aux temps T2, T3, T4 et T5 après l'administration de l'arginine en l'absence d'exclusion du greffon. Il était calculé dans le bras greffé (ISlg) et le bras systémique (ISIs).

ISI= insulémie moyenne T2, T3, T4, T5

La réponse à l'insuline (*Acute Insulin Response* ou AIR) se calculait grâce aux dosages faits en l'absence d'exclusion du greffon. Elle correspondait à la moyenne des taux d'insuline aux temps T2, T3, T4 et T5 (AIR5) ou aux temps T2, T3, T4, T5, T7 et T10 (AIR10) après l'administration de l'arginine moins le taux d'insuline basale au moment de l'administration (T0). Il était calculé dans le bras greffé (AIR5g et AIR10g) et le bras systémique (AIR5s et AIR10s).

AIR= insulémie moyenne {T2, T3, T4, T5,(T7, T10)}- T0

De la même manière la réponse au C peptide (*Acute C peptide Response* ou ACR) était calculée en l'absence d'exclusion du greffon. Elle correspondait à la moyenne des taux de C peptide aux temps T2, T3, T4 et T5 (ACR5) ou aux temps T2, T3, T4, T5, T7 et T10 (ACR10) après l'administration de l'arginine moins le taux de C peptide basal au moment de l'administration (T0). Il était calculé dans le bras greffé (ACR5g et ACR10g) et dans le bras systémique non greffé (ACR5s et ACR10s).

ACR= C peptide moyen {T2, T3, T4, T5,(T7, T10)} - T0

Enfin, la réponse à l'insuline avec exclusion du greffon (Casa) correspondait à la moyenne des taux d'insuline aux temps T2, T3, T4 et T5 après l'administration de l'arginine moins le taux d'insuline basale au moment de l'administration (T0). Il était calculé dans le bras greffé (Casag) et systémique non greffé (Casas) après l'exclusion du greffon.

Analyses statistiques

Les résultats étaient exprimés par la médiane et l'écart interquartile lorsque la distribution des données ne suivait pas la loi normale (cas le plus fréquent) et par la moyenne plus ou moins écart type dans le cas contraire. Ces variables étaient comparées au sein des différents groupes à l'aide du test U de Mann Withney. Les variables nominales étaient comparées entre elles par un test de Fisher. Les corrélations ont été analysées à l'aide du test de Pearson Une valeur de $p < 0,05$ était considérée comme significative.

Résultats

Caractéristiques des patients et des greffons.

De 2009 à 2013, 8 patients ont bénéficié d'une pancréatectomie associée à une autogreffe d'îlots de Langerhans dans le muscle brachioradial de l'avant bras non dominant. Les caractéristiques des patients, les indications de pancréatectomie et le pourcentage de résection pancréatique sont résumés dans la table 1. Les patients ont été greffés avec 54533.5 IEQ [37110.75 ; 107300]. Les caractéristiques des isolements pour chaque patient sont résumés dans la table 2. Le suivi médian des patients était de 3 mois [3 ; 12]. Aucune complication liée à la greffe n'a été reportée au cours du suivi. Les pancréatectomies ont été réalisées dans la même ville que le site de production des îlots, seule la patiente 7 a été pancréatectomisée au CHU de Rouen distant de plus de 300 km du site de production des îlots.

Table 1 : Caractéristiques des patients

Patient	Age (année)	Sexe	Pathologie pancréatique	Résection (%)
1	48	F	Insulinome	80
2	50	F	Insulinome	50
3	23	M	Traumatisme pancréatique	30
4	58	M	Pancréatite chronique	50
5	36	F	TIPMP	80
6	18	M	Traumatisme pancréatique	30
7	67	F	Tumeur neuroendocrine pancréatique	50
8	54	M	Suspicion de tumeur pancréatique	50

Abréviations: TIPMP: Tumeur Intracanalaire Papillaire et Mucineuse du Pancréas

Table 2 : Caractéristiques des greffons

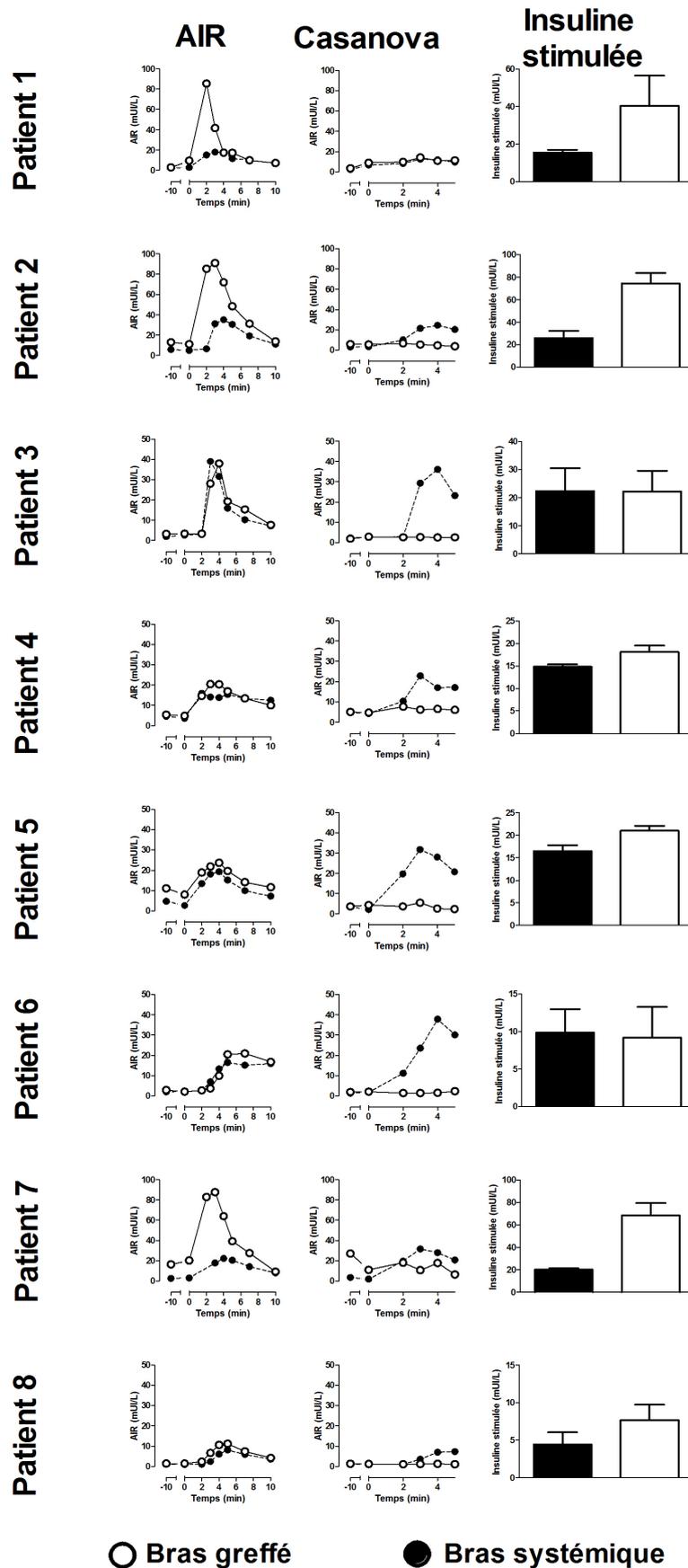
Patient	Nombre d'îlots greffés (IEQ)	Pureté (%)	Viabilité (%)	Volume du culot (ml)	Durée de culture (j)
1	94667	30	91	1,4	2
2	61567	30	98	4,1	3
3	37044	40	100	1,2	1
4	11516	2	95	4,5	1
5	111512	40	95	4,2	2
6	37311	20	97	3,8	1
7	135067	60	98	1,5	2
8	47500	40	90	1,7	3

Abréviations: IEQ: Ilot équivalent

Evaluation des îlots greffés

Au total, 15 tests ont été réalisés chez les 8 patients. L'ensemble de ces tests se sont déroulés dans de bonnes conditions. Lors de l'évaluation de la fonction primaire du greffon, 6/8 patients étaient normoglycémiques, 1 était intolérant aux hydrates de carbone (glycémie à jeun=1,17, post prandial = 1,53, HbA1c= 6,2%). Ce dernier avait reçu 61567 IEQ après une hémipancreatectomie afin de réaliser l'exérèse d'un insulinome, ne permettant pas d'évaluer l'équilibre glycémique de la patiente avant pancréatectomie (patiente 2). Un seul patient était diabétique 3 mois après la greffe (Glycémie à jeun= 1,21, glycémie à 2 heures=2,4, Hba1c=6,8%). Il avait reçu la plus faible quantité d'îlots lors de la greffe et avait une glycémie à jeun préopératoire comprise entre 1,1-1,26 g/dl (patient 4). Un différentiel de sécrétion d'insuline a été retrouvé chez 5 des patients. Un différentiel entre les AIR et les ACR des deux bras était retrouvé respectivement chez 4 et 5 patients. L'exclusion du bras greffé abolissait la stimulation du greffon dans tous les cas. Un différentiel de sécrétion était retrouvé dans le bras droit avant et après exclusion du bras greffé chez 2 patients.

Figure 3 : Tests de stimulation à l'arginine 3 mois après AGIM



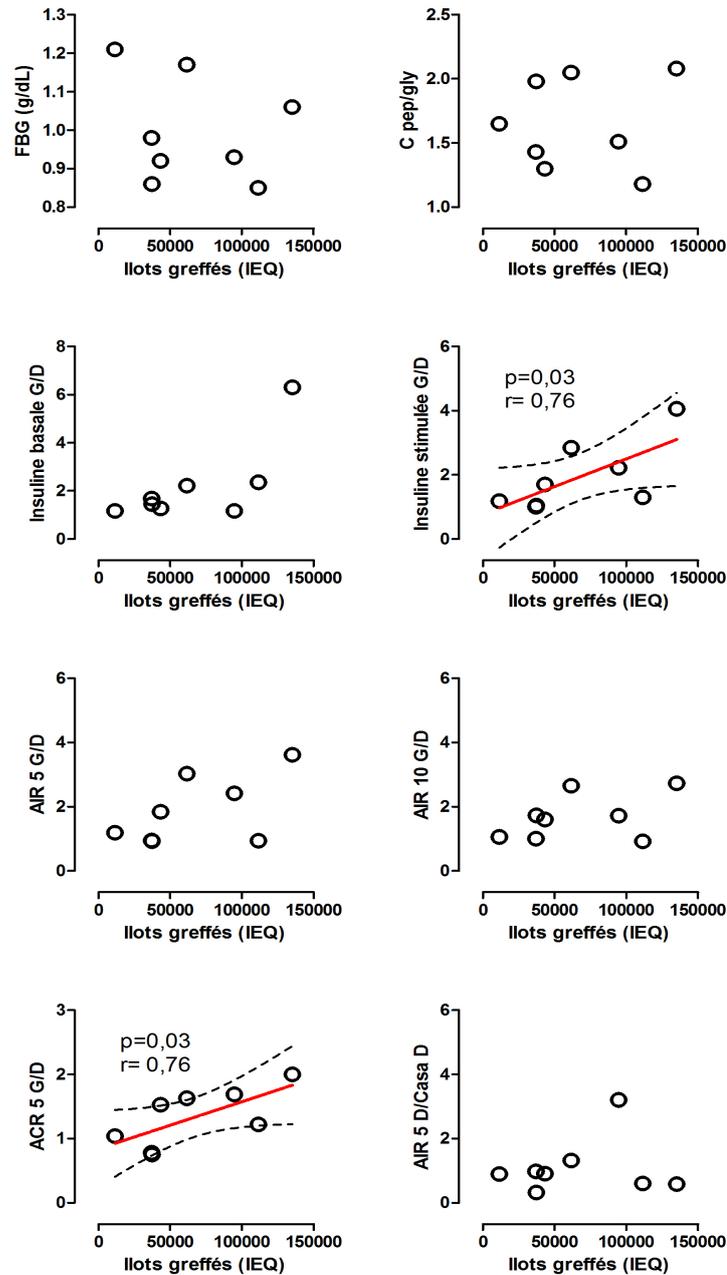
Corrélation de la fonction de la greffe intramusculaire et de la quantité d'îlots greffés

Pour explorer l'association entre la fonction du greffon et son profil de sécrétion, nous avons comparé l'ensemble des tests décrits à la masse d'îlots greffés. La masse d'îlots greffés n'était pas corrélée à la glycémie à jeun ou au rapport C peptide/glycémie. Parmi les différents indices de sécrétion le gradient de l'ISI mesuré dans les deux bras était corrélé à la masse d'îlots greffés ($r=0,76$; $p=0,03$). Le rapport des ACR5 était également corrélé à la masse d'îlots greffés ($r=0,76$; $p=0,03$).

Evaluation de la fonction du greffon au cours du temps

Quatre patients ont bénéficié d'une évaluation précoce du greffon entre 10 et 45 jours après la greffe (patients 3, 5, 6 et 7 respectivement à J30, J10, J30, et J45). Lors de cette visite de contrôle trois des patients étaient normoglycémiques, une avait une intolérance au glucose (patiente n°7). Un gradient de sécrétion avait été retrouvé chez une seule patiente 1 mois après sa greffe (patiente n°7). Lors de l'évaluation des trois mois l'ensemble des patients était normoglycémique. Deux patients sur quatre présentaient un différentiel de sécrétion d'insuline stimulée ou d'ACR5 entre les deux bras (patiente n°5 et 7) qui avaient augmenté dans ce délai (ACR5: respectivement 0,43 vs 1,22 et 1,35 vs 2,00; insuline stimulée: 1,14 vs 1,30 et 2,39 vs 4,06). Trois patients ayant une fonction documentée à 3 mois ont atteint un suivi de plus d'un an. Le premier a bénéficié d'une évaluation de son greffon à 1 et 3 ans et les deux suivants à 1 an. Les trois patients conservaient une fonction de leur greffon lors du dernier contrôle.

Figure 4 : Corrélation de la fonction du greffon avec la masse d'îlots greffée



Evaluation de la fonction du greffon 3 mois après pancréatectomie : l'utilisation de critères classiques tel que la glycémie à jeun (figure A), ou le rapport C peptide/ glycémie (figure B) ne permettait pas d'évaluer la fonction du greffon. Seul les rapports de L'ACR et de l'insuline stimulée du bras greffé sur le bras non greffés présentaient une corrélation avec le nombre d'îlots greffés (figures D et G) ($p=0,03$, $r=0,76$). La présence d'une insulïnémie basale plus importante dans le bras greffé peut en partie expliquer la moins bonne corrélation de l'AIR5 et de l'AIR10 (figure C, E et F). La réalisation d'un test d'exclusion ne permettait pas de retrouver une reproductibilité suffisante pour évaluer la fonction du greffon (figure H).

Discussion

Dans cette étude, nous avons documenté par un test dynamique de sécrétion la fonction primaire des îlots greffés chez 5/8 patients après trois mois ainsi que sa persistance à plus d'un an chez trois patients. Enfin, nous avons également montré que le gradient d'insulinémie entre le bras greffé et le bras systémique était corrélé avec la masse d'îlots greffés.

En présence d'une partie du pancréas natif, les indices classiques de fonction du greffon utilisés dans le cadre des allogreffes n'étaient pas relevant. Au même titre que lors de la greffe de tissu parathyroïdien il est cependant possible de mettre en évidence un gradient de sécrétion entre les deux bras. Une stimulation à l'arginine nous a permis ainsi de sensibiliser le test en augmentant le différentiel entre les deux bras chez l'ensemble des patients greffés. Plusieurs indicateurs ont été évalués dans cette étude. Etant donné l'étendue variable de la résection pancréatique chez nos patients, l'équilibre glycémique ne peut être utilisé comme critère de jugement pour quantifier la fonction du greffon. De même les autres indicateurs habituels de la fonction du greffon tel que le rapport C peptide /glycémie ne semblait pas adapté. Le nombre d'îlots transplantés n'est que grossièrement corrélé à la fonction du greffon lors d'une allogreffe d'îlots. Il existe dans ce cas une grande variabilité interindividuelle de la fonction des îlots du donneur. Dans notre cas les résultats fonctionnels semblait bien mieux corrélés à la masse d'îlots greffés au même titre que les autogreffes intrahépatique (Suttherland, Gruessner et al. 2008). Dans notre étude, le gradient entre les valeurs d'insulinémie mesuré après stimulation dans les deux bras est apparu l'indice le plus précis. La moins bonne performance de l'AIR peut sembler surprenante. Elle s'explique vraisemblablement par des taux déjà élevés dans le bras greffé avant la stimulation. De même, la demi vie plus longue du C peptide a tendance à diminuer la différence observé à un état basal entre les deux bras, expliquent la corrélation de l'ACR5g/ACR5d au nombre d'îlots greffés. Par ailleurs, nous n'avons pas retrouvé d'intérêt à prolonger le test au delà de 5 minutes. Dans ce contexte il nous semble donc préférable pour le confort du patient de limiter le nombre d'échantillons et la durée du test. Le test d'exclusion vasculaire n'a permis de quantifier la participation de la greffe à la sécrétion d'insuline totale que dans deux cas sur cinq en comparant les rapports AIRg/Casag. La mauvaise reproductibilité de ce test est vraisemblablement lié à la comparaison de prélèvement non simultanés, induisant une variabilité intra individuelle trop importante.

De manière intéressante, nous avons observé une augmentation de la sécrétion d'insuline et de C peptide stimulé chez deux patients entre le premier et le troisième mois. Ces résultats préliminaires semblent aller dans le sens d'une revascularisation progressive des îlots et de leur fonction différé plus longtemps encore que les îlots transplantés en intrahépatique (Vanthyghem, Raverdy 2009). De la même manière, la fonction des îlots semble persister avec le temps. Notre première patiente a atteint un suivi de trois ans avec un équilibre glycémique subnormal et une fonction du greffon persistante. Ces résultats semblent corroborer les études démontrant une meilleure stabilité de la fonction des autogreffes par rapport aux allogreffes. (Sutherland, Gruessner et al. 2008)

L'évaluation de l'impact métabolique ne faisait pas partie des objectifs de cette étude. Il sera évalué dans une étude actuellement en cours. Plusieurs indices peuvent néanmoins être notés dans cette étude. Il est admis que l'exérèse de plus de la moitié du pancréas induit un diabète (Yamaguchi, Yokohata et al. 2000). Une hémipancreatectomie réalisée chez un donneur sain en vue d'une greffe familiale induit une intolérance au glucose ou un diabète chez plus de la moitié des donneurs (Kumar, Gruesser et al. 2008). Le bon équilibre glycémique observé chez 4 de nos 5 patients ayant une fonction primaire du greffon semble donc en partie lié à la sécrétion du greffon. Ces constatations sont étayées par le cas de la patiente 7 qui a amélioré sa fonction glycémique entre la première évaluation précoce et son évaluation à 3 mois. Le seul patient diabétique, lors de l'évaluation du greffon à trois mois, n'avait reçu qu'un nombre très restreint d'îlots. De même, il n'a pas été possible de mettre en évidence de fonction chez deux autres patients ayant subi une pancréatectomie limitée, diminuant ainsi le rapport entre la sécrétion globale d'insuline et la sécrétion spécifique du greffon. Ces éléments suggèrent de limiter l'indication de greffe lorsque l'isolement compte au moins 30000 IEQ après pancréatectomie d'au moins 50% du parenchyme.

A notre connaissance, cette courte série représente le plus grand nombre de cas de greffe intramusculaire rapporté dans la littérature. Les premiers essais rapportés en 1978 par Weber et al. n'avaient pu démontrer la prise du greffon en l'absence de fonction évidente (Weber, Hardy 1978). En 1997, Stegall et al. ont pu montrer la survie transitoire du greffon, documentée par la présence de cellules sécrétant de l'insuline et du glucagon en immunohistochimie chez trois patients allogreffés en intramusculaire (Stegall 1997), démontrant ainsi la faisabilité et l'innocuité du geste. En 2011, Christoffersson et al. ont pu grâce à l'IRM, retrouver des signes évocateurs de la survie du greffon chez trois patients. Parmi eux, un seul avait une augmentation du C peptide basal trois mois après la greffe. Nous avons également rapporté un cas d'autogreffe d'îlots transplantés dans le muscle

brachioradial (Patiente 1) et grâce à une scintigraphie marquant les récepteurs du GLP1 démontrer de manière univoque la survie prolongée des îlots dans le muscle (Pattou, Kerr-Conte et al. 2010). Si la survie du greffon ne semblait plus faire de doute, la démonstration de la fonction était moins évidente. En dehors du cas rapporté dans la littérature et inclus dans cette étude, les différences de sécrétion avant et après greffe étaient de relative faible amplitude. Dans le premier cas de Rafael et al., la préservation duodénale rend probable la persistance de parenchyme pancréatique. Lors de l'évaluation fonctionnelle du greffon seul un gradient de faible amplitude a été mis en évidence. Dans les autres cas décrits par Christoffersson, seul un patient avait une concentration de C peptide basal détectable 3 à 6 mois après greffe. D'après notre étude, une augmentation de plus de 20% semble nécessaire pour affirmer la fonction du greffon. Cette augmentation de sécrétion pouvait aller jusqu'à 300%.

En conclusion, l'autogreffe d'îlots intramusculaires est une technique mini invasive, qui permet de limiter la diminution de la sécrétion en insuline après pancréatectomie. La démonstration d'une fonction du greffon est rendue possible par l'évaluation de la stimulation de sécrétion de l'insuline et du C peptide dans les deux bras. Nos résultats suggèrent la participation significative du greffon à l'amélioration de l'équilibre glycémique mais doit être confirmé par d'autres études.

9. Conclusions/Perspectives

La transplantation d'îlots est une thérapeutique prometteuse pour le traitement du diabète de type 1 et après pancréatectomie. Depuis l'avancée majeure du protocole d'Edmonton, malgré d'intenses recherches pour améliorer cette thérapeutique l'insulinoindépendance n'est que de 60% à 2 ans et baisse à 10% à 5 ans. Parmi les facteurs déterminants pour le succès de la greffe, le site d'implantation joue certainement un rôle majeur.

Si la recherche d'un nouveau site peut permettre une amélioration des résultats de la greffe en évitant les écueils liés au site intra-hépatique, la recherche d'un nouveau site est surtout une formidable opportunité de développer des techniques adjuvantes permettant l'amélioration de l'implantation des îlots ou diminuant le risque de rejet immunitaire ou d'assurer un site d'accueil d'une nouvelle source de cellules sécrétant de l'insuline dans un cadre sécuritaire.

L'amélioration de la greffe d'îlots fait l'objet actuellement de nombreuses études chez l'animal. Parmi les pistes envisagées, l'utilisation de cellules souches mésenchymateuses est la piste la plus aboutie actuellement (Figliuzzi, Cornolti et al. 2009; Olerud, Kanaykina et al. 2009; Sakata, Hayes et al. 2009; Ito, Itakura et al. 2010; Melzi, Antonioli et al. 2010; Kerby, Jones et al. 2013; Rackham, Dhadda et al. 2013). L'un des principaux effets recherchés est de favoriser la revascularisation du greffon et d'induire une certaine forme de tolérance immunitaire (Solari, Srinivasan et al. 2009). Les cellules souches mésenchymateuses, employés dans l'ischémie-reperfusion des tissus tels que le myocarde, le cerveau et les membres inférieurs, permettent l'expression locale de PDGF, d'angiopoïétine et de VEGF (Ball, Shuttleworth et al. 2007; Zacharek, Chen et al. 2007). Les cellules souches mésenchymateuses permettent par ailleurs de favoriser la recolonisation des tissus par des cellules endothéliales (Ghajar, Blevins et al. 2006). Cette hypothèse a été testée in vitro par Johansson et collaborateurs qui lors de la co-culture de cellules endothéliales et de cellules souches avec des îlots ont mis en évidence la formation de néo-vaisseaux avec une amélioration de la survie des îlots et de la sécrétion en insuline (Johansson, Rasmusson et al. 2008). Ces résultats encourageants ont été reproduits chez la Souris démontrant un meilleur fonctionnement et une meilleure revascularisation des îlots greffés dans un modèle murin (Ito, Itakura et al. 2010). Ces résultats ont permis la réalisation d'un essai co-transplantation îlots + cellules souches mésenchymateuses chez l'Homme dont les résultats sont restés mitigés (Mineo, Ricordi et al. 2008). Dans cette étude, la greffe avait pour but de favoriser le chimérisme afin d'induire une tolérance immunitaire. L'intérêt de cellules souches pour l'implantation du greffon n'a pas été évalué. Ceci s'explique probablement par le choix

du site intra-hépatique qui limite l'action locale décrite dans les modèles précédemment cités. Enfin le risque théorique de développement de tératome impose un site accessible à l'explantation (Melzi, Antonioli et al. 2010).

Dans le contexte actuel de pénurie de donneurs, la recherche d'une source alternative de cellules produisant de l'insuline en vue de son application clinique fait l'objet de nombreux travaux. Parmi les pistes susceptibles d'aboutir dans un avenir proche, deux orientations semblent se détacher : la xénotransplantation et la différenciation *in vitro* de cellules souches. Dans ces deux cas le suivi du greffon et son accès à l'explantation reste une condition essentielle pour le développement de ces techniques. La production de cellules sécrétrices d'insuline à partir de cellules souches embryonnaires a connu un regain d'intérêt depuis la publication de Kroon et al., Schulz et al. (Kroon, Martinson et al. 2008; Kelly, Chan et al. 2011; Schulz, Young et al. 2012), décrivant une technique reproductible à l'échelle industrielle. Cette technique soulève cependant des questions concernant sa sécurité liés notamment au risque de tératome (Kroon, Martinson et al. 2008). Même si l'utilisation dans ce cadre d'un dispositif immunoisolant devrait permettre de diminuer le risque d'envahissement local d'un éventuel tératome, l'utilisation d'un site accessible à l'explantation semble essentiel. Parallèlement, d'autres méthodes de génération de cellules productrices d'insuline par transdifférenciation ou expansion de cellules pancréatiques primaires ou à partir de cellules souches adultes sont en cours d'évaluation (Efrat 2013). Ces expérimentations offrent un large panel de cellules à des stades de différenciation variés et souvent hétérogènes dont l'implantation chez l'Homme semble encore difficile à court terme (Efrat 2013). Parallèlement, la xénotransplantation continue de faire l'objet d'études précliniques chez le Primate (van der Windt, Bottino et al. 2012). Certaines études avec des îlots de porcs déficients en alpha 1,3 galactosyltransférase suggèrent un rôle majeur du rejet hyperaigu de la xénotransplantation (Thompson, Badell et al. 2011). La recherche d'un site d'implantation optimal conditionne également cette voie de recherche (van der Windt, Bottino et al. 2012). Trois sites ont déjà été testés dans ce cadre : la cavité péritonéale (Sun, Tang et al. 1996), l'épiploon (Hecht, Eventov-Friedman et al. 2009) et la graisse sous-cutanée (Dufrane, Goebbels et al. 2010). Dans cette dernière étude les auteurs ont privilégié le site sous-cutané pour tester l'immunoprotection des îlots par une capsule d'algininate (Dufrane, Goebbels et al. 2010). Le site intra-portal revêt comme principal inconvénient une limitation du nombre d'îlots à greffer du fait du risque potentiel de thrombose portale. Le site alternatif le plus employé dans cette indication était jusque là la cavité péritonéale qui nécessite cependant une procédure invasive et rend difficile l'explantation de la totalité des îlots greffés.

Le muscle est donc un site phare pour le développement d'un site alternatif. Ce site est richement vascularisé et a déjà montré sa capacité à revasculariser d'autres organes endocrines. Son site extravasculaire doit permettre d'éviter l'IBMIR. Il s'agit d'un site non immunoprivilégié mais accessible aux biomatériaux. C'est une procédure résolument mini-invasive principalement attractive par son extrême accessibilité aux biopsies, à l'imagerie et aux explantations, comme c'est le cas pour les parathyroïdes.

Enfin, le site intramusculaire permet un formidable site d'évaluation des îlots. Le site est situé à distance de son organe et permet l'évaluation du greffon après exclusion du greffon au même titre que la greffe de parathyroïde. Cette accessibilité permet d'élargir les indications de greffe telles que la greffe avec des tumeurs. Sa faible exploration dans la littérature dans un modèle préclinique avant des essais cliniques est probablement à l'origine de plusieurs essais infructueux de passage à la clinique.

Bibliographie

- (Clinical Trial. 1993). "The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group." *N Engl J Med* 329(14): 977-986.
- (Expert Committee 2003). "Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus." *Diabetes Care* 26 Suppl 1: S5-20.
- (Expert Committee 2013). "Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus." *Diabetes Care* 36 Suppl 1: S67-74.
- Abu-Bakare, A., R. Taylor, et al. (1986). "Tropical or malnutrition-related diabetes: a real syndrome?" *Lancet* 1(8490): 1135-1138.
- Ahmed, S. A., C. Wray, et al. (2006). "Chronic pancreatitis: recent advances and ongoing challenges." *Curr Probl Surg* 43(3): 127-238.
- Akhurst, B., E. J. Croager, et al. (2001). "A modified choline-deficient, ethionine-supplemented diet protocol effectively induces oval cells in mouse liver." *Hepatology* 34(3): 519-522.
- Al-Samarrai, A. Y., S. J. Crankson, et al. (1988). "Autotransplantation of lingual thyroid into the neck." *Br J Surg* 75(3): 287.
- Alderson, D., J. R. Farndon, et al. (1984). "Islet autotransplantation in the pancreatectomized dog: effect of time on graft function." *World J Surg* 8(4): 590-597.
- Alejandro, R., R. Lehmann, et al. (1997). "Long-term function (6 years) of islet allografts in type 1 diabetes." *Diabetes* 46(12): 1983-1989.
- Andralojc, K. M., A. Mercalli, et al. (2009). "Ghrelin-producing epsilon cells in the developing and adult human pancreas." *Diabetologia* 52(3): 486-493.
- Ao, Z., K. Matayoshi, et al. (1993). "Survival and function of purified islets in the omental pouch site of outbred dogs." *Transplantation* 56(3): 524-529.
- Ault, A. (2003). "Edmonton's islet success tough to duplicate elsewhere." *Lancet* 361(9374): 2054.
- Axen, K. V. and F. X. Pi-Sunyer (1981). "Long-term reversal of streptozotocin-induced diabetes in rats by intramuscular islet implantation." *Transplantation* 31(6): 439-441.
- Balamurugan, A. N., Y. Chang, et al. (2003). "Flexible management of enzymatic digestion improves human islet isolation outcome from sub-optimal donor pancreata." *Am J Transplant* 3(9): 1135-1142.
- Ball, S. G., C. A. Shuttleworth, et al. (2007). "Mesenchymal stem cells and neovascularization: role of platelet-derived growth factor receptors." *J Cell Mol Med* 11(5): 1012-1030.
- Ballinger, W. F. and P. E. Lacy (1972). "Transplantation of intact pancreatic islets in rats." *Surgery* 72(2): 175-186.
- Balzano, G., P. Maffi, et al. (2013). "Extending Indications for Islet Autotransplantation in Pancreatic Surgery." *Ann Surg* 258(2): 210-218.
- Barzilai, D., G. Dickstein, et al. (1980). "Complete remission of Cushing's disease by total bilateral adrenalectomy and adrenal autotransplantation." *J Clin Endocrinol Metab* 50(5): 853-856.
- Basta, G., P. Montanucci, et al. (2011). "Long-term metabolic and immunological follow-up of nonimmunosuppressed patients with type 1 diabetes treated with microencapsulated islet allografts: four cases." *Diabetes Care* 34(11): 2406-2409.

- Bellin, M. D., A. N. Balamurugan, et al. (2012). "No islets left behind: islet autotransplantation for surgery-induced diabetes." *Curr Diab Rep* 12(5): 580-586.
- Bellin, M. D., G. J. Beilman, et al. (2013). "Islet autotransplantation to preserve beta cell mass in selected patients with chronic pancreatitis and diabetes mellitus undergoing total pancreatectomy." *Pancreas* 42(2): 317-321.
- Bellin, M. D., D. E. Sutherland, et al. (2011). "Similar islet function in islet allotransplant and autotransplant recipients, despite lower islet mass in autotransplants." *Transplantation* 91(3): 367-372.
- Bennet, W., B. Sundberg, et al. (1999). "Incompatibility between human blood and isolated islets of Langerhans: a finding with implications for clinical intraportal islet transplantation?" *Diabetes* 48(10): 1907-1914.
- Bergman, R. N. (1989). "Lilly lecture 1989. Toward physiological understanding of glucose tolerance. Minimal-model approach." *Diabetes* 38(12): 1512-1527.
- Berkowitz, K., R. Peters, et al. (1996). "Effect of troglitazone on insulin sensitivity and pancreatic beta-cell function in women at high risk for NIDDM." *Diabetes* 45(11): 1572-1579.
- Berman, D. M., J. J. O'Neil, et al. (2009). "Long-term survival of nonhuman primate islets implanted in an omental pouch on a biodegradable scaffold." *Am J Transplant* 9(1): 91-104.
- Berney T, Ferrari-Lacraz S et al. (2009) « Long-term insulin-independence after allogeneic islet transplantation for type 1 diabetes: over the 10-year mark. » *Am J Transplant*.9(2):419-23.
- Berney T, Mathe Z, et al. (2004) « Islet autotransplantation for the prevention of surgical diabetes after extended pancreatectomy for the resection of benign tumors of the pancreas. *Transplant Proc*.36(4):1123-4.
- Bhargava, R., P. A. Senior, et al. (2004). "Prevalence of hepatic steatosis after islet transplantation and its relation to graft function." *Diabetes* 53(5): 1311-1317.
- Biarnes, M., M. Montolio, et al. (2002). "Beta-cell death and mass in syngeneically transplanted islets exposed to short- and long-term hyperglycemia." *Diabetes* 51(1): 66-72.
- Blondet, J. J., A. M. Carlson, et al. (2007). "The role of total pancreatectomy and islet autotransplantation for chronic pancreatitis." *Surg Clin North Am* 87(6): 1477-1501, x.
- Bolli, G., P. de Feo, et al. (1983). "Abnormal glucose counterregulation in insulin-dependent diabetes mellitus. Interaction of anti-insulin antibodies and impaired glucagon and epinephrine secretion." *Diabetes* 32(2): 134-141.
- Bolli, G. B., D. Kerr, et al. (2009). "Comparison of a multiple daily insulin injection regimen (basal once-daily glargine plus mealtime lispro) and continuous subcutaneous insulin infusion (lispro) in type 1 diabetes: a randomized open parallel multicenter study." *Diabetes Care* 32(7): 1170-1176.
- Bonner-Weir, S., M. Taneja, et al. (2000). "In vitro cultivation of human islets from expanded ductal tissue." *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(14): 7999-8004.
- Bonner-Weir, S., E. Toschi, et al. (2004). "The pancreatic ductal epithelium serves as a potential pool of progenitor cells." *Pediatr Diabetes* 5 Suppl 2: 16-22.
- Borch-Johnsen, K. (1999). "Improving prognosis of type 1 diabetes. Mortality, accidents, and impact on insurance." *Diabetes Care* 22 Suppl 2: B1-3.
- Borot, S., V. Lapierre, et al. (2010). "Results of cryopreserved parathyroid autografts: a retrospective multicenter study." *Surgery* 147(4): 529-535.
- Bramis, K., A. N. Gordon-Weeks, et al. (2012). "Systematic review of total pancreatectomy and islet autotransplantation for chronic pancreatitis." *Br J Surg* 99(6): 761-766.
- Brunzell JD, Robertson RP, et al. (1976) « Relationships between fasting plasma glucose levels and insulin secretion during intravenous glucose tolerance tests. » *J Clin Endocrinol Metab*.42(2):222-9.
- Butler AE, Janson J, et al. (2003) « Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in

- humans with type 2 diabetes. »Diabetes.52(1):102-10.
- Butler, P. C. and R. A. Rizza (1991). "Contribution to postprandial hyperglycemia and effect on initial splanchnic glucose clearance of hepatic glucose cycling in glucose-intolerant or NIDDM patients." *Diabetes* 40(1): 73-81.
- Caiazzo, R., V. Gmyr, et al. (2007). "Evaluation of alternative sites for islet transplantation in the minipig: interest and limits of the gastric submucosa." *Transplant Proc* 39(8): 2620-2623.
- Caiazzo, R., V. Gmyr, et al. (2008). "Quantitative in vivo islet potency assay in normoglycemic nude mice correlates with primary graft function after clinical transplantation." *Transplantation* 86(2): 360-363.
- Calafiore, R., G. Basta, et al. (2006). "Microencapsulated pancreatic islet allografts into nonimmunosuppressed patients with type 1 diabetes: first two cases." *Diabetes Care* 29(1): 137-138.
- Cantarelli, E., R. Melzi, et al. (2009). "Bone marrow as an alternative site for islet transplantation." *Blood* 114(20): 4566-4574.
- Cantarelli, E. and L. Piemonti (2011). "Alternative transplantation sites for pancreatic islet grafts." *Curr Diab Rep* 11(5): 364-374.
- Carlsson, P. O. (2011). "Influence of microenvironment on engraftment of transplanted beta-cells." *Ups J Med Sci* 116(1): 1-7.
- Carlsson, P. O., P. Liss, et al. (1998). "Measurements of oxygen tension in native and transplanted rat pancreatic islets." *Diabetes* 47(7): 1027-1032.
- Carlsson, P. O., F. Palm, et al. (2002). "Low revascularization of experimentally transplanted human pancreatic islets." *J Clin Endocrinol Metab* 87(12): 5418-5423.
- Carroll, P. B., H. L. Rilo, et al. (1995). "Long-term (> 3-year) insulin independence in a patient with pancreatic islet cell transplantation following upper abdominal exenteration and liver replacement for fibrolamellar hepatocellular carcinoma." *Transplantation* 59(6): 875-879.
- Carter, W. B., K. Uy, et al. (2000). "Parathyroid-induced angiogenesis is VEGF-dependent." *Surgery* 128(3): 458-464.
- Casey, J. J., J. R. Lakey, et al. (2002). "Portal venous pressure changes after sequential clinical islet transplantation." *Transplantation* 74(7): 913-915.
- Caumo A, Maffi P, et al. « Transplant estimated function: a simple index to evaluate beta-cell secretion after islet transplantation. » *Diabetes Care*.31(2):301-5.
- Caumo A, Maffi P, et al. (2011) « Comparative evaluation of simple indices of graft function after islet transplantation. » *Transplantation*. 2011 92(7):815-21.
- Chang, E. N., C. H. Scudamore, et al. (2004). "Transplantation: focus on kidney, liver and islet cells." *Can J Surg* 47(2): 122-129.
- Choudhary, P. and S. A. Amiel (2011). "Hypoglycaemia: current management and controversies." *Postgrad Med J* 87(1026): 298-306.
- Christofferson, G., J. Henriksnas, et al. (2010). "Clinical and experimental pancreatic islet transplantation to striated muscle: establishment of a vascular system similar to that in native islets." *Diabetes* 59(10): 2569-2578.
- Concannon, P., S. S. Rich, et al. (2009). "Genetics of type 1A diabetes." *N Engl J Med* 360(16): 1646-1654.
- Couvelard A, Sauvanet A, et al. (2005) « Frozen sectioning of the pancreatic cut surface during resection of intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas is useful and reliable: a prospective evaluation. » *Ann Surg*.242(6):774-8
- Cryer, P. E. (2005). "Mechanisms of hypoglycemia-associated autonomic failure and its component syndromes in diabetes." *Diabetes* 54(12): 3592-3601.
- Cryer, P. E. (2008). "The barrier of hypoglycemia in diabetes." *Diabetes* 57(12): 3169-3176.
- Dabelea, D., C. Pihoker, et al. (2011). "Etiological approach to characterization of diabetes type: the SEARCH for Diabetes in Youth Study." *Diabetes Care* 34(7): 1628-1633.
- Daneman, D. (2006). "Type 1 diabetes." *Lancet* 367(9513): 847-858.

- Davani, B., L. Ikonou, et al. (2007). "Human islet-derived precursor cells are mesenchymal stromal cells that differentiate and mature to hormone-expressing cells in vivo." *Stem Cells* 25(12): 3215-3222.
- De Krijger, R. R., H. J. Aanstoot, et al. (1992). "The midgestational human fetal pancreas contains cells coexpressing islet hormones." *Dev Biol* 153(2): 368-375.
- DeFronzo, R. A. and A. D. Beckles (1979). "Glucose intolerance following chronic metabolic acidosis in man." *Am J Physiol* 236(4): E328-334.
- Demeterco, C., E. Hao, et al. (2009). "Adult human beta-cell neogenesis?" *Diabetes Obes Metab* 11 Suppl 4: 46-53.
- Desai, N. M., J. A. Goss, et al. (2003). "Elevated portal vein drug levels of sirolimus and tacrolimus in islet transplant recipients: local immunosuppression or islet toxicity?" *Transplantation* 76(11): 1623-1625.
- Desir, D., E. Van Cauter, et al. (1982). "Effects of "jet lag" on hormonal patterns. III. Demonstration of an intrinsic circadian rhythmicity in plasma prolactin." *J Clin Endocrinol Metab* 55(5): 849-857.
- Dindo, D., N. Demartines, et al. (2004). "Classification of surgical complications: a new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey." *Ann Surg* 240(2): 205-213.
- Dong, M., A. K. Parsaik, et al. (2011). "Systematic review and meta-analysis: islet autotransplantation after pancreatectomy for minimizing diabetes." *Clin Endocrinol (Oxf)* 75(6): 771-779.
- Doniach, I. and A. G. Morgan (1973). "Islets of Langerhans in juvenile diabetes mellitus." *Clin Endocrinol (Oxf)* 2(3): 233-248.
- Dor, Y., J. Brown, et al. (2004). "Adult pancreatic beta-cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation." *Nature* 429(6987): 41-46.
- Drachenberg, C. B., D. K. Klassen, et al. (1999). "Islet cell damage associated with tacrolimus and cyclosporine: morphological features in pancreas allograft biopsies and clinical correlation." *Transplantation* 68(3): 396-402.
- Dufrane, D., R. M. Goebbels, et al. (2010). "Alginate macroencapsulation of pig islets allows correction of streptozotocin-induced diabetes in primates up to 6 months without immunosuppression." *Transplantation* 90(10): 1054-1062.
- Dunning, B. E. and J. E. Gerich (2007). "The role of alpha-cell dysregulation in fasting and postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes and therapeutic implications." *Endocr Rev* 28(3): 253-283.
- Echeverri, G. J., K. McGrath, et al. (2009). "Endoscopic gastric submucosal transplantation of islets (ENDO-STI): technique and initial results in diabetic pigs." *Am J Transplant* 9(11): 2485-2496.
- Efrat, S. (2013). "Recent progress in generation of human surrogate beta cells." *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 20(4): 259-264.
- Eich, T., O. Eriksson, et al. (2007). "Positron emission tomography: a real-time tool to quantify early islet engraftment in a preclinical large animal model." *Transplantation* 84(7): 893-898.
- Eickhoff, U., K. Schafer, et al. (1994). "[Subcutaneous struma recurrence as a sequela of autologous thyrocyte implantation]." *Chirurg* 65(3): 223-224.
- Eriksson, O., T. Eich, et al. (2009). "Positron emission tomography in clinical islet transplantation." *Am J Transplant* 9(12): 2816-2824.
- Espes, D., O. Eriksson, et al. (2011). "Striated muscle as implantation site for transplanted pancreatic islets." *J Transplant* 2011: 352043.
- Ewald, N., C. Kaufmann, et al. (2012). "Prevalence of diabetes mellitus secondary to pancreatic diseases (type 3c)." *Diabetes Metab Res Rev* 28(4): 338-342.
- Farney, A. C., J. S. Najarian, et al. (1991). "Autotransplantation of dispersed pancreatic islet tissue combined with total or near-total pancreatectomy for treatment of chronic pancreatitis." *Surgery* 110(2): 427-437; discussion 437-429.

- Ferguson, J. and R. J. Scothorne (1977). "Further studies on the transplantation of isolated pancreatic islets." *J Anat* 124(Pt 1): 9-20.
- Figliuzzi, M., R. Cornolti, et al. (2009). "Bone marrow-derived mesenchymal stem cells improve islet graft function in diabetic rats." *Transplant Proc* 41(5): 1797-1800.
- Finegood, D. T., I. M. Hramiak, et al. (1990). "A modified protocol for estimation of insulin sensitivity with the minimal model of glucose kinetics in patients with insulin-dependent diabetes." *J Clin Endocrinol Metab* 70(6): 1538-1549.
- Finks JF, Osborne NH, et al. (2011) « Trends in hospital volume and operative mortality for high-risk surgery. » *N Engl J Med.* 364(22):2128-37.
- Fiorina, P., C. Gremizzi, et al. (2005). "Islet transplantation is associated with an improvement of cardiovascular function in type 1 diabetic kidney transplant patients." *Diabetes Care* 28(6): 1358-1365.
- Fiorina, P., M. Venturini, et al. (2005). "Natural history of kidney graft survival, hypertrophy, and vascular function in end-stage renal disease type 1 diabetic kidney-transplanted patients: beneficial impact of pancreas and successful islet cotransplantation." *Diabetes Care* 28(6): 1303-1310.
- Frasconi, F., F. Gualandi, et al. (2008). "Direct intrabone transplant of unrelated cord-blood cells in acute leukaemia: a phase I/II study." *Lancet Oncol* 9(9): 831-839.
- Frier, B. M. (2009). "Defining hypoglycaemia: what level has clinical relevance?" *Diabetologia* 52(1): 31-34.
- Fritschy, W. M., J. F. van Straaten, et al. (1991). "The efficacy of intraperitoneal pancreatic islet isografts in the reversal of diabetes in rats." *Transplantation* 52(5): 777-783.
- Fu, Z., E. R. Gilbert, et al. (2013). "Regulation of insulin synthesis and secretion and pancreatic Beta-cell dysfunction in diabetes." *Curr Diabetes Rev* 9(1): 25-53.
- Gaisano, H. Y., P. E. Macdonald, et al. (2012). "Glucagon secretion and signaling in the development of diabetes." *Front Physiol* 3: 349.
- Gala-Lopez BL, Semlacher E, et al. (2013) « Autologous Islet Transplantation After Total Pancreatectomy for Renal Cell Carcinoma Metastases. » *Am J Transplant.* 2013 in press
- Gao F, Ai SD, et al. (2012) « Percutaneous transhepatic portal catheterization guided by ultrasound technology for islet transplantation in rhesus monkey. » *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 11(2):154-9.
- Garg, S., H. Zisser, et al. (2006). "Improvement in glycemic excursions with a transcutaneous, real-time continuous glucose sensor: a randomized controlled trial." *Diabetes Care* 29(1): 44-50.
- Gargani S, Thévenet J, et al. (2013) Adaptive changes of human islets to an obesogenic environment in the mouse. *Diabetologia.* 56(2):350-8.
- Garraway NR, Dean S, et al. (2009) " Islet autotransplantation after distal pancreatectomy for pancreatic trauma." *J Trauma.* 67(6):E187-9.
- Gerich, J. E., M. Langlois, et al. (1973). "Lack of glucagon response to hypoglycemia in diabetes: evidence for an intrinsic pancreatic alpha cell defect." *Science* 182(4108): 171-173.
- Ghajar, C. M., K. S. Blevins, et al. (2006). "Mesenchymal stem cells enhance angiogenesis in mechanically viable prevascularized tissues via early matrix metalloproteinase upregulation." *Tissue Eng* 12(10): 2875-2888.
- Gillard, P., B. Keymeulen, et al. (2010). "Beta-cell transplantation in type 1 diabetic patients: a work in progress to cure." *Verh K Acad Geneeskd Belg* 72(1-2): 71-98.
- Gillard, P., E. Vandemeulebroucke, et al. (2009). "Functional beta-cell mass and insulin sensitivity is decreased in insulin-independent pancreas-kidney recipients." *Transplantation* 87(3): 402-407.
- Gores, P. F., J. S. Najarian, et al. (1993). "Insulin independence in type I diabetes after transplantation of unpurified islets from single donor with 15-deoxyspergualin." *Lancet* 341(8836): 19-21.

- Gores, P. F. and D. E. Sutherland (1993). "Pancreatic islet transplantation: is purification necessary?" *Am J Surg* 166(5): 538-542.
- Gray, D. W. (1990). "Islet isolation and transplantation techniques in the primate." *Surg Gynecol Obstet* 170(3): 225-232.
- Green, J., D. Casabonne, et al. (2004). "Coxsackie B virus serology and Type 1 diabetes mellitus: a systematic review of published case-control studies." *Diabet Med* 21(6): 507-514.
- Grodstein, E., M. A. Hardy, et al. (2010). "A case of human intramuscular adrenal gland transplantation as a cure for chronic adrenal insufficiency." *Am J Transplant* 10(2): 431-433.
- Gromada J, Franklin I, et al. "(2007). Alpha-cells of the endocrine pancreas: 35 years of research but the enigma remains." *Endocr Rev.*28(1):84-116.
- Gruessner, A. C., D. E. Sutherland, et al. (2010). "Pancreas transplantation in the United States: a review." *Curr Opin Organ Transplant* 15(1): 93-101.
- Gruessner, A. C., D. E. Sutherland, et al. (2012). "Long-term outcome after pancreas transplantation." *Curr Opin Organ Transplant* 17(1): 100-105.
- Guillemain, G., G. Filhoulaud, et al. (2007). "Glucose is necessary for embryonic pancreatic endocrine cell differentiation." *J Biol Chem* 282(20): 15228-15237.
- Guo T, Hebrok M. (2009) « Stem cells to pancreatic beta-cells: new sources for diabetes cell therapy" *Endocr Rev.*30(3):214-27.
- Gupta, V., D. C. Wahoff, et al. (1997). "The defective glucagon response from transplanted intrahepatic pancreatic islets during hypoglycemia is transplantation site-determined." *Diabetes* 46(1): 28-33.
- Guy, A. J., S. M. Griffin, et al. (1987). "Metabolic comparison between canine islet autografts with portal and peripheral venous drainage." *Transplant Proc* 19(5): 3918-3920.
- Halsted, W. S. (1909). "Auto- and Isotransplantation, in Dogs, of the Parathyroid Glandules." *J Exp Med* 11(1): 175-199.
- Han, D. J. and D. E. Sutherland (2010). "Pancreas transplantation." *Gut Liver* 4(4): 450-465.
- Hanaire, H., V. Lassmann-Vague, et al. (2008). "Treatment of diabetes mellitus using an external insulin pump: the state of the art." *Diabetes Metab* 34(4 Pt 2): 401-423.
- Hecht, G., S. Eventov-Friedman, et al. (2009). "Embryonic pig pancreatic tissue for the treatment of diabetes in a nonhuman primate model." *Proc Natl Acad Sci U S A* 106(21): 8659-8664.
- Hellman, B., A. Salehi, et al. (2009). "Glucose generates coincident insulin and somatostatin pulses and antisynchronous glucagon pulses from human pancreatic islets." *Endocrinology* 150(12): 5334-5340.
- Hering, B. J., R. Kandaswamy, et al. (2004). "Transplantation of cultured islets from two-layer preserved pancreases in type 1 diabetes with anti-CD3 antibody." *Am J Transplant* 4(3): 390-401.
- Hering, B. J., I. Matsumoto, et al. (2002). "Impact of two-layer pancreas preservation on islet isolation and transplantation." *Transplantation* 74(12): 1813-1816.
- Herold, K. C., D. A. Vignali, et al. (2013). "Type 1 diabetes: translating mechanistic observations into effective clinical outcomes." *Nat Rev Immunol* 13(4): 243-256.
- Herrera, M., C. Grant, et al. (1992). "Parathyroid autotransplantation." *Arch Surg* 127(7): 825-829; discussion 829-830.
- Hirsch D, Odorico J, et al. (2012) « Early metabolic markers that anticipate loss of insulin independence in type 1 diabetic islet allograft recipients. » *Am J Transplant.*12(5):1275-89.
- Hober, D. and P. Sauter (2010). "Pathogenesis of type 1 diabetes mellitus: interplay between enterovirus and host." *Nat Rev Endocrinol* 6(5): 279-289.
- Holdstock, C., J. Ludvigsson, et al. (2004). "Abnormal ghrelin secretion in new onset childhood Type 1 diabetes." *Diabetologia* 47(1): 150-151.

- Hubert, T., L. Arnalsteen, et al. (2005). "[Technique of pancreatic procurement for pancreatic islet isolation]." *Ann Chir* 130(6-7): 384-390.
- Hubert T, Strecker G, et al. (2008) « Acute insulin response to arginine in deceased donors predicts the outcome of human islet isolation. » *Am J Transplant*.8(4):872-6.
- Iacono C, Verlato G, et al. (2013) « Systematic review of central pancreatectomy and meta-analysis of central versus distal pancreatectomy. » *Br J Surg*. 100(7):873-85
- Ito, T., S. Itakura, et al. (2010). "Mesenchymal stem cell and islet co-transplantation promotes graft revascularization and function." *Transplantation* 89(12): 1438-1445.
- Jacobs-Tulleneers-Thevissen, D., M. Chintinne, et al. (2013). "Sustained function of alginate-encapsulated human islet cell implants in the peritoneal cavity of mice leading to a pilot study in a type 1 diabetic patient." *Diabetologia* 56(7): 1605-1614.
- Jacovetti, C., A. Abderrahmani, et al. (2012). "MicroRNAs contribute to compensatory beta cell expansion during pregnancy and obesity." *J Clin Invest* 122(10): 3541-3551.
- Jeha, G. S., L. P. Karaviti, et al. (2004). "Continuous glucose monitoring and the reality of metabolic control in preschool children with type 1 diabetes." *Diabetes Care* 27(12): 2881-2886.
- Jethwa, P., M. Sodergren, et al. (2006). "Diabetic control after total pancreatectomy." *Dig Liver Dis* 38(6): 415-419.
- Jindal RM, Ricordi C, et al. (2010) « Autologous pancreatic islet transplantation for severe trauma. » *N Engl J Med*. 362(16):1550.
- Jindal, R. M., R. A. Sidner, et al. (1998). "Intraportal vs kidney subcapsular site for human pancreatic islet transplantation." *Transplant Proc* 30(2): 398-399.
- Johansson, U., I. Rasmusson, et al. (2008). "Formation of composite endothelial cell-mesenchymal stem cell islets: a novel approach to promote islet revascularization." *Diabetes* 57(9): 2393-2401.
- Jorns, A., J. Klempnauer, et al. (2001). "Recovery of pancreatic beta cells in response to long-term normoglycemia after pancreas or islet transplantation in severely streptozotocin diabetic adult rats." *Pancreas* 23(2): 186-196.
- Kahn SE, Carr DB, et al. (2008) « An examination of beta-cell function measures and their potential use for estimating beta-cell mass. » *Diabetes Obes Metab*.10 Suppl 4:63-76
- Keymeulen B, Gillard P, et al. (2006) « Correlation between beta cell mass and glycemic control in type 1 diabetic recipients of islet cell graft. » *Proc Natl Acad Sci U S A*.103(46):17444-9.
- Kobayashi T, Sato Y, et al. (2012) "Total pancreatectomy combined with partial pancreas autotransplantation for recurrent pancreatic cancer: a case report." *Transplant Proc*. 44(4):1176-9.
- Kriz J, Vilck G, et al. (2012) « A novel technique for the transplantation of pancreatic islets within a vascularized device into the greater omentum to achieve insulin independence. » *Am J Surg*. 2012 Jun;203(6):793-7.
- Kaufman, D. B., P. Morel, et al. (1990). "Purified canine islet autografts. Functional outcome as influenced by islet number and implantation site." *Transplantation* 50(3): 385-391.
- Kelly, O. G., M. Y. Chan, et al. (2011). "Cell-surface markers for the isolation of pancreatic cell types derived from human embryonic stem cells." *Nat Biotechnol* 29(8): 750-756.
- Kendall, D. M., A. U. Teuscher, et al. (1997). "Defective glucagon secretion during sustained hypoglycemia following successful islet allo- and autotransplantation in humans." *Diabetes* 46(1): 23-27.
- Kerby, A., E. S. Jones, et al. (2013). "Co-transplantation of islets with mesenchymal stem cells in microcapsules demonstrates graft outcome can be improved in an isolated-graft model of islet transplantation in mice." *Cytotherapy* 15(2): 192-200.
- Kerr-Conte J, Vandewalle B, et al.(2010)" Upgrading pretransplant human islet culture technology requires human serum combined with media renewal." *Transplantation*. 89(9):1154-60
- Keymeulen B, Gillard P, et al. (2006) « Correlation between beta cell mass and glycemic

- control in type 1 diabetic recipients of islet cell graft. » *Proc Natl Acad Sci U S A*.103(46):17444-9.
- Kriz J, Vilks G, et al. (2012) « A novel technique for the transplantation of pancreatic islets within a vascularized device into the greater omentum to achieve insulin independence. » *Am J Surg*. 2012 Jun;203(6):793-7.
- Keymeulen, B., G. Korbitt, et al. (1996). "Long-term metabolic control by rat islet grafts depends on the composition of the implant." *Diabetes* 45(12): 1814-1821.
- Keymeulen, B., Z. Ling, et al. (1998). "Implantation of standardized beta-cell grafts in a liver segment of IDDM patients: graft and recipients characteristics in two cases of insulin-independence under maintenance immunosuppression for prior kidney graft." *Diabetologia* 41(4): 452-459.
- Keymeulen B, Vandemeulebroucke E, et al. (2005) « Insulin needs after CD3-antibody therapy in new-onset type 1 diabetes. » *N Engl J Med*. 352(25):2598-608.
- Kievit, A. J., J. G. Tinnemans, et al. (2010). "Outcome of total parathyroidectomy and autotransplantation as treatment of secondary and tertiary hyperparathyroidism in children and adults." *World J Surg* 34(5): 993-1000.
- Kim, S. J., D. J. Doudet, et al. (2006). "Quantitative micro positron emission tomography (PET) imaging for the in vivo determination of pancreatic islet graft survival." *Nat Med* 12(12): 1423-1428.
- Kobayashi, T., Y. Aomatsu, et al. (2003). "Indefinite islet protection from autoimmune destruction in nonobese diabetic mice by agarose microencapsulation without immunosuppression." *Transplantation* 75(5): 619-625.
- Korsgren S, Molin Y, et al. (2012) "On the etiology of type 1 diabetes: a new animal model signifying a decisive role for bacteria eliciting an adverse innate immunity response." *Am J Pathol*.181(5):1735-48.
- Korsgren, O., B. Nilsson, et al. (2005). "Current status of clinical islet transplantation." *Transplantation* 79(10): 1289-1293.
- Kroon, E., L. A. Martinson, et al. (2008). "Pancreatic endoderm derived from human embryonic stem cells generates glucose-responsive insulin-secreting cells in vivo." *Nat Biotechnol* 26(4): 443-452.
- Ksander, B. R. and J. W. Streilein (1994). "Regulation of the immune response within privileged sites." *Chem Immunol* 58: 117-145.
- Kumar, A. F., R. W. Gruessner, et al. (2008). "Risk of glucose intolerance and diabetes in hemipancreatectomized donors selected for normal preoperative glucose metabolism." *Diabetes Care* 31(8): 1639-1643.
- Kuroda, Y., T. Kawamura, et al. (1988). "A new, simple method for cold storage of the pancreas using perfluorochemical." *Transplantation* 46(3): 457-460.
- Lakey, J. R., P. W. Burridge, et al. (2003). "Technical aspects of islet preparation and transplantation." *Transpl Int* 16(9): 613-632.
- Largiader, F., E. Kolb, et al. (1980). "A long-term functioning human pancreatic islet allotransplant." *Transplantation* 29(1): 76-77.
- Larsen, S., J. Hilsted, et al. (1987). "Metabolic control and B cell function in patients with insulin-dependent diabetes mellitus secondary to chronic pancreatitis." *Metabolism* 36(10): 964-967.
- Larsson, H. and B. Ahren (1998). "Glucose-dependent arginine stimulation test for characterization of islet function: studies on reproducibility and priming effect of arginine." *Diabetologia* 41(7): 772-777.
- Lau, J. and P. O. Carlsson (2009). "Low revascularization of human islets when experimentally transplanted into the liver." *Transplantation* 87(3): 322-325.
- Lau, J., G. Mattsson, et al. (2007). "Implantation site-dependent dysfunction of transplanted pancreatic islets." *Diabetes* 56(6): 1544-1550.
- Lee BW, Jee JH, et al. (2005) « The favorable outcome of human islet transplantation in Korea: experiences of 10 autologous transplantations. » *Transplantation*.

- 79(11):1568-74.
- Lee, Y., M. Ravazzola, et al. (2007). "Metabolic mechanisms of failure of intraportally transplanted pancreatic beta-cells in rats: role of lipotoxicity and prevention by leptin." *Diabetes* 56(9): 2295-2301.
- Leitão CB, Bernetti K, et al. (2010) « Lipotoxicity and decreased islet graft survival. » *Diabetes Care*. 33(3):658-60.
- Levetan, C. (2010). "Distinctions between islet neogenesis and beta-cell replication: implications for reversal of Type 1 and 2 diabetes." *J Diabetes* 2(2): 76-84.
- Levy, M. M., R. J. Ketchum, et al. (2002). "Intrathymic islet transplantation in the canine: I. Histological and functional evidence of autologous intrathymic islet engraftment and survival in pancreatectomized recipients." *Transplantation* 73(6): 842-852.
- Lewis, E. C., L. Shapiro, et al. (2005). "Alpha1-antitrypsin monotherapy prolongs islet allograft survival in mice." *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(34): 12153-12158.
- Lifson, N., K. G. Kramlinger, et al. (1980). "Blood flow to the rabbit pancreas with special reference to the islets of Langerhans." *Gastroenterology* 79(3): 466-473.
- Lipshutz, G. S. and A. H. Wilkinson (2007). "Pancreas-kidney and pancreas transplantation for the treatment of diabetes mellitus." *Endocrinol Metab Clin North Am* 36(4): 1015-1038; x.
- Lo, C. Y. and S. C. Tam (2001). "Parathyroid autotransplantation during thyroidectomy: documentation of graft function." *Arch Surg* 136(12): 1381-1385.
- Lu, Y., H. Dang, et al. (2004). "Bioluminescent monitoring of islet graft survival after transplantation." *Mol Ther* 9(3): 428-435.
- Lu, Y., H. Dang, et al. (2006). "Noninvasive imaging of islet grafts using positron-emission tomography." *Proc Natl Acad Sci U S A* 103(30): 11294-11299.
- Lund, T., O. Korsgren, et al. (2010). "Sustained reversal of diabetes following islet transplantation to striated musculature in the rat." *J Surg Res* 160(1): 145-154.
- Luzi, L. and R. A. DeFronzo (1989). "Effect of loss of first-phase insulin secretion on hepatic glucose production and tissue glucose disposal in humans." *Am J Physiol* 257(2 Pt 1): E241-246.
- Luzi, L., B. J. Hering, et al. (1996). "Metabolic effects of successful intraportal islet transplantation in insulin-dependent diabetes mellitus." *J Clin Invest* 97(11): 2611-2618.
- Iyegha UP, Asghar JA, et al. " Total pancreatectomy and islet auto-transplantation as treatment for ampullary adenocarcinoma in the setting of pancreatic ductal disruption secondary to acute necrotizing pancreatitis. A case report." *JOP*. 13(2):239-42.
- Madureira, M. L. (1994). "Adult pancreatic tissue fate after pancreatic fragment autotransplantation into the spleen of the pancreatectomized dog." *World J Surg* 18(2): 259-265.
- Marchetti, P., M. Occhipinti, et al. (2013). "Metabolic and cardiovascular effects of beta cell replacement in type 1 diabetes." *Intern Emerg Med* 8 Suppl 1: S55-56.
- Margolis, R. N., J. J. Holup, et al. (1986). "Effects of intratesticular islet transplantation on hepatic glycogen metabolism in the rat." *Diabetes Res Clin Pract* 2(5): 291-299.
- Markmann, J. F., M. Rosen, et al. (2003). "Magnetic resonance-defined periportal steatosis following intraportal islet transplantation: a functional footprint of islet graft survival?" *Diabetes* 52(7): 1591-1594.
- Matsumoto, S., S. A. Qualley, et al. (2002). "Effect of the two-layer (University of Wisconsin solution-perfluorochemical plus O₂) method of pancreas preservation on human islet isolation, as assessed by the Edmonton Isolation Protocol." *Transplantation* 74(10): 1414-1419.
- Mattsson, G., L. Jansson, et al. (2002). "Decreased vascular density in mouse pancreatic islets after transplantation." *Diabetes* 51(5): 1362-1366.
- McPhee JT, Hill JS, et al. (2007) « Perioperative mortality for pancreatectomy: a national perspective. » *Ann Surg*.246(2):246-53.

- Mei, Q., T. O. Mundinger, et al. (2002). "Early, selective, and marked loss of sympathetic nerves from the islets of BioBreeder diabetic rats." *Diabetes* 51(10): 2997-3002.
- Mellgren, A., A. H. Schnell Landstrom, et al. (1986). "The renal subcapsular site offers better growth conditions for transplanted mouse pancreatic islet cells than the liver or spleen." *Diabetologia* 29(9): 670-672.
- Melzi, R., B. Antonioli, et al. (2010). "Co-graft of allogeneic immune regulatory neural stem cells (NPC) and pancreatic islets mediates tolerance, while inducing NPC-derived tumors in mice." *PLoS One* 5(4): e10357.
- Menge BA, Schrader Het al. (2009) "Metabolic consequences of a 50% partial pancreatectomy in humans."52(2):306-17
- Menger, M. D., P. Vajkoczy, et al. (1994). "Orientation of microvascular blood flow in pancreatic islet isografts." *J Clin Invest* 93(5): 2280-2285.
- Merani, S., C. Toso, et al. (2008). "Optimal implantation site for pancreatic islet transplantation." *Br J Surg* 95(12): 1449-1461.
- Mineo, D., C. Ricordi, et al. (2008). "Combined islet and hematopoietic stem cell allotransplantation: a clinical pilot trial to induce chimerism and graft tolerance." *Am J Transplant* 8(6): 1262-1274.
- Mitrakou, A., D. Kelley, et al. (1992). "Role of reduced suppression of glucose production and diminished early insulin release in impaired glucose tolerance." *N Engl J Med* 326(1): 22-29.
- Moberg, L. (2005). "The role of the innate immunity in islet transplantation." *Ups J Med Sci* 110(1): 17-55.
- Moberg, L., H. Johansson, et al. (2002). "Production of tissue factor by pancreatic islet cells as a trigger of detrimental thrombotic reactions in clinical islet transplantation." *Lancet* 360(9350): 2039-2045.
- Monami, M., N. Marchionni, et al. (2008). "Long-acting insulin analogues versus NPH human insulin in type 2 diabetes: a meta-analysis." *Diabetes Res Clin Pract* 81(2): 184-189.
- Morrow, C. E., J. I. Cohen, et al. (1984). "Chronic pancreatitis: long-term surgical results of pancreatic duct drainage, pancreatic resection, and near-total pancreatectomy and islet autotransplantation." *Surgery* 96(4): 608-616.
- Muller, M. W., H. Friess, et al. (2007). "Is there still a role for total pancreatectomy?" *Ann Surg* 246(6): 966-974; discussion 974-965.
- Myrsen, U., B. Keymeulen, et al. (1996). "Beta cells are important for islet innervation: evidence from purified rat islet-cell grafts." *Diabetologia* 39(1): 54-59.
- Najarian, J. S., D. E. Sutherland, et al. (1980). "Total or near total pancreatectomy and islet autotransplantation for treatment of chronic pancreatitis." *Ann Surg* 192(4): 526-542.
- Narang, A. S. and R. I. Mahato (2006). "Biological and biomaterial approaches for improved islet transplantation." *Pharmacol Rev* 58(2): 194-243.
- Nathan, D. M., P. A. Cleary, et al. (2005). "Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes." *N Engl J Med* 353(25): 2643-2653.
- Nathan, D. M., B. Zinman, et al. (2009). "Modern-day clinical course of type 1 diabetes mellitus after 30 years' duration: the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications and Pittsburgh epidemiology of diabetes complications experience (1983-2005)." *Arch Intern Med* 169(14): 1307-1316.
- Oberholzer J, Mathe Z, et al. (2003) « Islet autotransplantation after left pancreatectomy for non-enucleable insulinoma. » *Am J Transplant.* 3(10):1302-7.
- Oberholzer, J., F. Triponez, et al. (2000). "Human islet transplantation: lessons from 13 autologous and 13 allogeneic transplantations." *Transplantation* 69(6): 1115-1123.
- Ojo, A. O., H. U. Meier-Kriesche, et al. (2001). "The impact of simultaneous pancreas-kidney transplantation on long-term patient survival." *Transplantation* 71(1): 82-90.

- Olerud, J., N. Kanaykina, et al. (2009). "Neural crest stem cells increase beta cell proliferation and improve islet function in co-transplanted murine pancreatic islets." *Diabetologia* 52(12): 2594-2601.
- Olsson R, Olerud J, et al. (2011) « Increased numbers of low-oxygenated pancreatic islets after intraportal islet transplantation. » *Diabetes*. 60(9):2350-3.
- Pacini, G., B. Omar, et al. (2013). "Methods and models for metabolic assessment in mice." *J Diabetes Res* 2013: 986906.
- Parsaik, A. K., M. H. Murad, et al. (2010). "Metabolic and target organ outcomes after total pancreatectomy: Mayo Clinic experience and meta-analysis of the literature." *Clin Endocrinol (Oxf)* 73(6): 723-731.
- Parsons, J. A., T. C. Brelje, et al. (1992). "Adaptation of islets of Langerhans to pregnancy: increased islet cell proliferation and insulin secretion correlates with the onset of placental lactogen secretion." *Endocrinology* 130(3): 1459-1466.
- Pattou, F., F. Combemale, et al. (1998). "Hypocalcemia following thyroid surgery: incidence and prediction of outcome." *World J Surg* 22(7): 718-724.
- Pattou F, Kerr-Conte J, et al. (1998). " Endocrine-cell allotransplantation." *Lancet*. 351(9102):596-7.
- Pattou, F., J. Kerr-Conte, et al. (2010). "GLP-1-receptor scanning for imaging of human beta cells transplanted in muscle." *N Engl J Med* 363(13): 1289-1290.
- Pattou F, Vantyghem MC, et al. (2000) « Sequential intraportal islet allografts in immunosuppressed type I diabetic patients: preliminary results. » *Transplant Proc*.32(2):391-2.
- Pinkse GG, Bouwman WP, et al. (2006) « Integrin signaling via RGD peptides and anti-beta1 antibodies confers resistance to apoptosis in islets of Langerhans. » *Diabetes*.55(2):312-7.
- Paty, B. W., E. A. Ryan, et al. (2002). "Intrahepatic islet transplantation in type 1 diabetic patients does not restore hypoglycemic hormonal counterregulation or symptom recognition after insulin independence." *Diabetes* 51(12): 3428-3434.
- Perez, V. L., A. Caicedo, et al. (2011). "The anterior chamber of the eye as a clinical transplantation site for the treatment of diabetes: a study in a baboon model of diabetes." *Diabetologia* 54(5): 1121-1126.
- Perosa, M., U. Boggi, et al. (2011). "Pancreas transplantation outside the USA: an update." *Curr Opin Organ Transplant* 16(1): 135-141.
- Pickup, J. C. and A. J. Sutton (2008). "Severe hypoglycaemia and glycaemic control in Type 1 diabetes: meta-analysis of multiple daily insulin injections compared with continuous subcutaneous insulin infusion." *Diabet Med* 25(7): 765-774.
- Pramming, S., B. Thorsteinsson, et al. (1991). "Symptomatic hypoglycaemia in 411 type 1 diabetic patients." *Diabet Med* 8(3): 217-222.
- Price, S., D. Cole, et al. (2010). "Diabetes due to exocrine pancreatic disease--a review of patients attending a hospital-based diabetes clinic." *QJM* 103(10): 759-763.
- Pattou F, Vantyghem MC, et al. (2000) « Sequential intraportal islet allografts in immunosuppressed type I diabetic patients: preliminary results. » *Transplant Proc*.32(2):391-2.
- Pinkse GG, Bouwman WP, et al. (2006) « Integrin signaling via RGD peptides and anti-beta1 antibodies confers resistance to apoptosis in islets of Langerhans. » *Diabetes*.55(2):312-7.
- Pyzdrowski, K. L., D. M. Kendall, et al. (1992). "Preserved insulin secretion and insulin independence in recipients of islet autografts." *N Engl J Med* 327(4): 220-226.
- Qi, M., I. Lacik, et al. (2011). "A recommended laparoscopic procedure for implantation of microcapsules in the peritoneal cavity of non-human primates." *J Surg Res* 168(1): e117-123.
- Quesada, I., E. Tuduri, et al. (2008). "Physiology of the pancreatic alpha-cell and glucagon secretion: role in glucose homeostasis and diabetes." *J Endocrinol* 199(1): 5-19.

- Rackham, C. L., P. K. Dhadda, et al. (2013). "Pre-culturing islets with mesenchymal stromal cells using a direct contact configuration is beneficial for transplantation outcome in diabetic mice." *Cytotherapy* 15(4): 449-459.
- Rafael, E., A. Tibell, et al. (2008). "Intramuscular autotransplantation of pancreatic islets in a 7-year-old child: a 2-year follow-up." *Am J Transplant* 8(2): 458-462.
- Rajab, A., J. Buss, et al. (2008). "Comparison of the portal vein and kidney subcapsule as sites for primate islet autotransplantation." *Cell Transplant* 17(9): 1015-1023.
- Reddy S, Wolfgang CL, et al (2009) "Total pancreatectomy for pancreatic adenocarcinoma: evaluation of morbidity and long-term survival." *Ann Surg.*250(2):282-7.
- Rickels MR, Naji A, et al. (2007) « Acute insulin responses to glucose and arginine as predictors of beta-cell secretory capacity in human islet transplantation. » *Transplantation.* 84(10):1357-60.
- Rickels, M. R., M. H. Schutta, et al. (2005). "Islet cell hormonal responses to hypoglycemia after human islet transplantation for type 1 diabetes." *Diabetes* 54(11): 3205-3211.
- Ris F, Niclauss N, et al. (2011) « Islet autotransplantation after extended pancreatectomy for focal benign disease of the pancreas. » *Transplantation.*91(8):895-901.
- Ricordi, C., P. E. Lacy, et al. (1988). "Automated method for isolation of human pancreatic islets." *Diabetes* 37(4): 413-420.
- Ricordi, C. and T. B. Strom (2004). "Clinical islet transplantation: advances and immunological challenges." *Nat Rev Immunol* 4(4): 259-268.
- Robertson, R. P. (2001). "Pancreatic islet transplantation for diabetes: successes, limitations, and challenges for the future." *Mol Genet Metab* 74(1-2): 200-205.
- Robertson RP, Lanz KJ, et al. (2002) "Relationship between diabetes and obesity 9 to 18 years after hemipancreatectomy and transplantation in donors and recipients." *Transplantation.*15;73(5):736-41.
- Roep BO, Stobbe I, et al. (1999) Auto- and alloimmune reactivity to human islet allografts transplanted into type 1 diabetic patients. *Diabetes.* 48(3):484-90.
- Rosenberg, L., W. P. Duguid, et al. (1992). "Reversal of diabetes by the induction of islet cell neogenesis." *Transplant Proc* 24(3): 1027-1028.
- Rosenberg, L., M. Lipsett, et al. (2004). "A pentadecapeptide fragment of islet neogenesis-associated protein increases beta-cell mass and reverses diabetes in C57BL/6J mice." *Ann Surg* 240(5): 875-884.
- Ryan EA, Lakey JR, et al. (2002) « Successful islet transplantation: continued insulin reserve provides long-term glycemic control. » *Diabetes.* 51(7):2148-57.
- Ryan, E. A., B. W. Paty, et al. (2005). "Five-year follow-up after clinical islet transplantation." *Diabetes* 54(7): 2060-2069.
- Ryu, S., S. Kodama, et al. (2001). "Reversal of established autoimmune diabetes by restoration of endogenous beta cell function." *J Clin Invest* 108(1): 63-72.
- Sakata, N., P. Hayes, et al. (2009). "MRI assessment of ischemic liver after intraportal islet transplantation." *Transplantation* 87(6): 825-830.
- Salazar-Banuelos, A., J. R. Wright, Jr., et al. (2008). "Pancreatic islet transplantation into the bone marrow of the rat." *Am J Surg* 195(5): 674-678; discussion 678.
- Sane F, Caloone D, et al. (2013) "Coxsackievirus B4 can infect human pancreas ductal cells and persist in ductal-like cell cultures which results in inhibition of Pdx1 expression and disturbed formation of islet-like cell aggregates." *Cell Mol Life Sci.* [Epub ahead of print]
- Scharp, D. W., P. E. Lacy, et al. (1991). "Results of our first nine intraportal islet allografts in type 1, insulin-dependent diabetic patients." *Transplantation* 51(1): 76-85.
- Scharp, D. W., P. E. Lacy, et al. (1990). "Insulin independence after islet transplantation into type I diabetic patient." *Diabetes* 39(4): 515-518.
- Scheumann, G. F., W. F. Hiller, et al. (1989). "Adrenal cortex transplantation after bilateral total adrenalectomy in the rat." *Henry Ford Hosp Med J* 37(3-4): 154-156.
- Schlienger JL (2013). « Type 2 diabetes complications]. » *Presse Med.*42(5):839-48.

- Schlosser, K., H. Sitter, et al. (2004). "Assessing the site of recurrence in patients with secondary hyperparathyroidism by a simplified Casanova autograftectomy test." *World J Surg* 28(6): 583-588.
- Schneider, R., A. Ramaswamy, et al. (2012). "Cryopreservation of parathyroid tissue after parathyroid surgery for renal hyperparathyroidism: does it really make sense?" *World J Surg* 36(11): 2598-2604.
- Schulz, T. C., H. Y. Young, et al. (2012). "A scalable system for production of functional pancreatic progenitors from human embryonic stem cells." *PLoS One* 7(5): e37004.
- Secchi, A., C. Socci, et al. (1997). "Islet transplantation in IDDM patients." *Diabetologia* 40(2): 225-231.
- Slezak LA, Andersen DK. (2001) "Pancreatic resection: effects on glucose metabolism." *World J Surg.*25(4):452-60.
- Shaha, A. R., C. Burnett, et al. (1991). "Parathyroid autotransplantation during thyroid surgery." *J Surg Oncol* 46(1): 21-24.
- Shapiro, A. M., H. L. Gallant, et al. (2005). "The portal immunosuppressive storm: relevance to islet transplantation?" *Ther Drug Monit* 27(1): 35-37.
- Shapiro, A. M., J. R. Lakey, et al. (2000). "Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen." *N Engl J Med* 343(4): 230-238.
- Shapiro AM, Ricordi C, et al. (2006) « International trial of the Edmonton protocol for islet transplantation. » *N Engl J Med.*355(13):1318-30.
- Sharma, A. K. (2012). "Management of pancreaticoduodenal injuries." *Indian J Surg* 74(1): 35-39.
- Shepet, K., A. Alhefdhi, et al. (2013). "Parathyroid cryopreservation after parathyroidectomy: a worthwhile practice?" *Ann Surg Oncol* 20(7): 2256-2260.
- Shirakawa, S., I. Matsumoto, et al. (2012). "Pancreatic volumetric assessment as a predictor of new-onset diabetes following distal pancreatectomy." *J Gastrointest Surg* 16(12): 2212-2219.
- Siebenhofer, A., J. Plank, et al. (2006). "Short acting insulin analogues versus regular human insulin in patients with diabetes mellitus." *Cochrane Database Syst Rev*(2): CD003287.
- Solari, M. G., S. Srinivasan, et al. (2009). "Marginal mass islet transplantation with autologous mesenchymal stem cells promotes long-term islet allograft survival and sustained normoglycemia." *J Autoimmun* 32(2): 116-124.
- Soon-Shiong, P., R. E. Heintz, et al. (1994). "Insulin independence in a type 1 diabetic patient after encapsulated islet transplantation." *Lancet* 343(8903): 950-951.
- Speier, S., D. Nyqvist, et al. (2008). "Noninvasive in vivo imaging of pancreatic islet cell biology." *Nat Med* 14(5): 574-578.
- Stagner, J. I., H. L. Rilo, et al. (2007). "The pancreas as an islet transplantation site. Confirmation in a syngeneic rodent and canine autotransplant model." *JOP* 8(5): 628-636.
- Stefan, Y., S. Grasso, et al. (1983). "A quantitative immunofluorescent study of the endocrine cell populations in the developing human pancreas." *Diabetes* 32(4): 293-301.
- Stegall, M. D. (1997). "Monitoring human islet allografts using a forearm biopsy site." *Ann Transplant* 2(3): 8-11.
- Steurer, W., J. Malaise, et al. (2005). "Spectrum of surgical complications after simultaneous pancreas-kidney transplantation in a prospectively randomized study of two immunosuppressive protocols." *Nephrol Dial Transplant* 20 Suppl 2: ii54-62.
- Stone, H. B., J. C. Owings, et al. (1934). "Transplantation of Living Grafts of Thyroid and Parathyroid Glands." *Ann Surg* 100(4): 613-628.
- Sun, J. Z., X. L. Tang, et al. (1996). "Evidence for an essential role of reactive oxygen species in the genesis of late preconditioning against myocardial stunning in conscious pigs." *J Clin Invest* 97(2): 562-576.

- Sutherland, D. E., A. C. Gruessner, et al. (2008). "Islet autotransplant outcomes after total pancreatectomy: a contrast to islet allograft outcomes." *Transplantation* 86(12): 1799-1802.
- Sutherland, D. E., A. J. Matas, et al. (1980). "Transplantation of dispersed pancreatic islet tissue in humans: autografts and allografts." *Diabetes* 29 Suppl 1: 31-44.
- Sutherland, D. E., A. J. Matas, et al. (1978). "Pancreatic islet cell transplantation." *Surg Clin North Am* 58(2): 365-382.
- Sutton, R., D. W. Gray, et al. (1989). "Metabolic function of intraportal and intrasplenic islet autografts in cynomolgus monkeys." *Diabetes* 38 Suppl 1: 182-184.
- Svensson, J., J. Lau, et al. (2011). "High vascular density and oxygenation of pancreatic islets transplanted in clusters into striated muscle." *Cell Transplant* 20(5): 783-788.
- Taborsky, G. J., Jr., Q. Mei, et al. (2009). "Loss of islet sympathetic nerves and impairment of glucagon secretion in the NOD mouse: relationship to invasive insulinitis." *Diabetologia* 52(12): 2602-2611.
- Taborsky, G. J., Jr. and T. O. Mundinger (2012). "Minireview: The role of the autonomic nervous system in mediating the glucagon response to hypoglycemia." *Endocrinology* 153(3): 1055-1062.
- Takita M, Matusmoto S. (2012) « SUITO index for evaluation of clinical islet transplantation. » *Cell Transplant*.21(7):1341-7
- Tamborlane, W. V., R. W. Beck, et al. (2008). "Continuous glucose monitoring and intensive treatment of type 1 diabetes." *N Engl J Med* 359(14): 1464-1476.
- Tavakoli, A. and S. Liang (2012). "Pancreatic transplant in diabetes." *Adv Exp Med Biol* 771: 420-437.
- ter Braak, E. W., A. M. Appelman, et al. (2000). "Clinical characteristics of type 1 diabetic patients with and without severe hypoglycemia." *Diabetes Care* 23(10): 1467-1471.
- Thompson, P., I. R. Badell, et al. (2011). "Islet xenotransplantation using gal-deficient neonatal donors improves engraftment and function." *Am J Transplant* 11(12): 2593-2602.
- Tominaga, Y., S. Matsuoka, et al. (2010). "Removal of autografted parathyroid tissue for recurrent renal hyperparathyroidism in hemodialysis patients." *World J Surg* 34(6): 1312-1317.
- Tranchart H, Gaujoux S, et al (2012) « Preoperative CT scan helps to predict the occurrence of severe pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy. » *Ann Surg*.256(1):139-45.
- Troppmann, C. (2010). "Complications after pancreas transplantation." *Curr Opin Organ Transplant* 15(1): 112-118.
- Tuncel A, et al. (2012). "Functional capacity of the thyroid autograft and heterograft: An experimental study." *Head Neck* 34(5): 702-708.
- Tzakis, A. G., C. Ricordi, et al. (1990). "Pancreatic islet transplantation after upper abdominal exenteration and liver replacement." *Lancet* 336(8712): 402-405.
- Tze, W. J. and J. Tai (1984). "Intracerebral allotransplantation of purified pancreatic endocrine cells and pancreatic islets in diabetic rats." *Transplantation* 38(2): 107-111.
- Unger RH, Cherrington AD. (2012) "Glucagonocentric restructuring of diabetes: a pathophysiologic and therapeutic makeover." *J Clin Invest*.122(1):4-12.
- Unger, W. W., J. Velthuis, et al. (2011). "Discovery of low-affinity preproinsulin epitopes and detection of autoreactive CD8 T-cells using combinatorial MHC multimers." *J Autoimmun* 37(3): 151-159.
- van Dellen, D., J. Worthington, et al. (2013). "Mortality in diabetes: pancreas transplantation is associated with significant survival benefit." *Nephrol Dial Transplant* 28(5): 1315-1322.
- van der Windt, D. J., R. Bottino, et al. (2012). "Clinical islet xenotransplantation: how close are we?" *Diabetes* 61(12): 3046-3055.

- van Suylichem, P. T., J. H. Strubbe, et al. (1994). "Rat islet isograft function. Effect of graft volume and transplantation site." *Transplantation* 57(7): 1010-1017.
- Vandemeulebroucke, E., B. Keymeulen, et al. (2010). "Hyperglycaemic clamp test for diabetes risk assessment in IA-2-antibody-positive relatives of type 1 diabetic patients." *Diabetologia* 53(1): 36-44.
- Vantyghem, M. C., J. Kerr-Conte, et al. (2009). "Primary graft function, metabolic control, and graft survival after islet transplantation." *Diabetes Care* 32(8): 1473-1478.
- Vantyghem MC, Raverdy V, et al. (2012) « Continuous glucose monitoring after islet transplantation in type 1 diabetes: an excellent graft function (β -score greater than 7) is required to abrogate hyperglycemia, whereas a minimal function is necessary to suppress severe hypoglycemia (β -score greater than 3). » *J Clin Endocrinol Metab.* 97(11):E2078-83.
- Vasir, B., L. P. Aiello, et al. (1998). "Hypoxia induces vascular endothelial growth factor gene and protein expression in cultured rat islet cells." *Diabetes* 47(12): 1894-1903
- Vasir B, Reitz P, et al. (2000) « Effects of diabetes and hypoxia on gene markers of angiogenesis (HGF, cMET, uPA and uPAR, TGF-alpha, TGF-beta, bFGF and Vimentin) in cultured and transplanted rat islets. » *Diabetologia.* 2000 43(6):763-72.
- Velthuis, J. H., W. W. Unger, et al. (2010). "Simultaneous detection of circulating autoreactive CD8+ T-cells specific for different islet cell-associated epitopes using combinatorial MHC multimers." *Diabetes* 59(7): 1721-1730.
- Vermeulen, I., I. Weets, et al. (2011). "Contribution of antibodies against IA-2beta and zinc transporter 8 to classification of diabetes diagnosed under 40 years of age." *Diabetes Care* 34(8): 1760-1765.
- Vollmer, C. M., Jr., N. Sanchez, et al. (2012). "A root-cause analysis of mortality following major pancreatectomy." *J Gastrointest Surg* 16(1): 89-102; discussion 102-103.
- Waisberg, J., C. B. Neff, et al. (2011). "Pancreatic islet allograft in spleen with immunosuppression with cyclosporine. Experimental model in dogs." *Acta Cir Bras* 26 Suppl 2: 57-64.
- Wallace, T. M., J. C. Levy, et al. (2004). "Use and abuse of HOMA modeling." *Diabetes Care* 27(6): 1487-1495.
- Ward, W. K., D. C. Bolgiano, et al. (1984). "Diminished B cell secretory capacity in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus." *J Clin Invest* 74(4): 1318-1328.
- Warnock, G. L., N. M. Kneteman, et al. (1991). "Normoglycaemia after transplantation of freshly isolated and cryopreserved pancreatic islets in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus." *Diabetologia* 34(1): 55-58.
- Warnock, G. L., N. M. Kneteman, et al. (1992). "Long-term follow-up after transplantation of insulin-producing pancreatic islets into patients with type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus." *Diabetologia* 35(1): 89-95.
- Warnock, G. L., D. M. Thompson, et al. (2008). "A multi-year analysis of islet transplantation compared with intensive medical therapy on progression of complications in type 1 diabetes." *Transplantation* 86(12): 1762-1766.
- Webb, M. A., A. R. Dennison, et al. (2012). "The potential benefit of non-purified islets preparations for islet transplantation." *Biotechnol Genet Eng Rev* 28: 101-114.
- Weber, C. J., M. A. Hardy, et al. (1978). "Tissue culture preservation and intramuscular transplantation of pancreatic islets." *Surgery* 84(1): 166-174.
- Welch, S., S. S. Gebhart, et al. (1990). "Minimal model analysis of intravenous glucose tolerance test-derived insulin sensitivity in diabetic subjects." *J Clin Endocrinol Metab* 71(6): 1508-1518.
- Wells, S. A., Jr., J. C. Gunnells, et al. (1975). "Transplantation of the parathyroid glands in man: clinical indications and results." *Surgery* 78(1): 34-44.
- Westermarck GT, Westermarck P, et al. (2008) « Widespread amyloid deposition in transplanted human pancreatic islets. » *N Engl J Med.* 359(9):977-9.

- Witkowski, P., H. Sondermeijer, et al. (2009). "Islet grafting and imaging in a bioengineered intramuscular space." *Transplantation* 88(9): 1065-1074.
- Wszola, M., A. Berman, et al. (2009). "TransEndoscopic Gastric SubMucosa Islet Transplantation (eGSM-ITx) in pigs with streptozotocine induced diabetes - technical aspects of the procedure - preliminary report." *Ann Transplant* 14(2): 45-50.
- Yamaguchi K, Yokohata K, et al. (2000) "Which is less invasive--distal pancreatectomy or segmental resection?" *Int Surg.* 2000 Oct-Dec;85(4):297-302.
- Yudkin JS, Richter B, et al. (2010) « Intensified glucose lowering in type 2 diabetes: time for a reappraisal." *Diabetologia.*53(10):2079-85.
- Zacharek, A., J. Chen, et al. (2007). "Angiopoietin1/Tie2 and VEGF/Flk1 induced by MSC treatment amplifies angiogenesis and vascular stabilization after stroke." *J Cereb Blood Flow Metab* 27(10): 1684-1691.
- Zhou, H., T. Zhang, et al. (2008). "Intrahepatic glucose flux as a mechanism for defective intrahepatic islet alpha-cell response to hypoglycemia." *Diabetes* 57(6): 1567-1574.