



Histoire de l'insuline : entre le biologique et l'artificiel

Insulin history: from biology through industry

Ghizlane El Mghari, Salwa Baki, Nawal El Ansari

Service d'endocrinologie, Hôpital Ibn Tofaïl,
Laboratoire PCIM, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Cadi Ayyad, Marrakech
(Maroc)

elmghari-ghizlane@hotmail.com

Introduction

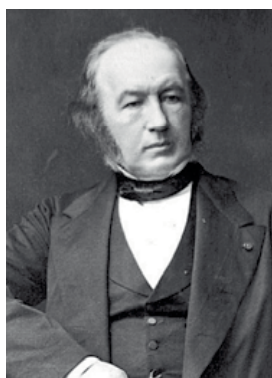
C'est sans doute le caractère fatal du diabète insulino-prive non traité, l'efficacité quasi miraculeuse de l'injection d'insuline, puis la difficulté à restaurer la normoglycémie qui expliquent que tant d'efforts aient été consacrés au perfectionnement de l'insulinothérapie. Ces efforts furent couronnés de succès. L'insuline fut la première protéine / hormone injectée efficace chez l'homme [1], la première dont la structure fut élucidée, la première à être dosée dans le sang, la première à être synthétisée par génie génétique [2]. Elle mériterait d'être désignée comme « la protéine ou l'hormone du XX^e siècle ».

Les premières découvertes : diabète puis insuline

J-C. Brunner, un médecin chercheur suisse, étudiant l'action du pancréas sur la digestion, note en 1679 que le chien pancréatectomisé est assoiffé, boit immodérément et est affamé. Mais il n'attribue pas ces signes à un diabète [2].

En 1855, Claude Bernard quant à lui montre que la glycémie reste pratiquement constante, quelle que soit l'alimentation ; il décrit le rôle du foie qui met le glucose en réserve sous forme de glycogène (amidon animal) et peut le retransformer en glucose ; et présume que la glycosurie n'est qu'un symptôme et pas la maladie elle-même : il fait du diabète « *un trouble général de la nutrition* » [2, 3].

Claude Bernard



En avril 1889 à Strasbourg, sollicité par Von Mering qui étudie la digestion des graisses, Minkowski effectue une pancréatectomie totale et découvre, semble-t-il accidentellement, que le chien est devenu diabétique. Le pancréas agit donc sur l'assimilation des sucres. Hédon dès 1893, ne conservant chez le chien qu'un fragment du pancréas, « le processus uncinatus » avec son pédicule vasculaire, apporte la preuve, en clampant et déclampant celui-ci, qu'il s'agit d'une sécrétion interne (le terme d'hormone ne sera créé par E.H. Starling qu'en 1905) [4].



Paul Langerhans



C'est Paul Langerhans, médecin allemand anatomopathologiste qui, en 1869, décrit deux types de cellules mais n'en connaît pas la fonction. Laguesse, qui connaît la thèse inaugurale soutenue en 1869 par Langerhans décrivant, noyées parmi le tissu glandulaire pancréatique, des cellules polygonales groupées en petits amas, en montre la nature épithéliale, les désigne « provisoirement sous le nom d'îlots de Langerhans » et y localise la sécrétion interne du pancréas [2-4].

Il ne restait plus qu'à découvrir la nature de la substance sécrétée; mais Jean de Meyer, à Bruxelles, jugea qu'on pouvait déjà lui donner un nom; il l'appela l'insuline. C'était en 1909 [4].

Nicolas Paulesco



Un professeur roumain, Nicolas Paulesco, montre que, chez un chien rendu diabétique par pancréatectomie, l'injection intra veineuse d'un extrait pancréatique (qu'il appelle Pancréïne) provoque une diminution de l'hyperglycémie et parfois même une hypoglycémie. Il décrit la durée d'action de cet extrait. En raison des effets secondaires (forte irritation locale par voie sous cutanée), Paulesco ne fait pas d'essai chez l'homme [5].

En 1921, l'insuline fut découverte enfin. Frederick Grant Banting, jeune chirurgien canadien de 29 ans, supposa que le pancréas pouvait en plus de sa fonction exocrine (de sécrétion d'enzymes agissant sur la digestion), avoir une fonction endocrine : production d'une hormone par les îlots de Langerhans capable de réguler la glycémie. Mac Leod, professeur de physiologie à Toronto lui procure un

petit laboratoire et des animaux d'expérience, ainsi que l'aide de Best, canadien de 22 ans, diplômé de physiologie et de biochimie et étudiant en médecine. Ils testent les extraits pancréatiques obtenus (qu'ils nomment « Soletine ») sur des chiens rendus diabétiques par pancréatectomie. Au cours de l'automne, grâce à l'aide du biochimiste Collip, ils obtiennent des extraits aux effets hypoglycémisants. Ils testent les extraits pancréatiques obtenus sur des chiens rendus diabétiques par pancréatectomie [1].

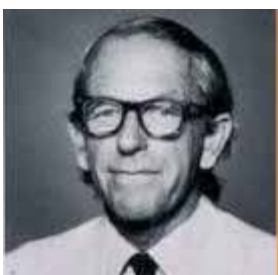
Charles Best (à gauche) et Frédéric Banting (à droite), avec un chien utilisé dans leurs expériences pour isoler l'insuline



Le 11 janvier 1922, le premier patient diabétique (Léonard Thompson) est traité par une préparation obtenue par extraction alcoolique du pancréas de bœuf. Pendant l'été 1922, la fabrication de l'insuline se fait sur une plus grande échelle. Elle sera largement disponible dès 1923.

L'insuline se révèle alors « la protéine du XXe siècle » [5]. Non seulement elle est un véritable miracle pour les patients diabétiques, mais aussi pour les chercheurs. Elle ne justifiera pas moins de trois prix Nobel, à Banting et Mac Leod pour la première protéine à utilisation thérapeutique, à Frédéric Sanger en 1958, pour la première détermination de la séquence d'une protéine, à Rosalyn Yalow en 1977 pour le premier dosage radio-immunologique [7].

Frédéric Sanger





Premiers progrès

La structure de l'insuline

L'insuline est obtenue cristallisée par John Abel à Baltimore en 1925, puis par Harrington et D.A. Scott. Ce dernier montre que les cristaux sont plus faciles à obtenir en présence de zinc [8].

L'insuline sécrétée par la cellule bêta circule sous la forme d'une molécule isolée appelée « monomère », qui est la forme active de la molécule. A concentration plus élevée et en présence de zinc, les monomères se condensent en dimères, puis en hexamères de six molécules. Cette forme est la forme de stockage dans les granules des cellules bêta, ainsi que dans les formulations pharmaceutiques classiques d'insuline.

Sanger, à Cambridge en 1954, établit la formule de l'insuline. Il révèle que le monomère d'insuline est constitué de deux chaînes polypeptidiques A et B, de respectivement 21 et 30 acides aminés, liées par deux ponts disulfures, avec un troisième pont au sein de la chaîne A [9].

Les insulines de longue durée d'action

L'hormone a une durée d'action courte et quatre à six injections quotidiennes sont nécessaires. Pour prolonger l'action de l'insuline injectée des moyens physiologiques divers ont été essayés sans grands résultats pratiques. En 1934, Hagedorn combine l'insuline à une protéine, la protamine. C'est l'insuline NPH (*Neutral Protamine Hagedorn*). Scott en ajoutant du zinc allonge encore le retard d'action de l'insuline-protamine. L'insuline-protamine-zinc (IPZ) est introduite en 1937 [10].

La purification et la qualité des cristaux d'insuline firent des progrès décisifs grâce aux travaux de Jorgen Schlichtkrull des laboratoires Nova, l'inventeur prolifique des insulines Ultralente®, Semilente®, Lente®, Actrapid® et Rapitard®.

Les moyens d'administration [11]

- ▶ Le développement des stylos injecteurs et leur perfectionnement ont permis de diminuer considérablement la contrainte de la multiplication des injections d'insuline.
- ▶ Celui des pompes à insuline favorise l'adaptation de l'insulinothérapie aux variations physiologiques des besoins d'insuline au cours du nyctémère.
- ▶ Mais ceci n'aurait pas été aussi efficace et praticable sans la mise au point des micro-méthodes de dosage instantané de la glycémie capillaire par le patient lui-même (lecteurs de glycémies ; le EYETONE, 1^{er} lecteur en 1974).

Grandes avancées technologiques

Trois avancées majeures dans les domaines de la chimie, de la physiologie, du génie génétique, vont permettre des progrès fondamentaux pour l'insulinothérapie.

La cristallographie aux rayons X et la résonance magnétique nucléaire

La cristallographie aux rayons X, et plus récemment la résonance magnétique nucléaire ont permis de décrire la configuration spatiale de la molécule d'insuline et de révéler en détail la nature des surfaces de la molécule impliquées dans l'association en dimère et hexamère. Cette connaissance de la structure a des implications pour le « design » après modélisation sur ordinateur d'analogues de l'insuline.

L'insuline, première protéine circulante dosée

L'insuline fut la première protéine circulante mesurable par dosage radio-immunologique (en 1960) réalisé par Solomon Berson et Rosalyn Yalow, ce qui valut le prix Nobel à cette dernière en 1977 [12]. Ceci a rendu possible l'analyse précise des besoins en insuline, tant sur le plan quantitatif que cinétique, de l'homme diabétique insulinooprive. Sont alors décrites avec précision la réponse importante, rapide, puis soutenue à un repas, la sécrétion basale et ses variations.



Le pancréas artificiel

▶ La mise au point du pancréas artificiel par J. Mirouze, puis E. Pfeiffer, montre que l'on peut normaliser la glycémie du diabétique en asservissant une infusion d'insuline intraveineuse à une mesure en continu de la glycémie par un algorithme approprié. Aujourd'hui, des algorithmes permettant une régulation précise du diabète à partir d'une mesure continue du glucose et d'une perfusion continue d'insuline ont fait la preuve de leur efficacité et surtout de leur sécurité d'emploi, avec l'espoir à court terme de les utiliser en pratique courante.

▶ L'avènement du génie génétique (technologie de l'ADN recombinant) dans les années 70, ouvre de nouvelles voies d'approche. L'insuline humaine est la première protéine biosynthétisée par génie génétique. Puis, la mutagenèse dirigée permettra de fabriquer des molécules d'insuline biosynthétiques dans lesquelles un ou plusieurs acides aminés seront substitués par d'autres afin de modifier les propriétés d'association ou la solubilité de la molécule [13].

L'ère des analogues [14, 15]

Le concept de réalisation d'analogues de l'insuline repose sur deux principes :

- ▶ Les acides aminés impliqués dans la liaison aux récepteurs, donc dans l'activité biologique, doivent être ménagés ainsi que leur présentation dans la structure spatiale de la molécule ;
- ▶ Les acides aminés intervenant dans la formation des dimères, puis de l'hexamère, mais situés hors de la zone de liaison des récepteurs, seront modifiés. Ceci permettra soit d'augmenter la stabilité des hexamères pour retarder la solubilité de l'insuline, soit de conserver l'insuline sous forme monomérique, la capacité de dimérisation étant abolie par répulsion mutuelle pour accélérer la diffusion.

En effet, la résorption d'insuline injectée, son transfert dans le plasma, se fait sous forme de monomère. Plus les hexamères et dimères sont stables, plus la résorption sera lente et par là, l'action biologique prolongée. Ce sont les analogues lents. Si l'insuline reste sous forme monomérique, la diffusion est immédiate. Ce sont les analogues rapides.

Divers analogues d'action rapide ou lente sont maintenant commercialisés et leurs avantages cliniques bien démontrés, en particulier en les associant selon des schémas insuliniques intensifiés.

Références

1. Banting F, Best C, Collip J, Campbell B, Fletcher A. Pancreatic extracts in the treatment of diabetes mellitus, Can Med Assoc J 1922;12:141-46.
2. Bliss M. The history of insulin. Diabetes Care 1993;16(Suppl.3):4-7.
3. Halimi S. 1921 ou l'autre histoire de l'insuline : Rosalyn S. Yalow. Médecine des maladies Métaboliques 2012;6(2):170-73.
4. Gerritsen VB. L'insuline : protéine du 20^e siècle. Protein spotlight. Avril 2001 N° 9.
5. Alberti G. Les leçons de l'histoire de l'insuline. Diabetes Voice 2001;4:33-34.
6. Owens DR, Zinman R, Bolli GB. Insulins today and beyond. Lancet 2001;358:9283:739-46.
7. Karamitsos T. The story of insulin discovery. Diabetes research and clinical practice 2011;93:1-3.
8. Scott D, Fisher A. The effect of zinc salts on the action of insulin. J Pharmacol Exp Ther 1935;55:206.
9. Ryle A, Sanger F, Smith L, Kitai R. The disulphide bonds of insulin. Biochem J 1955;4:60.
10. Hagedorn H, Jensen B, Krarup N, Wodstrup I. Protamine insulin. J Am Med Assoc 1936;106:177-80.
11. Gerich JE. Novel insulins: expanding options in diabetes management. Am J Med 2002;113(4) 308-16.
12. Yalow RS, Berson SA. Immunoassay of endogenous plasma insulin in man 216. J Clin Invest 1960;39:1157-75.
13. Stretton AO. The first sequence. Fred Sanger and insulin. Genetics 2002;162:527-32.
14. McAulay V, Frier BM. Insulin analogues and other developments in insulin therapy for diabetes, Expert Opin Pharmacother 2003;4(7):1141-56.
15. Hirsch IB. Insulin analogues. N Engl J Med 2005;352(2):174-83.