



HAL
open science

Diabète, vascularisation pancréatique et pancréas exocrine

Laure Alexandre-Heymann

► **To cite this version:**

Laure Alexandre-Heymann. Diabète, vascularisation pancréatique et pancréas exocrine. Physiologie [q-bio.TO]. Université Paris Cité, 2021. Français. NNT : 2021UNIP5183 . tel-04616403

HAL Id: tel-04616403

<https://theses.hal.science/tel-04616403v1>

Submitted on 18 Jun 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université de Paris

Ecole doctorale BioSPC ED562

Laboratoire Institut Cochin

*Régulation des cellules pancréatiques chez le rongeur et chez
l'Homme*

Diabète, vascularisation pancréatique et pancréas exocrine

Par Laure ALEXANDRE-HEYMANN

Thèse de doctorat en Sciences de la Vie et de la Santé

Spécialité : physiologie et physiopathologie

Dirigée par Etienne LARGER

Présentée et soutenue publiquement le 3 décembre 2021

Devant un jury composé de :

Pr Bruno FEVE, PU-PH, Sorbonne Université, Rapporteur

Pr Laurence KESSLER, PU-PH, Université de Strasbourg, Rapportrice

Pr Etienne LARGER, PU-PH, Université de Paris, directeur de thèse

Dr Olivier BOURRON, MCU-PH, Sorbonne Université, Examineur

Pr Anne COUVELARD, PU-PH, Université de Paris, Examinatrice

Pr Vinciane REBOURS, PU-PH, Université de Paris, Examinatrice



LISTE DES ÉLÉMENTS SOUS DROITS

Liste de **tous les éléments retirés** de la version complète de la thèse
faute d'en détenir les droits

Légende de l'image	N° de l'image	Page(s) dans la thèse
Administration simultanée de glucose et d'insuline	1	12
Coupe de pancréas humain, coloration hématoxyline-éosine	2	14
Résumé des mécanismes d'insulino-résistance	3	17
Progression du diabète de type 1	4	19
Prévalence du diabète chez des témoins et chez des patients présentant différents types de cancers	5	25
Facteurs contribuant à l'IPE dans le diabète	6	50
Vascularisation du pancréas	7	52
Reconstruction 3d de la vascularisation d'un îlot de Langerhans de souris	8	52
Différentes représentations de la vascularisation insulaire	9	53
Risque relatif de développer un diabète chez les patients sous ramipril versus placebo	10	58
Mécanismes pouvant expliquer la prévention du diabète par les traitements du système rénine-angiotensine	11	60
Photographies au microscope électronique du réseau capillaire insulaire	12	61
Vaisseaux insulaires chez des donneurs témoins ou avec DT1	13	65

Titre : Diabète, vascularisation pancréatique et pancréas exocrine

Résumé : La régulation de la glycémie, chez l'Homme comme chez la plupart des animaux, dépend étroitement de la sécrétion d'insuline. Tous les types de diabète sont liés à des dysfonctionnements spécifiques des cellules bêta situées dans les îlots de Langerhans. Cependant, le pancréas exocrine est lui aussi impliqué dans la physiopathologie des diabètes : les maladies du pancréas exocrine (pancréatite chronique, cancer du pancréas, mucoviscidose) peuvent se compliquer de diabète, et les anomalies du pancréas exocrine sont fréquentes chez les patients présentant un diabète de type 1 ou un diabète de type 2. Les lésions vasculaires pancréatiques étant fréquentes, précoces et sévères chez les personnes présentant un diabète, nous avons étudié les liens entre diabète, vascularisation pancréatique et pancréas exocrine.

Notre travail a consisté en plusieurs séries d'expérimentation :

- Une première étude a comparé les scanners pancréatiques de patients présentant un diabète de la mucoviscidose à ceux de patients présentant une mucoviscidose sans diabète. Les patients présentant un diabète de la mucoviscidose présentaient plus de dégénérescence graisseuse du pancréas et de calcifications pancréatiques que ceux qui n'avaient pas de diabète.
- Une deuxième étude a comparé les scanners pancréatiques de patients présentant un diabète de type 2 avec celui de témoins. Chez les patients, l'artère splénique vascularisant la queue du pancréas était plus fréquemment calcifiée, et de façon plus sévère, et l'arbre vasculaire pancréatique était moins dense que chez les témoins. Par ailleurs, les variations de volume et d'infiltration graisseuse étaient différentes entre les patients et les témoins, le volume pancréatique étant notamment corrélé au diamètre de l'artère splénique uniquement chez les patients.
- L'élaboration d'un modèle murin d'ischémie pancréatique par ligature définitive de l'artère splénique : l'ischémie de la queue du pancréas n'a pas montré d'effet sur la régulation glycémique. En revanche, la zone ischémisée présentait une tendance à la diminution de surface des cellules marquée pour l'insuline, et des signes clairs de pancréatite tels qu'une atrophie acinaire et une fibrose inter- et intralobulaire. On observait également une dégénérescence graisseuse importante du pancréas. Ces anomalies avaient régressé en grande partie 6 semaines après la ligature, montrant des capacités importantes de régénération du pancréas chez la souris.

Ainsi, ce travail montre qu'il existe une interconnexion entre les anomalies du pancréas exocrine et du pancréas endocrine dans ces différentes pathologies, et que la vascularisation pancréatique joue un rôle dans cette interconnexion avec un effet notamment sur la dégénérescence graisseuse pancréatique.

Mots clefs : Diabète de type 1, diabète de type 2, diabète de la mucoviscidose, pancréatite chronique, insuffisance pancréatique exocrine, athérosclérose mésentérique, artère splénique, vaisseaux pancréatiques, ischémie pancréatique, atrophie pancréatique, stéatose pancréatique

Title: Relationship between diabetes mellitus, pancreas vascularization and the exocrine pancreas

Abstract:

Blood glucose regulation in humans and in most of animals depends on insulin secretion. Therefore, all the types of diabetes mellitus (DM) are linked to dysfunctions of the beta cells, located within the islets of Langerhans.

However, the exocrine pancreas is also involved in the pathophysiology of DM: patients with diseases of the exocrine pancreas such as chronic pancreatitis, pancreatic cancer or cystic fibrosis can develop DM, and abnormalities of the exocrine pancreas are frequent in patients with type 1 or type 2 diabetes. Since lesions of the pancreatic vessels appear earlier, are more common and more severe in the latter, we studied the relationship between DM, pancreatic vascularization and the exocrine pancreas.

Our work consisted of several experimental studies:

- We compared images of pancreatic computed tomography (CT) from patients with cystic fibrosis related diabetes (CFRD) to those from patients with cystic fibrosis without diabetes. Patients with CFRD presented more often with complete pancreatic lipomatosis and pancreatic calcifications than those without diabetes.
- We compared images of pancreatic CT from patients with type 2 diabetes to those from controls. In patients, the splenic artery, which vascularizes the tail of the pancreas, was more frequently and severely calcified, and the pancreatic vascular tree was less dense than in controls. Furthermore, variations in volume and fatty infiltration were different between patients and controls. Namely, the pancreas volume correlated with the splenic artery diameter in patients but not in controls.
- We developed a murine model of pancreatic ischemia by definitive ligation of the splenic artery. Ischemia of the pancreatic tail did not alter glycemia regulation. In contrast, the surface of insulin-marked cells tended to decrease, and there were clear signs of pancreatitis such as acinar atrophy and inter- and intralobular fibrosis in the ischemic area. There was also significant fatty degeneration of the pancreas. Six weeks after ligation, the exocrine pancreatic abnormalities largely resolved, showing that, in mice, the pancreas has important regenerative capacities.

This work shows an interconnection between exocrine and endocrine pancreatic abnormalities. Pancreatic vascularization may be an important factor of this interconnection, with a particular effect on fatty degeneration of the pancreas.

Keywords: Type 1 diabetes, Type 2 diabetes, cystic fibrosis related diabetes, chronic pancreatitis, exocrine pancreatic insufficiency, mesenteric atherosclerosis, splenic artery, pancreatic vessels, pancreas ischemia, pancreatic atrophy, pancreatic lipomatosis

Remerciements

*Merci, Professeur Kessler et Professeur Fève,
de me faire l'honneur de juger cette thèse,
d'en être rapporteurs. Merci Dr Bourron,
Pr Couvelard et Pr Rebours,
de me faire l'honneur d'avoir pris du temps pour
étudier mon travail, être présents ce jour.*

*Un grand merci aussi au Pr Larger
de m'avoir conseillée en recherche, en clinique,
pour les prêts d'oeuvres littéraires, scientifiques,
et ce maintenant depuis quelques années.*

*Merci Dr Scharfmann de m'avoir accueillie
dans ce laboratoire et de m'avoir permis
de rencontrer cette équipe de joyeux drilles :
Virginie, merci pour ta grande gentillesse,
ton didactisme, ta patience, ta clarté,
merci aussi pour tous ces repas partagés.
Latif, ta revue quotidienne de la presse
scientifique bien sûr, tes conseils, tes débats,
ton enthousiasme aussi, merci pour tout cela.
Merci à Kevin, toi l'ami co-doctorant,
toujours prêt à ramer et toujours sur le pont.
Ce fut salutaire car pour être bien franc,
que serait la galère sans ses compagnons ?
Merci, Fatna, Mathilde, votre aide technique
Sûr, je la qualifierai de supersonique.
Marine, Chloé, Claire, Andréa, Alexis,
Aurore, Séverine, Alicia et Thania
Sans oublier Batoul, gentils et pleins de joie
Prêts à aider toujours, à tous un grand merci.*

*Merci, Dr Le Gall, de m'avoir accueillie
Et permis, oui, enfin, d'opérer des souris.
Merci pour toute l'aide apportée au projet.
Merci à Mme Fauveau, la chirurgie
d'artères minuscules est pour ses doigts de fée
une formalité. C'en est de la magie.*

*Merci aussi à vous, mes consœurs de Cochin
Ma thèse est rédigée grâce à votre soutien.*

*Famille, à vous merci, frère, parents, neveux,
beau-frère, belles-sœurs, belle-mère et j'en passe
amis aussi bien sûr, merci d'être si classes.*

*Pas de vers pour les tous derniers remerciements
Car parfois il vaut mieux s'exprimer simplement :*

*Merci Benjamin et Lucie d'être devenus les premiers experts en ischémie pancréatique de vos
communautés professionnelles respectives (celle des mathématiciens et celle des adorateurs de
peluches et de poneys rebondissants).*

Liste des principales abréviations

AC : anticorps
ARA2 : antagonistes des récepteurs de l'angiotensine 2
ASL : arterial spin labeling
AVC : accident vasculaire cérébral
BOLD : blood oxygenation level dependent
CMH : complexe majeur d'histocompatibilité
CPAP : continuous positive airway pressure therapy
DM : diabète de la mucoviscidose
DP : diabète pancréatique
DPP IV : dipeptidyl peptidase IV
DT1 : Diabète de type 1
DT2 : Diabète de type 2
GAD : décarboxylase de l'acide glutamique
GIP : glucose dependent insulintropic polypeptide
GK : Goto-Kazikazi
GLP1 : glucagon like peptide 1
HIF : hypoxia inductible factor
HIP : human islet amyloid polypeptide
HTA : hypertension artérielle
i-SGLT2 : inhibiteur du sodium glucose cotransporteur 2
IA2 : autoantigène associé à l'insulinome
IEC : inhibiteur de l'enzyme de conversion
IL1-bêta : interleukine 1 bêta
IMC : indice de masse corporelle
IPE : insuffisance pancréatique exocrine
IPGTT : intraperitoneal glucose tolerance test
IRM : imagerie par résonance magnétique
MAPK : mitogen activated protein kinase
NOD : non obese diabetic
OLETF : Otsuka-Long-Evans-Tokushia fatty
OMS : organisation mondiale de la santé
PC : pancréatite chronique
PKC : protein kinase C
RI : récepteur de l'insuline
ROS : reactive oxygen species
SAOS : syndrome d'apnées obstructives du sommeil
SCID : déficit immunitaire combiné sévère

SMA : smooth muscle actin

UPR : unfolded protein response

VEGF : vascular endothelial growth factor

VLDL : very low density lipoprotein

WHHL : Watanabe heritable hyper-lipidemic

ZDF : zucker diabetic fatty

Znt8 : transporteur du zinc 8

Sommaire

INTRODUCTION.....	9
CHAPITRE 1 : HISTORIQUE DES RECHERCHES SUR LA PHYSIOPATHOLOGIE DES DIABETES	11
CHAPITRE 2 : DIABETES ET PANCREAS EXOCRINE	22
CHAPITRE 3 : VASCULARISATION PANCREATIQUE, PANCREAS ENDOCRINE ET PANCREAS EXOCRINE	50
PREMIÈRE PARTIE : LIENS ENTRE PANCRÉAS EXOCRINE ET DIABÈTE DANS LES MALADIES PANCRÉATIQUES : EXEMPLE DE LA MUCOVISCIDOSE	69
DEUXIEME PARTIE : DIABÈTES, VASCULARISATION PANCRÉATIQUE ET PANCRÉAS EXOCRINE	86
CHAPITRE 1 : CHEZ L’HOMME : ANOMALIES DES ARTERES A DESTINEE PANCREATIQUE CHEZ DES PATIENTS PRESENTANT UN DIABETE DE TYPE 2.....	87
CHAPITRE 2 : MODELE MURIN : MODELE D’ISCHEMIE PANCREATIQUE PAR LIGATURE DE L’ARTERE SPLENIQUE	102
PERSPECTIVES	124
ANNEXES.....	129
BIBLIOGRAPHIE.....	145
TABLE DES ILLUSTRATIONS	161

Introduction

A l'origine de ce travail, se trouve une hypothèse formulée à la fin des années 2000 sur le rôle potentiel de l'hypertension artérielle (HTA) dans le développement du diabète par l'intermédiaire de lésions des microvaisseaux des îlots de Langerhans (1), qui faisait écho aux conséquences de l'HTA sur la structure et la fonction des vaisseaux glomérulaires rénaux. Cela a généré l'hypothèse que certaines formes de diabète pourraient être la conséquence directe d'une ischémie insulaire. Nous avons donc cherché à tester cette hypothèse, abordée plus en détails dans la partie expérimentale de cette thèse. Les différents travaux réalisés dans ce but nous ont également amenés à développer le sujet encore trop peu étudié des liens entre diabète et pancréas exocrine.

Pour mieux les comprendre, et en cette année symbolique des cent ans de la découverte de l'insuline, il est intéressant de revenir aux sources de la recherche sur le diabète et sur sa physiopathologie.

Le diabète est un syndrome qui regroupe de multiples pathologies dont la caractéristique principale est l'hyperglycémie chronique. Parmi les causes de ce syndrome, les plus fréquentes sont le diabète de type 1 (DT1), le diabète de type 2 (DT2) et le diabète gestationnel. Tous les types de diabète sont dus à l'incapacité de sécréter une quantité suffisante d'insuline pour assurer une glycorégulation normale. L'insuline, produite par le pancréas, a de multiples effets métaboliques et régule les flux de substrats énergétiques par action sur 3 organes clés : foie, muscle et tissu adipeux.

Le diabète est une pathologie extrêmement commune : plus de 420 millions de personnes dans le monde en sont atteintes, et les pays à faibles et moyens revenus ont vu les cas de diabète augmenter de façon importante ces dernières années. C'est une maladie qui a des conséquences cliniques majeures : l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime qu'en 2019, 1,5 millions de personnes sont décédées directement à cause du diabète, et les décès causés indirectement par le diabète (en raison du risque augmenté de pathologies cardio-vasculaires ou rénales par exemple) sont estimés à plus de 2 millions par an. Le diabète est une cause de morbidité et de handicap majeure par cécité et malvoyance, insuffisance rénale, infarctus du myocarde, accidents vasculaires cérébraux, et amputations des membres inférieurs. La

prévention de l'apparition du DT2 par des mesures de santé publique (informations et programmes d'amélioration de l'alimentation et de l'activité physique) et la prise en charge médicale précoce des différents types de diabète permettent d'en limiter fortement la morbi-mortalité. La recherche sur le diabète reste donc un sujet majeur d'actualité et une source d'espoir pour les patients.

La période actuelle est caractérisée par des innovations thérapeutiques encourageantes aussi bien dans le traitement du DT1 que dans celui du DT2. Cela pourrait faire oublier que c'est « seulement » en 1889 qu'on a découvert que le diabète était une maladie du pancréas, alors que les symptômes du diabète étaient connus depuis l'Antiquité. Rapidement après la découverte du pancréas comme organe en cause dans le diabète, le rôle spécifique des îlots de Langerhans a été mis en évidence, et les chercheurs se sont donc intéressés très majoritairement à ces derniers, délaissant l'étude du pancréas exocrine dans le diabète. Cependant, la physiopathologie des différents types de diabète, y compris du DT1, qui pourrait être considérée comme une maladie spécifique de la cellule bêta, reste encore incomplètement comprise. Certaines études citées ci-dessous, montrent que les îlots et les cellules bêta pourraient être moins isolés du reste du pancréas que ce que l'on a pensé pendant de nombreuses années. C'est pour cette raison qu'on observe les dernières années un regain d'intérêt des chercheurs en diabétologie pour le pancréas en tant qu'organe complet, englobant donc le pancréas exocrine ainsi que ses vaisseaux, et que de nouvelles théories sur la physiopathologie des diabètes voient le jour.

Dans cette introduction, nous rappellerons donc dans une première partie l'historique des connaissances modernes sur la physiopathologie des diabètes. La deuxième partie sera consacrée aux connaissances actuelles sur les liens entre diabète et pancréas exocrine (que ce soit le diabète lié aux pathologies pancréatiques, ou les anomalies du pancréas exocrine dans les diabètes). La troisième partie sera consacrée aux connaissances sur la vascularisation pancréatique dans un contexte de diabète.

Chapitre 1 : Historique des recherches sur la physiopathologie des diabètes

I De la glycosurie à l'insulinothérapie

Les symptômes du diabète sont connus depuis l'Antiquité : une maladie induisant une polydipsie et une polyurie et rendant les urines sucrées avait été décrite en Égypte, en Inde, en Chine, ou en Grèce plusieurs centaines d'années avant notre ère (2).

De nombreuses théories sont alors échafaudées dans les siècles qui suivent pour comprendre l'origine du diabète et proposer des traitements, mais c'est seulement à la fin du XIX^{ème} siècle que des chercheurs montrent expérimentalement qu'une dysfonction du pancréas est en cause dans le diabète.

En 1889, Minkowski et von Mering réalisent des pancréatectomies totales sur plusieurs chiens (3). Ils observent que les chiens deviennent diabétiques, avec une glycosurie persistante plusieurs jours après l'opération, et qu'ils présentent des signes cliniques classiques du diabète : soif intense, perte de poids, polyurie, et même cétonurie. Leur hypothèse d'une sécrétion pancréatique endocrine permettant de réguler la glycémie est rapidement confirmée par Hédon (4) : celui-ci réalise des pancréatectomies subtotaux en déplaçant le fragment de pancréas restant sous la peau de chiens, et montre que ce fragment de pancréas ectopique suffit à éviter le diabète, et que le pancréas sécrète dans les vaisseaux sanguins une substance nécessaire à la régulation glycémique.

En 1900, un jeune anatomopathologiste, E. Opie, montre que les îlots de Langerhans, structures histologiques connues à cette époque depuis une trentaine d'années, et dont E. Laguesse avait suspecté qu'ils pourraient être le lieu de cette sécrétion endocrine (entre autres en constatant que les îlots étaient particulièrement vascularisés), sont atteints de manière spécifique et quasi constante chez les patients présentant un diabète (5,6). Il est le premier à décrire l'insulite qui caractérise maintenant le DT1 et les dépôts amyloïdes qui caractérisent ce que l'on appelle maintenant le DT2.

Cette observation, ainsi que les travaux de Laguesse, Hédon et bien d'autres, ont ouvert la voie à l'équipe de recherche canadienne qui a finalement réussi à purifier l'insuline : Macleod, Banting et Best ligaturent d'abord les canaux pancréatiques de chiens, afin d'obtenir l'atrophie

du pancréas exocrine et de ne garder que les îlots de Langerhans (non affectés par cette ligature comme l'avait montré Laguesse chez le lapin). Puis, avec l'aide de Collip, un chimiste de leur équipe, ils purifient le produit de sécrétion de ces îlots, l'insuline, ce qui vaut à Banting et MacLeod le prix Nobel dès 1923 (7). Très rapidement, l'insuline peut être extraite à plus grande échelle et utilisée comme traitement du diabète, ce qui a révolutionné le pronostic des jeunes patients qui présentaient ce qu'on n'appelait pas encore le DT1.

En parallèle, l'existence de différents types de diabète a été formalisée à partir des travaux d'Apollinaire Bouchardat : parmi les patients qui présentent une polyurie avec glycosurie, il est possible de faire la distinction entre ceux qui présentent des symptômes sévères à un âge jeune, qui sont plutôt minces, et qui ont une espérance de vie limitée à l'époque, d'une part ; et ceux dont les symptômes plus modérés apparaissent à un âge plus avancé et qui sont plutôt en surpoids, d'autre part.

En 1936, Himsworth réalise des tests cliniques, en administrant de façon concomitante du glucose par voie orale et une injection d'insuline à des patients présentant un diabète. Il montre que certains patients sont sensibles à l'effet de l'insuline, alors que d'autres ne le sont pas (8) **(Figure 1)**.

Figure 1. Administration simultanée de glucose et d'insuline. Courbes de glycémies. Patiente I – Non sensible à l'insuline. Femme de 60 ans, injection de 7.3U d'insuline IV et 43.8g de glucose PO. Glycémie à jeun 208 mg/100 c.cm. Patiente II – Sensible à l'insuline. Femme de 21 ans, injection de 7U d'insuline IV et 41 g de glucose PO. Glycémie à jeun 244mg/100c.cm. Les courbes sont présentées pour démarrer au même niveau glycémique.

Elément sous droit, diffusion non autorisée

Himsworth HP. Diabetes mellitus: its differentiation into insulin-sensitive and insulin-insensitive types. 1936. Int J Epidemiol. déc 2013;42(6):1594-8

A partir de la fin des années 1950, on commence à parler de diabète insulino-dépendant et de diabète non insulino-dépendant puis de DT1 et de DT2 (9), et à associer les syndromes cliniques aux anomalies de sécrétion et / ou de sensibilité à l'insuline. C'est à partir de cette époque que les chercheurs vont s'intéresser aux physiopathologies spécifiques de ces maladies.

II Rappels sur l'anatomie et l'histologie normales du pancréas

Le pancréas est un organe rétropéritonéal situé dans la partie haute de l'abdomen, à l'arrière de l'estomac. Il pèse environ 100 g et mesure entre 15 et 25 cm de long (10). On le divise en plusieurs parties en fonction des relations qu'elles ont avec les autres organes : la tête (en contact avec le duodénum), le corps, et la queue (en contact avec la rate). C'est un organe amphicrine, c'est-à-dire qu'il est constitué :

- D'une part, d'une **portion exocrine**, environ 95% de la masse pancréatique. Elle est responsable de la sécrétion d'enzymes pancréatiques (amylase, lipase, trypsine, etc.) nécessaires à la digestion des protéines, des graisses, des glucides, des ADN, des ARN et des fibres. Ces enzymes sont produites par les cellules acinaires, jointives entre elle et regroupées en lobules. Elles sont sécrétées dans un fluide riche en bicarbonate jusque dans les canaux constitués de cellules canalaire et organisés en un réseau intralobulaire puis interlobulaire qui se jette enfin dans le canal pancréatique principal, ou canal de Wirsung.

- D'autre part, d'une **portion endocrine, représentant 1 à 2 %** de la masse pancréatique, et responsable de la sécrétion de l'insuline, du glucagon, de la somatostatine et du polypeptide pancréatique ainsi que d'autres hormones mineures. Les îlots de Langerhans forment la portion endocrine (11). Ce sont des structures d'une taille moyenne de 100 à 150 microns chez l'humain mais il y a une variabilité importante de taille des îlots. Ainsi, sur une coupe d'îlots (en 2 dimensions) certains apparaissent constitués de seulement quelques cellules. Les îlots sont le plus souvent grossièrement sphériques. Chez l'humain, le nombre moyen d'îlots est variable, estimé de 500.000 à 1 million. Ils sont irrégulièrement distribués au sein du pancréas exocrine (**figure 2**), et sont constitués de différents types cellulaires : les cellules bêta productrices d'insuline, qui constituent en général environ 75% (mais moins de 50% chez certaines personnes) des cellules de l'îlot, les cellules alpha, productrices de glucagon, les cellules delta, productrices de somatostatine, les cellules PP, productrices de polypeptide pancréatique et les cellules epsilon, productrices de ghréline. Chaque type cellulaire est responsable de la sécrétion

d'une seule hormone dans les conditions physiologiques. La répartition des différents types cellulaires varie selon la localisation des îlots au sein du pancréas (12).

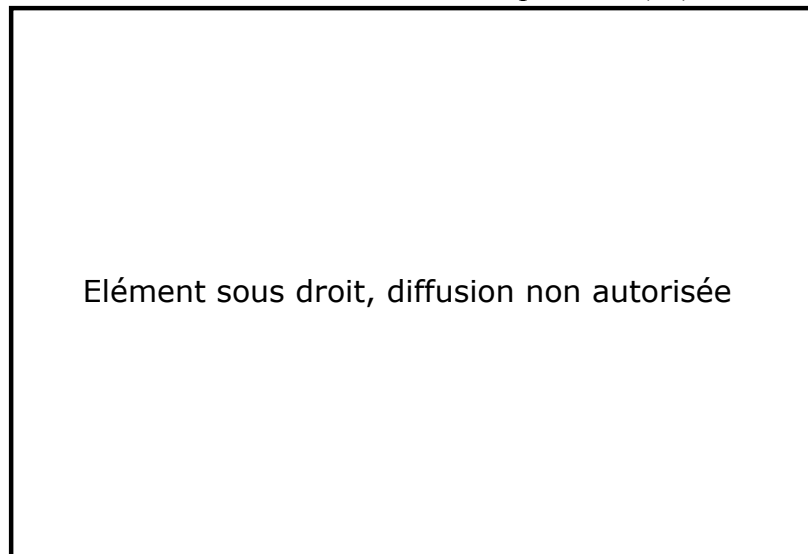


Figure 2. Coupe de pancréas humain, coloration hématoxyline-éosine. Tissu acinaire avec 3 îlots (structures rondes constituées de plus petites cellules avec un cytoplasme plus clair), et un petit canal (en haut à droite).

Longnecker DS. Anatomy and Histology of the Pancreas. Pancreapedia: The Exocrine Pancreas Knowledge Base [Internet]. Disponible sur: /reviews/anatomy-and-histology-of-pancreas

III Connaissances sur la physiopathologie du diabète de type 2

Le DT2 est une maladie qui survient en général chez des personnes âgées de plus de 40 ans. Elle survient chez des patients présentant un terrain génétique à risque, qui sont exposés à un contexte socio-environnemental particulier : sédentarité, surpoids, alimentation inadéquate. Selon l'OMS, le DT2 représente environ 90 à 95% des cas de diabète dans le monde (13).

Les connaissances actuelles plus précises sur la physiopathologie du DT2 sont résumées brièvement ci-dessous.

1. Dysfonction de la cellule bêta

On ne sait pas bien quels sont les déficits primitifs de la fonction des cellules bêta ; ils peuvent se manifester bien en amont du diagnostic de diabète par des anomalies de sécrétion d'insuline lors d'une grossesse (macrosomie ou diabète gestationnel) ou lors d'un stress ou d'une corticothérapie. A ces anomalies de fonction, caractérisées par une sécrétion maximale

insuffisante d'insuline, peuvent se surajouter des anomalies acquises. Ainsi la consommation excessive de produits sucrés et gras augmente les taux de glucose et de lipoprotéines de très basses densité (very low density lipoproteins (VLDL)). Cette charge en glucides, ajoutée à la résistance à l'action de l'insuline évoquée ci-dessous, augmentent la charge de travail des cellules bêta. L'apparition de proinsuline dans le sang circulant est le témoin de la dysfonction des cellules bêta : elle est la manifestation d'anomalies d'apprêtement de l'insuline, dont la conséquence est l'activation de la voie du stress du réticulum (14). L'une des conséquences possibles en est la mort par apoptose des cellules bêta, un facteur d'autoaggravation des anomalies de fonction par réduction de la masse fonctionnelle des cellules bêta. Par ailleurs, une réponse inflammatoire avec participation de cytokines et recrutement de macrophages a été observée, mais on ne sait pas s'il s'agit d'une anomalie primitive ou d'un mécanisme de clairance des cellules en apoptose.

L'excès de glucose, fructose et de triglycérides peut en outre aboutir à la production de dérivés réactifs de l'oxygène (reactive oxygen species en anglais, ROS) et à la génération de molécules de l'inflammation (15,16). Le stress oxydant peut lui-même amplifier l'effet de stress du réticulum, la dysfonction mitochondriale, et déréguler des voies métaboliques (AMPk, mTOR, JNK) ce qui pourrait avoir à son tour un impact sur la fonction, voire la survie, des cellules bêta (17).

2. Insulino-résistance

2.1 Au niveau des muscles

La liaison de l'insuline à son récepteur (récepteur de l'insuline, RI) au niveau des muscles squelettiques induit la translocation du transporteur de glucose GLUT4, situé dans des vésicules à l'intérieur de la cellule, vers la membrane cellulaire. Ceci permet la captation du glucose par les muscles, pour la reconstitution de leurs stocks de glycogène.

Chez les personnes en surpoids et / ou sédentaires, l'augmentation de la graisse intramusculaire et la présence d'acides gras circulants ont un effet direct négatif sur l'activation du RI et donc sur l'effet de l'insuline sur la cellule musculaire. La captation du glucose sera moindre, ainsi que son stockage sous forme de glycogène ou son utilisation (18–20).

2.2 Au niveau du tissu adipeux

Lorsque les cellules adipeuses sont hypertrophiques, elles deviennent résistantes à l'action antilipolytique de l'insuline. S'y associent habituellement une inflammation locale et des anomalies de la vascularisation du tissu adipeux avec hypoxie et fibrose. Les cytokines sécrétées par le tissu adipeux dysfonctionnel participent à l'inflammation systémique, comme en témoignent par exemple l'élévation de la CRP et les résistances hépatique et musculaire à l'action de l'insuline (21).

2.3 Au niveau du foie

L'insuline active la synthèse de glycogène hépatique, inhibe la glycogénolyse et la libération de glucose par le foie. L'insuline active par ailleurs la lipogenèse de novo, à partir du fructose en particulier. En situation de résistance à l'insuline, l'inhibition de la production hépatique de glucose par l'insuline est insuffisante, la production hépatique de glucose à jeun dépasse les besoins (du cerveau en particulier) ; c'est la source essentielle de l'hyperglycémie à jeun chez les patients présentant un DT2. Paradoxalement la lipogenèse de novo n'est pas altérée, voire activée, ce qui contribue à la stéatose hépatique. L'afflux des acides gras généré par l'inhibition incomplète de la lipolyse adipocytaire participe à ces phénomènes hépatiques (22) (**Figure 3**).

Elément sous droit, diffusion non autorisée

Figure 3. Résumé des mécanismes d'insulino-résistance.

a. Excès d'apports alimentaires : Hypertrophie et hyperplasie adipeuses, dépôts de graisse dans le muscle et le foie. **b.** La dysfonction adipeuse induit une inflammation locale qui augmente la lipolyse (effet direct ou via l'inhibition de signalisation par l'insuline) et donc le relargage d'acides gras libres et de glycérol par le tissu adipeux blanc. La dysfonction adipeuse induit aussi une inflammation systémique à bas bruit **c.** Dans le foie, les acides gras et le glycérol stimulent la néoglucogénèse, et en association avec la dysfonction mitochondriale, génèrent des métabolites lipotoxiques qui inhibent la signalisation par l'insuline. Ils favorisent aussi la stéatose hépatique **d.** L'insulino-résistance hépatique augmente la néoglucogénèse et diminue la glycogénogénèse, ce qui fait augmenter la glycémie. **e.** Dans le muscle, acides gras et dysfonction mitochondriale associés favorisent la synthèse des lipides et inhibent la synthèse du glycogène. **f.** Ces différents mécanismes, en association avec la stimulation directe par les nutriments et les signaux neuro-endocrines (comme le GLP1) augmentent le ratio de sécrétion insuline / glucagon, ce qui aboutit à un hyperinsulinisme, qui permet de rester en normoglycémie. **g.** Si le terrain (acquis ou inné) favorise la diminution de sécrétion d'insuline, le patient va présenter une hyperglycémie post-prandiale et à jeun.

Roden M, Shulman GI. The integrative biology of type 2 diabetes. Nature. déc 2019;576(7785):51-60.

3. Autres voies évoquées

- *Dysfonction mitochondriale* : un terrain génétique favorisant les anomalies de fonction mitochondriales semble associé au développement du diabète de type 2. Les connaissances actuelles tendent à montrer qu'une mitochondrie incomplètement efficace va augmenter le

stress oxydant global et l'inflammation, ce qui peut avoir un effet à la fois sur la fonction bêta et altérer la sensibilité à l'insuline. L'hyperglycémie et les taux élevés d'acides gras libres vont ensuite à leur tour majorer la dysfonction des mitochondries, et un cercle vicieux se met en place (23,24). La dysfonction mitochondriale joue par ailleurs très certainement un rôle dans les complications de long terme du diabète de type 2.

- Comme pour de nombreuses autres pathologies, les *perturbations du microbiote* ont été évoquées comme facteur favorisant le développement du DT2 (25). Les études sur le sujet sont pour le moment encore trop peu nombreuses pour connaître le véritable rôle joué par le microbiote.

Au total, le diabète de type 2 est donc une pathologie qui peut se développer chez des sujets présentant un terrain génétique favorisant, exposés à la sédentarité et à une alimentation riche en glucides et en graisse. Ces facteurs vont favoriser l'apparition d'une inflammation chronique à bas bruit, d'un stress oxydant et d'un stress du réticulum endoplasmique, qui peuvent induire à la fois une dysfonction de la cellule bêta et donc de la sécrétion d'insuline, et une résistance à l'action de l'insuline au niveau des tissus périphériques cibles (muscle squelettique, tissu adipeux, foie). En conséquence, on observe une élévation des glycémies et de l'insulinémie, et des complications à long terme peuvent apparaître, favorisées par l'hyperglycémie elle-même mais également par le stress oxydant, l'inflammation, et la dysfonction mitochondriale. Mais il convient de ne pas oublier que le diabète est avant tout une maladie du vieillissement, son incidence est maximale dans la cinquième et la sixième décennie, et un diabète accompagne toutes les pathologies du vieillissement accéléré, comme par exemple la progeria (26).

IV Connaissances sur la physiopathologie du diabète de type 1

Le DT1 a longtemps été considéré comme une maladie de l'enfant et de l'adolescent (« diabète juvénile », par opposition au « diabète de la maturité ») ; c'est méconnaître le fait que la moitié des cas apparaissent après la puberté, et qu'il peut être diagnostiqué à tout âge, y compris chez le sujet âgé. Au diagnostic, les symptômes sont habituellement plus bruyants que chez les patients présentant un DT2 : l'acidocétose est un mode d'entrée fréquent dans la maladie chez l'enfant (27), et les symptômes de l'hyperglycémie (polyurie et polydipsie) et de la carence en

insuline (perte de poids contrastant avec un appétit conservé, cétose) sont habituellement francs chez l'adulte.

Le DT1 a une composante génétique bien mieux caractérisée que celle du diabète de type 2 ; la plupart des gènes qui participent au terrain génétique du DT1 sont directement (à travers le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH)) ou indirectement (via le gène de l'insuline) liés au fonctionnement du système immunitaire. Le DT1 est la conséquence d'une activation du système immunitaire qui est directement impliquée dans la disparition sélective des cellules bêta : c'est une maladie auto-immune spécifique d'organe (28).

La **figure 4** présente une image globale de l'histoire naturelle du DT1 telle qu'on se la représente aujourd'hui.

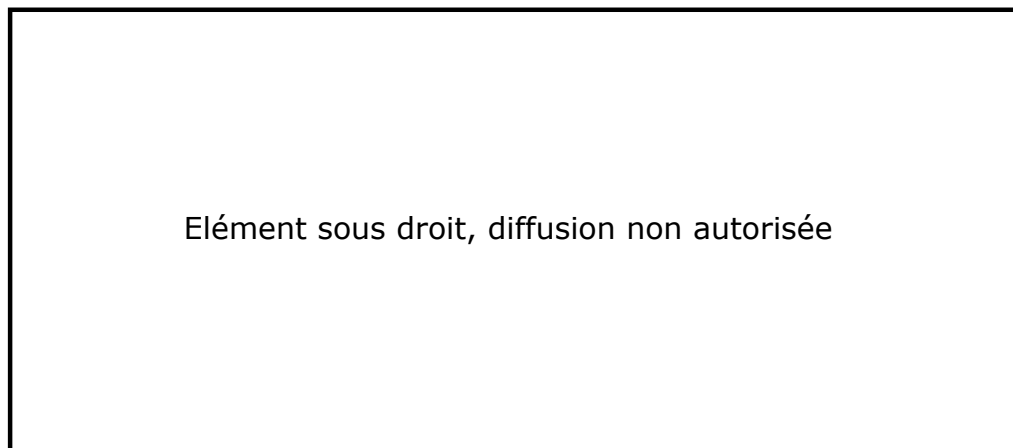


Figure 4. Progression du diabète de type 1. Étape 1 : début du DT1, présence d'au moins 2 autoanticorps associé au diabète et glycémie normale. Étape 2 : hyperglycémie sans symptôme. Étape 3 : diagnostic clinique.

Greenbaum CJ, Speake C, Krischer J, Buckner J, Gottlieb PA, Schatz DA, et al. Strength in Numbers: Opportunities for Enhancing the Development of Effective Treatments for Type 1 Diabetes-The TrialNet Experience. Diabetes. juill 2018;67(7):1216-25

La physiopathologie globale communément admise du DT1 est décrite ci-après.

1. Terrain génétique

Le DT1 est une pathologie favorisée par un terrain génétique : le risque pour un jumeau monozygote de développer un DT1 si son jumeau est atteint est de 30 à 70%. Il est de 6 à 7% quand un membre de la fratrie est atteint, et de 1 à 9% pour les enfants ayant un parent présentant un DT1 (29–31) : le risque dans les familles est ainsi 15 fois plus élevé que celui des sujets de

la population générale. Les facteurs génétiques les mieux connus sont liés au système HLA : 50% de l'héritabilité génétique se situe dans le CMH. Les mécanismes par lesquels ces facteurs génétiques influent le risque de développer un DT1 sont mal connus, mais impliquent le système immunitaire, l'expression du gène de l'insuline au niveau du thymus, la régulation des lymphocytes T, et la réponse aux virus. D'autres facteurs génétiques comme PTPN22, CTLA4 ou IL2RA sont également impliqués. Il est cependant intéressant de noter que la part génétique dans le développement du DT1 semble diminuer depuis quelques années (32).

2. Facteurs environnementaux

L'augmentation d'incidence observée au cours du XXème siècle, particulièrement marquée dans les pays scandinaves et depuis la fin de ce siècle chez leurs voisins baltes et polonais en particulier, et l'observation de prévalences très différentes de DT1 entre des populations génétiquement et géographiquement très proches mais socialement différentes, soulignent l'importance de facteurs environnementaux dans le développement du DT1, bien qu'aucun ne soit clairement identifié à ce jour (33,34).

Les différents facteurs extérieurs évoqués sont les suivants :

- Les *infections* surtout virales, mais possiblement aussi bactériennes. Les entérovirus notamment ont un tropisme pour les îlots pancréatiques. Les études récentes suggèrent que selon la période de la vie où l'infection à entérovirus survient, et en fonction du statut sérologique de la mère vis-à-vis des entérovirus pendant la grossesse ou l'allaitement, mais aussi selon le statut global de la population vis-à-vis de ces virus, l'infection peut favoriser le développement du DT1 (35). La théorie hygiéniste suggère que la diminution de prévalence de ces infections dans les populations et la perte de l'immunité collective sont associées à un risque majoré de diabète chez les individus infectés.
- Le *microbiote intestinal*, ici aussi, pourrait avoir un rôle à jouer (36).
- Le rôle de l'*alimentation* a été beaucoup discuté. L'allaitement maternel prolongé serait associé épidémiologiquement à un risque moindre. De façon globale, introduire les aliments solides (fruits, légumes, céréales, protéines) entre l'âge de 4 et 6 mois semble être la période la moins à risque de développer les anticorps liés au DT1 (37,38).
- Le *stress du réticulum*, décrit plus haut dans le cadre du DT2, peut probablement également favoriser le développement du DT1. Ainsi, sur un terrain déjà fragilisé, une alimentation riche

en glucides et en graisses, une sédentarité, un surpoids vont tous augmenter la demande de production en insuline des cellules bêta et favoriser leur destruction (39).

3. Auto-anticorps

L'une des caractéristiques importantes du DT1, utilisée aujourd'hui en pratique clinique courante, est la présence d'auto-anticorps (AC) dirigée contre les cellules bêta : les AC anti insuline, les AC anti décarboxylase de l'acide glutamique (GAD), les AC anti autoantigène associé à l'insulinome (IA2) et les AC anti transporteur du zinc (ZnT8) sont les plus communément caractérisés. Ces AC peuvent apparaître des années avant la maladie chez les sujets à risque génétiquement (40–42), et sont utilisés comme marqueurs de risque dans des populations qui ont un terrain génétique favorisant (suivi des enfants en Finlande, ou cohorte Innodia (projet européen suivant les familles de patients présentant un DT1(43)).

4. Une maladie de la cellule bêta

La conjonction d'un terrain génétique favorisant et de facteurs environnementaux peut donc aboutir au développement d'une auto-immunité et à des lésions de la cellule bêta. Les études anatomo-pathologiques montrent qu'au moment du diagnostic de DT1, environ 70% des îlots de Langerhans ne présentent plus de cellules bêta telles qu'on peut les caractériser par le marquage par une immunohistochimie basée sur un anticorps anti-insuline (28,44). En revanche, le marquage des autres hormones (glucagon, somatostatine, polypeptide pancréatique) reste normal. Parmi les îlots qui contiennent encore de l'insuline, environ 20% présentent des signes d'inflammation (insulite), alors que l'insulite est rare (environ 1%) dans les îlots ne contenant plus d'insuline (45,46). Ces anomalies sont souvent regroupées par lobules, avec des zones paraissant pathologiques et d'autres plus préservées. Selon les études, la perte de production d'insuline doit concerner 60 à 90% des îlots pour causer le diabète. Après le diagnostic, la perte de production de l'insuline se poursuit, avec souvent une extension de la perte totale des cellules bêta 5 à 10 ans après la découverte du diabète. Cependant, il a été observé qu'une proportion non négligeable des patients présentant un DT1 conservent une sécrétion d'insuline a minima, même de nombreuses années après la découverte du diabète (44). Les patients dont la sécrétion persiste, même en faibles quantités, ont moins de risque de complications microangiopathiques et une plus grande stabilité des glycémies (47).

Les marqueurs de l'inflammation retrouvés le plus souvent au niveau des zones d'insulite sont les lymphocytes T CD8+, les macrophages, et les lymphocytes T CD4+.

Enfin, on observe qu'en dehors de la cellule bêta elle-même, la micro vascularisation et l'innervation des îlots présentent souvent des anomalies : la production insulaire de VEGF semble influencée par le niveau glycémique et par les facteurs d'inflammation, ce qui a des conséquences sur la vascularisation insulaire. Les anomalies vasculaires insulaires observées dans les modèles de DT1 sont développées ci-dessous. (48–50).

Chapitre 2 : Diabète et pancréas exocrine

Ainsi, les principaux types de diabète que sont le DT1 et le DT2 semblent être des maladies atteignant spécifiquement la cellule bêta. Cependant, si certains poissons ont des tissus pancréatiques exocrine et endocrine bien distincts (51), chez l'immense majorité des vertébrés les îlots de Langerhans sont intégrés dans la masse du pancréas exocrine. Cette proximité « géographique » soulève la question du lien et des interactions entre les deux types de tissus. La question d'anomalies pancréatiques exocrines liées au diabète n'est pas nouvelle, puisqu'une observation de lésions pancréatiques chez un patient présentant un diabète avait été réalisée dès le XVIII^{ème} siècle (52). A partir de 1850, différents auteurs ont confirmé que chez une partie des patients présentant un diabète, des anomalies pancréatiques macroscopiques étaient notables (53). Un peu plus tard, les progrès de la recherche en histologie ont permis de montrer que, chez des patients présentant un diabète, pouvaient être observées des anomalies pancréatiques aussi diverses qu'une fibrose inter ou intralobulaire, une infiltration graisseuse, ou des anomalies des artérioles intrapancréatiques (54,55). Avec les connaissances croissantes sur le rôle des îlots de Langerhans, l'intérêt pour le rôle du tissu exocrine a décliné pendant de nombreuses années, mais on note une recrudescence des recherches sur le sujet à partir des années 1960.

Dans ce chapitre, nous allons donc résumer les connaissances sur les diabètes compliquant les pathologies du pancréas exocrine, et ce qu'on sait des anomalies du pancréas exocrine dans le DT1 et le DT2.

I Les diabètes des maladies pancréatiques exocrines

Parmi les causes de diabète, la part des diabètes secondaires à une maladie du pancréas (diabète pancréatogénique, DP) n'est pas négligeable : elle représenterait 1 à 2% des cas (voire jusqu'à 9% dans les séries hospitalières), et serait dans plus de la moitié des cas considérée initialement comme un DT2 (56–58). Des critères diagnostiques du DP ont été proposés pour simplifier la classification des diabètes :

- Des critères majeurs (tous nécessaires) : présence d'une insuffisance pancréatique exocrine (IPE) objectivée par mesure de l'élastase fécale ou par un test de fonction exocrine direct ; anomalies à l'imagerie pancréatique (échographie endoscopique, imagerie par résonance magnétique (IRM) ou scanner) ; et absence des autoanticorps du DT1.
- Des critères mineurs : anomalies de fonction bêta ; pas d'insulino-résistance majeure, anomalies de sécrétion des incrétines ; taux bas de vitamines liposolubles (A, D, E et K).

Les pathologies pancréatiques les plus fréquemment mises en cause sont la pancréatite chronique (environ 75 à 80% des cas), la pancréatite aiguë, les chirurgies pancréatiques de toutes causes, le cancer du pancréas, l'hémochromatose, la mucoviscidose et l'agénésie du pancréas (59).

1. Diabète associé à la pancréatite chronique

La pancréatite chronique (PC) se complique de diabète dans 25 à 80% des cas ; la prévalence du diabète augmente avec la durée d'évolution de la pancréatite (60,61). Les causes de PC sont dominées par la consommation d'alcool associée au tabac, un adjuvant majeur, mais on peut également citer la pancréatite fibrocalculeuse (parfois génétiquement déterminée), les pancréatites héréditaires (à transmission dominante ou récessive), les pancréatites liées aux obstructions canalaire (tumoraux, maladies des voies biliaires), ou l'hyperparathyroïdie.

Les causes de l'apparition du diabète dans ce contexte sont probablement multiples et détaillées ci-dessous (62).

1.1 Insulinopénie

L'inflammation globale du pancréas observée dans la PC, et la présence locale de cytokines peuvent avoir un effet délétère sur la fonction bêta dès le début de la pancréatite. Au cours de

l'histoire naturelle de la maladie, l'extension de la fibrose pancréatique atteint les îlots et les détruit, il s'agit d'une perte des toutes les populations endocrines, sans prédominance des cellules bêta (63–65).

1.2 Insulino-résistance

Les anomalies de sécrétion des autres hormones pancréatiques, glucagon et polypeptide pancréatique en particulier modifient la présentation du diabète par rapport à la présentation du DT1. Les anomalies de sécrétion du glucagon pourraient expliquer le fait que les hypoglycémies sont parfois plus prolongées et plus sévères chez les patients présentant un DP que dans les autres types de diabète, mais l'alcool « *per se* » est aussi une cause majeure d'hypoglycémie.

Le déficit en polypeptide pancréatique, quant à lui, semble induire une diminution d'expression du RI hépatique, et donc résulter en une insulino-résistance hépatique. L'administration expérimentale de polypeptide pancréatique chez ces patients a pu améliorer la sensibilité à l'insuline (66). L'environnement inflammatoire de la PC augmenterait également l'insulino-résistance hépatique (67), mais les lésions hépatiques dues à l'alcool sont une cause bien claire de résistance hépatique à l'action de l'insuline.

2. Diabète associé aux cancers du pancréas

Quarante pourcents des patients présentant un cancer du pancréas ont eu un diagnostic de diabète dans les 3 ans précédant le diagnostic de leur cancer. Après le diagnostic du cancer, jusqu'à deux-tiers des patients peuvent présenter un diabète (68). On pourrait imaginer que l'environnement inflammatoire inhérent aux cancers explique cette fréquence importante du diabète, mais la prévalence est bien plus importante chez les patients présentant un cancer du pancréas que chez ceux présentant un autre type de cancer (**figure 5**), et ce mécanisme ne peut donc pas expliquer à lui seul la prévalence élevée de diabète dans les cancers pancréatiques (69).

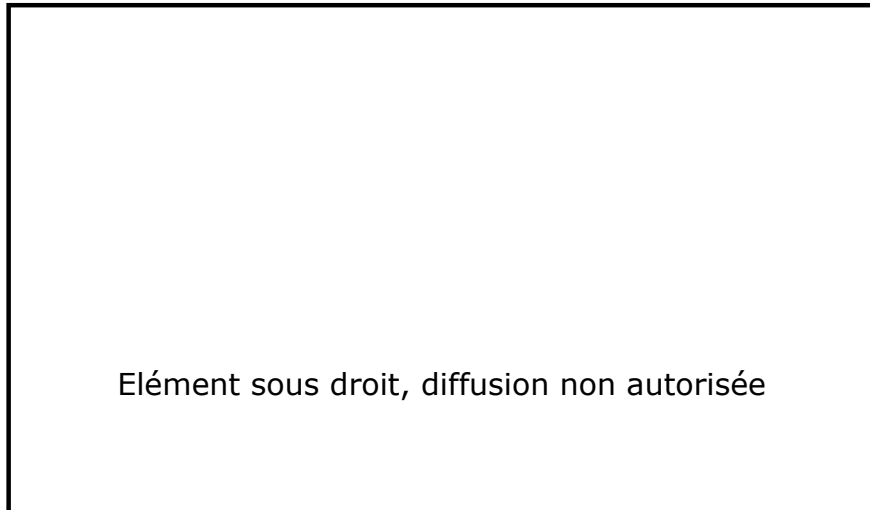


Figure 5. Prévalence du diabète chez des témoins et chez des patients présentant différents types de cancers.

Aggarwal G, Kamada P, Chari ST. Prevalence of diabetes mellitus in pancreatic cancer compared to common cancers. Pancreas. mars 2013;42(2):198-201.

Dans le cas des cancers pancréatiques, la cause ne semble pourtant pas non plus se trouver dans une carence pure en insuline. En effet, l'insulinémie est souvent plutôt augmentée, et on peut observer des diabètes même dans les cas de petites tumeurs pancréatiques complètement résecables n'altérant pas les îlots de Langerhans d'un point de vue anatomique (70).

Ainsi, l'une des théories les plus plausibles est celle d'un effet paranéoplasique des tumeurs pancréatiques. Elle est appuyée par le fait que les glycémies peuvent s'améliorer après le traitement chirurgical ou médicamenteux du cancer (71), et que le milieu de culture de cellules d'adénocarcinome pancréatique perturbe le métabolisme du glucose de tissus périphériques et la fonction bêta de lignées bêta-cellulaires (72,73). L'une des molécules le plus souvent mise en cause est l'adrénomédulline, qui a surtout pour effet d'inhiber la sécrétion d'insuline par les cellules bêta (74).

3. Diabète de la mucoviscidose

Le diabète de la mucoviscidose (DM) est une des complications de la mucoviscidose, qui apparaît en général dans l'adolescence ou chez le jeune adulte. Ainsi, sa prévalence d'environ 2% dans l'enfance est de plus de 50% chez les adultes présentant une mucoviscidose, et est plus élevée chez les patients présentant des mutations du gène cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) conférant des formes sévères de la maladie (75). Le DM peut se

compliquer d'un retentissement microangiopathique, comme les autres types de diabète. La mortalité a longtemps été plus élevée chez les patients présentant un DM que chez ceux qui n'avaient pas de diabète, mais le dépistage et la prise en charge plus précoce préconisés actuellement semblent avoir amélioré le pronostic.

La physiopathologie du DM est encore incomplètement comprise. Elle associe une diminution (mais pas une abolition) de l'insulinosécrétion, à une insulino-résistance plus ou moins marquée selon les périodes de majoration de syndrome inflammatoire liées aux épisodes infectieux (76). La fibrose hépatique fréquente au cours de la mucoviscidose est une cause bien établie de résistance à l'action de l'insuline. Des hypothèses pour expliquer la perte de l'insulinosécrétion ont été proposées : la fibrose et la dégénérescence adipeuse du pancréas exocrine inhérentes à la maladie peuvent atteindre une partie des îlots et les détruire, ou léser les vaisseaux qui les irriguent et ainsi dégrader les échanges à ce niveau ; par ailleurs, l'inflammation locale pancréatique (77), et possiblement les mutations CFTR elles-mêmes pourraient également avoir un effet sur la fonction bêta (78). Un terrain génétique commun à celui de prédisposition au DT2 pourrait également être en jeu.

Le rôle des incrétilines a également été évoqué, avec une possible sécrétion diminuée chez les patients avec DM par rapport aux patients présentant une mucoviscidose sans diabète. Ceci pourrait expliquer les glycémies post-prandiales souvent élevées (79).

II Les anomalies du pancréas exocrine chez les patients présentant un diabète

S'il est bien établi que les maladies pancréatiques s'associent souvent au diabète, il apparaît aussi que le DT1 et le DT2 s'associent à de nombreuses anomalies de structure et de fonction du pancréas exocrine. Ceci peut avoir des conséquences cliniques, comme nous l'avons montré dans une étude présentée en annexe (**Annexe 1**). Nous avons comparé des patients présentant un DP, un DT1 ou un DT2, ces deux derniers étant associés ou non à une IPE (caractérisée par une élastase fécale basse et / ou une activité de la chymotrypsine mesurée dans les selles basse). 9 % des patients présentant un DT1 ou un DT2 avaient une IPE considérée comme très sévère, définie par une élastase fécale inférieure à 50µg/g.

L'indice de masse corporelle (IMC) des patients présentant un DP était inférieur à celui de tous les autres patients, mais celui des patients présentant un DT1 ou un DT2 associé à une IPE était également plus bas que celui des patients avec fonction pancréatique normale. Les taux de vitamine A, de vitamine E et de phosphore étaient également diminués chez les patients avec IPE associée au diabète par rapport à ceux avec fonction pancréatique normale, dans une moindre mesure que chez les patients présentant un DP. Chez les patients avec IPE, la fréquence de la carence sévère en vitamine D était également intermédiaire entre celle des patients présentant un DP et celle des patients présentant un diabète sans IPE.

Par ailleurs, une étude récente a montré que des anomalies du pancréas exocrine pouvaient être présentes de façon très précoce dans l'histoire naturelle du diabète, voire le précéder : il est possible de « prédire » de façon assez fiable la présence d'anticorps du DT1 ou la présence d'un DT1 chez des sujets à risque en utilisant les dosages d'amylase et de trypsinogène, des enzymes pancréatiques produites par le pancréas exocrine (80).

Les anomalies du pancréas exocrine dans les différents types de diabète semblent donc avoir une importance. Dans cette partie, nous discuterons donc des anomalies du pancréas exocrine associées au DT1 et au DT2.

1. Diabète de type 1

Cette partie est constituée d'une revue réalisée durant cette thèse sur les anomalies du pancréas exocrine dans le DT1, intitulée *Structure and function of the exocrine pancreas in patients with type 1 diabetes*. Elle a été publiée dans *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* en mai 2019. Auteurs : Laure Alexandre-Heymann, Roberto Mallone, Christian Boitard, Raphaël Scharfmann, Etienne Larger (81).



Structure and function of the exocrine pancreas in patients with type 1 diabetes

Laure Alexandre-Heymann^{1,2} · Roberto Mallone^{1,2} · Christian Boitard^{1,2} · Raphaël Scharfmann^{1,2} · Etienne Larger^{1,2}

Published online: 11 May 2019

© Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2019

Abstract

In the last 10 years, several studies have shown that the pancreas of patients with type 1 diabetes (T1D), and even of subjects at risk for T1D, was smaller than the pancreas from healthy subjects. This arose the question of the relationships between the endocrine and exocrine parts of the pancreas in T1D pathogenesis. Our review underlines that histological anomalies of the exocrine pancreas are common in patients with T1D: intralobular and interacinar fibrosis, acinar atrophy, fatty infiltration, leucocytic infiltration, and pancreatic arteriosclerosis are all frequent observations. Moreover, 25% to 75% of adult patients with T1D present with pancreatic exocrine dysfunction. Our review summarizes the putative causal factors for these structural and functional anomalies, including: 1/ alterations of insulin, glucagon, somatostatin and pancreatic polypeptide secretion, 2/ global pancreatic inflammation 3/ autoimmunity targeting the exocrine pancreas, 4/ vascular and neural abnormalities, and 5/ the putative involvement of pancreatic stellate cells. These observations have also given rise to new theories on T1D: the primary event of T1D pathogenesis could be non-specific, *e.g.* bacterial or viral or chemical, resulting in global pancreatic inflammation, which in turn could cause beta-cell predominant destruction by the immune system. Finally, this review emphasizes that it is advisable to evaluate pancreatic exocrine function in patients with T1D presenting with gastro-intestinal complaints, as a clinical trial has shown that pancreatic enzymes replacement therapy can reduce the frequency of hypoglycemia and thus might improve quality of life in subjects with T1D and exocrine failure.

Keywords Pancreatic exocrine dysfunction · Type 1 diabetes · Fecal elastase · Exocrine pancreas

1 Introduction

Very early in the history of diabetes research, pathologists noticed anomalies not only in the islets of Langerhans but also in the exocrine part of the pancreas in patients with diabetes. More than a hundred years ago, Hoppe-Seyler [1] and Cecil [2] observed lesions of the whole pancreas including interacinar pancreatitis, characterized by focal sclerosis and inflammation markers, fatty infiltration, and arteriosclerosis. Some of the lesions of the exocrine pancreas were more often seen in elderly patients or in patients with diabetes of long duration, but others were found in young patients with probable type 1 diabetes (T1D).

In the following years, these observations were left aside as scientists focused on the structural and functional alterations of the islets of Langerhans, following the seminal work of Opie [3] who established a link between diabetes and the degradation of the islets, and later on islet inflammation [4].

However, several studies published in the last 30 years have renewed the interest in the relationship between the exocrine pancreas and T1D: the pancreas of patients with T1D is smaller than the pancreas of control subjects, denoting atrophy of the whole organ [5, 6], in parallel with an exocrine dysfunction that is more frequent in patients with T1D than in control subjects [7, 8]. It remains unclear whether these anomalies of the exocrine pancreas are due to events affecting both the exocrine pancreas and the insulin-secreting beta cells, or if they are secondary to the loss of beta cells. More recently, authors have suggested that the exocrine damage may precede or even be a causal factor in T1D pathogenesis [9, 10], and have shown that alterations of the whole gland can be observed already at onset of T1D and even before onset [11, 12].

This review aims at summarizing the current knowledge about anatomical and histological anomalies of the exocrine

✉ Etienne Larger
etienne.larger@cch.aphp.fr

¹ Service de Diabétologie, Hôpital Cochin, 123 boulevard de Port-Royal, 75014 Paris, France

² Département Hospitalo Universitaire, INSERM U 1016, Université Paris Descartes, Paris, France

pancreas, the prevalence of exocrine dysfunction, and their possible causes in patients with T1D.

2 Anatomical and histological features of the exocrine pancreas in patients with type 1 diabetes

2.1 Pancreas size

2.1.1 The volume of the pancreas is smaller in patients with type 1 diabetes

The pancreas is a glandular organ with both exocrine and endocrine functions. The exocrine part of the pancreas represents 90 to 99% of its volume. It is constituted of acini, *i.e.* cell clusters that secrete pancreatic exocrine enzymes, and of ducts, which drain these enzymes into the duodenum [13].

Pancreatic volume hence reflects quasi solely the exocrine pancreas volume, and can be evaluated directly by weighing or measuring the pancreas either at autopsy [11, 14, 15], or with the help of different imaging techniques, namely ultrasonography [5, 16, 17], computed tomography (CT) [18–23] and magnetic resonance imaging (MRI), [24–26] in adults as well as in children [6, 27, 28].

In adults, the pancreas of patients with T1D is smaller than the pancreas of control subjects: in all studies, patients with T1D have smaller pancreata than patients with type 2 diabetes (T2D) or control subjects [5, 16–19, 25]. Similar results are obtained when the pancreas volume is adjusted to the body surface or to the body mass index (BMI), one of the main determinants of pancreas weight [29–32].

Depending on the studies and imaging techniques used, the pancreas volume of patients with T1D is estimated to be 19% to 50% smaller than the pancreas of controls (Table 1). We [20] showed that the size of the pancreas of a majority of patients with T1D and T2D stands below the 10th percentile of the distribution of normal individuals as defined by Geraghty et al [34]. Interestingly, some subtypes of T1D are associated with different pancreas volumes: patients with fulminant diabetes have pancreata that are not smaller than controls, at least at onset [23], and the pancreas of patients with latent autoimmune diabetes of the adults (LADA) is of intermediate size between that of patients with T1D and that of controls [22]. Patients with monogenic types of diabetes also present some anomalies in pancreas size and histology [35].

In children, only ultrasonography and MRI have been used to measure pancreas size. The pancreas volume of children with T1D is estimated to be 27 to 61% smaller than the pancreas of controls (Table 2).

2.1.2 Factors associated with pancreas size in subjects with T1D

Age and gender are not related to pancreas size in patients with T1D or T2D in most studies [16–18, 20, 23, 25], except for the study by Lu et al [22] in which males had significantly larger pancreata than females.

Several studies showed an inverse correlation between pancreas size and T1D or T2D duration [6, 14, 20, 21]. Indeed, one study showed that small pancreata are only found in patients with a duration of T1D of more than 10 years [17]. In addition, Virostko et al [21] followed 4 patients with T1D who underwent multiple CT scans over the years. All of them displayed a decline in pancreas volume at a rate of 6% per year, whereas pancreas volume was stable in 5 control subjects over a one-year interval, though this might be quite a short time interval to detect small differences in size.

On the other hand, other studies did not confirm the inverse correlation between pancreas size and T1D or T2D duration [5, 16, 17, 19, 23, 28, 33]. Indeed, pancreas volume can be decreased in patients at onset of T1D [23, 25, 26]. However, even in children, the preclinical phase of the disease is more chronic than was thought, and subtle insulin secretory defects can be detected even 2 years before the clinical onset [36].

In control subjects, there is a correlation between body weight or BMI and pancreas size, and this correlation seems to be lost in patients with T1D, although this remains debated. Some studies showed a positive correlation between BMI or waist circumference and pancreas size in patients with T1D [22, 24, 37], whereas others did not [5, 16]. All of these studies however agree on the fact that the correlation between BMI and pancreas size is less marked in patients than in controls.

2.2 Histology

The exocrine pancreas of patients with T1D and T2D, besides being smaller than in controls, is prone to histological anomalies [38, 39], including fibrosis, fatty degeneration, infiltration by inflammatory cells and atherosclerosis.

2.2.1 Fibrosis

Fibrosis is one of the frequent abnormalities observed in the exocrine pancreas of patients with diabetes. As opposed to what would be expected in classical chronic pancreatitis, *i.e.* alcoholic chronic pancreatitis, fibrosis is usually not found in interlobular regions. It is rather described as intra-lobular and inter-acinar, and can sometimes be diffuse [2, 15, 33, 40]. Fibrosis seems to be more frequently observed in patients with diabetes of long duration.

Fibrosis is often accompanied by acinar atrophy, whereas ductal tissue is usually preserved [15, 40, 41] (Fig. 1 and Fig. 2).

Table 1 Pancreas size and some of its correlates in adults with type 1 diabetes

	Number of patients with T1D ^a	Number of controls	Method of evaluation	Pancreas measurement	Reduction of volume as compared to controls	Pancreas size / diabetes duration correlation ($p < 0,05$)	Pancreas size / BMI ^b correlation ($p < 0,05$)	Pancreas size / C-peptide level correlation ($p < 0,05$)
Mac Lean and Ogilvie 1959 [14]	5: recent-onset diabetes	11	Weighing at autopsy	Weight: 51.6 g	40%	Yes	/	/
	14: chronic diabetes			38.3 g	19%			
Gepts 1965 [33]	7: acute-onset diabetes	None	Weighing at autopsy	Weight: 59.9 g	NA	No	/	/
	16: chronic diabetes			60.7 g				
Fonseca 1985 [5]	22	19	Ultrasounds	Surface: 8.9 cm ²	52%	No	/	/
Löhr and Klöppel 1987 [15]	26	45	Weighing at autopsy	Volume: 43 mL	50%	No	/	/
Gilbeau 1992 [18]	20	57	CT scan	Thickness: Head: 12 mm	25%	Yes	/	/
				Body: 11 mm	31%			
				Tail: 12.5 mm	22%			
Silva 1993 [17]	40	60	Ultrasounds	Diameter: Head: 19 mm	21%	Yes	Yes	/
				Body: 9 mm	18%			
				Tail: 14 mm	22%			
Alzaid 1993 [16]	14	19	Ultrasounds	Surface: 10.2cm ²	32%	No	No	/
Goda 2001 [19]	26	22	CT scan	Volume: 45.2 mL	37%	No		
				PVI ^c : 29.8 ml/-m ²	32%			
Bilgin 2009 [24]	5 (Results calculated on patients with T1D ^a AND T2D ^d)	21	MRI	Thickness: low FEC ^c : 15.5 mm	Significantly smaller than controls but no detailed results	/	/	/
				Normal FEC ^c : 18.9 mm				
Gaglia 2011 [25]	10	12	MRI	PVI ^c : 24 mL/m ²	31%	No	/	/
Philippe 2011 [20]	24	None	CT scan	Volume: 33 mL	NA	Yes	No	Yes
Williams 2012 [26]	19	24	MRI	Volume: 91.9 mL	24%	No	/	No

Table 1 (continued)

	Number of patients with T1D ^a	Number of controls	Method of evaluation	Pancreas measurement	Reduction of volume as compared to controls	Pancreas size / diabetes duration correlation ($p < 0,05$)	Pancreas size / BMI ^b correlation ($p < 0,0-5$)	Pancreas size / C-peptide level correlation ($p < 0,05$)
				PVI ^f : 1.19 mL/- kg	26%			
Campbell-Thompson 2012 [11]	20: T1D ^a	23	Weighing at autopsy	Weight: 44.9 g	45%	/	No	Yes
	8: Positive for autoantibody without diabetes			61.3 g	25%			
Virostko 2016 [21]	25	25	MRI or CT scan	Volume: 41.14 mL	47%	Yes	/	/
				PVI ^f : 0.69 mL/- kg	43%			
Lu 2016 [22]	58: T1D ^a	87	CT scan	Volume: 46 mL	34%	Yes	Yes	No
				PVI ^c : 27,4 mL/- m ²	33%			
	68: LADA ^g			Volume: 54,9 mL	21%	No	Yes	Yes
				PVI ^c : 32 mL/m ²	22%			
Sasamori 2018 [23]	16: acute-onset	39	CT scan	PVI ^f : 0,57 mL/- kg	48%	No	/	No
	18: slowly progressive			0,65 mL/kg	40%	No	/	No
	10: fulminant T1D ^a			0,86 mL/kg	21% (NS)	No	/	No

^a T1D Type 1 diabetes, ^b BMI Body mass index, ^c PVI Pancreatic volume index, as defined by pancreatic volume divided by body surface area, ^d T2D Type 2 diabetes, ^e FEC Fecal elastase-1 concentration, ^f PVI Pancreatic volume index, as defined by pancreatic volume divided by body mass, ^g LADA Latent autoimmune Diabetes in Adults

Table 2 Pancreas size and some of its correlates in children and adolescents with type 1 diabetes

	Age range	Number of patients with T1D ^a	Number of controls	Method of evaluation	Pancreas measurement	Reduction of volume as compared to controls	Pancreas size / diabetes duration correlation ($p < 0,05$)	Pancreas size / BMI ^b correlation ($p < 0,05$)	Pancreas size / C-peptide level correlation ($p < 0,05$)
MacLean and Ogilvie 1959 [14]	Under 14-years--old	3: recent-onset diabetes 5: chronic diabetes	4	Weighing at autopsy	Weight: 7.2 g 25.8 g	61% 42%	/	/	/
Gepts 1965 [33]	Under 14-years--old	8 acute-onset diabetes	None	Weighing at autopsy	Weight: 20.1 g	NA			
Chiarelli 1995 [6]	Under 15-years--old	20: 3 to 7-years-old 20: 8 to 12-years-old 20: 13 to 15-years-old	60	Ultrasounds	Surface: Boys: 8.34cm ² Girls: 7.84 cm ² Boys: 9.38 cm ² Girls: 9.27 cm ² Boys: 10.89 cm ² Girls: 9.92 cm ²	18% 21% 35% 16% 31% 35%	Yes	/	Yes
D'Annunzio 1996 [27]	6 to 15-years-old	15	12	Ultrasounds	Surface: 7.96 cm ²	42%	No	/	/
Regnell 2016 [28]	8 to 17-years--old	22	32	MRI	Volume: 34.9 mL	27%	No	No	/

^a T1D Type 1 diabetes, ^b BMI body mass index

Fig. 1 Inter and intralobular fibrosis of the exocrine pancreas. a Pancreas slide from a 49-year-old female patient with T2D. Hematoxylin-eosin (nPOD caseID 6329). b Pancreas slide from a 89-year-old male patient with T1D. Hematoxylin-eosin (nPOD caseID 6085)

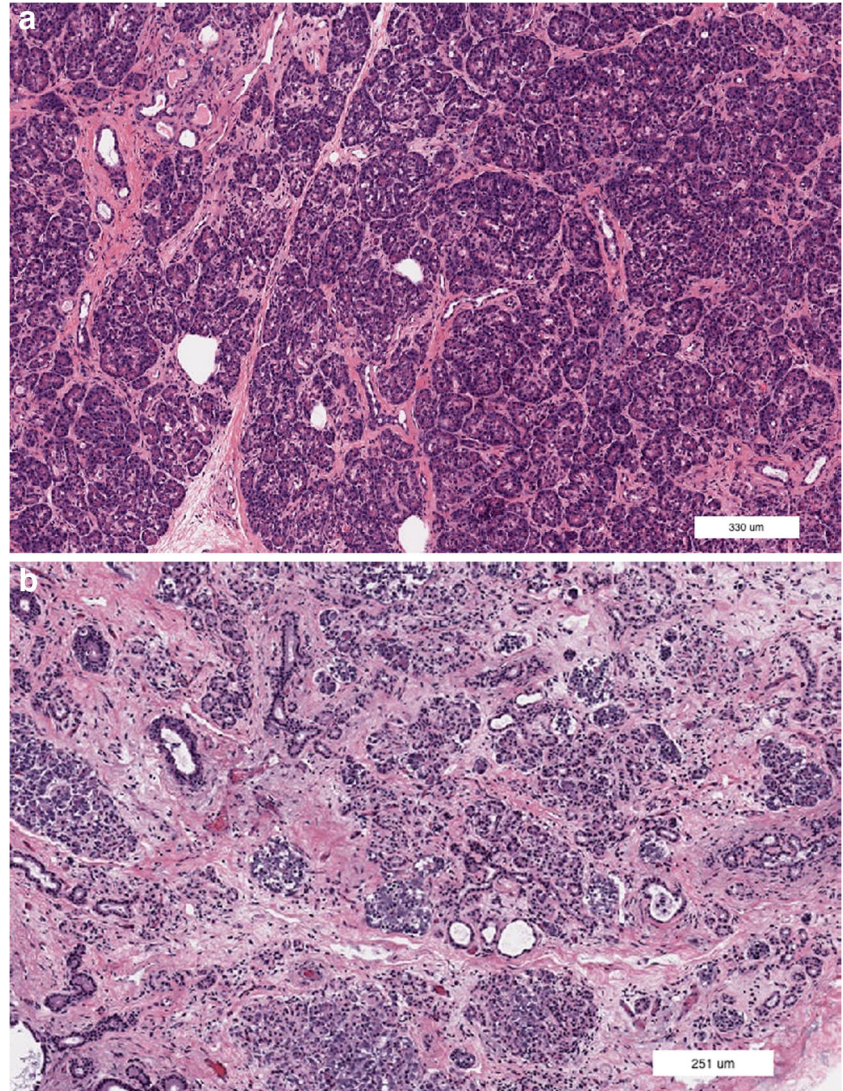
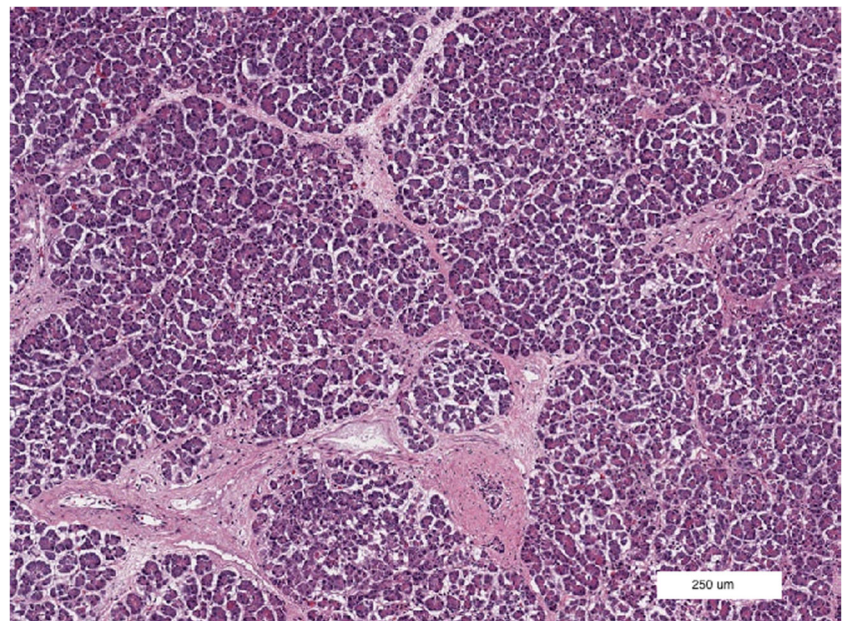


Fig. 2 Acinar atrophy of the exocrine pancreas. Pancreas slide from a 78-years-old male patient with T1D. Hematoxylin-eosin (nPOD caseID 6066)



2.2.2 Fatty infiltration

Fatty infiltration of the exocrine pancreas is reported in ~30% of patients with T1D or T2D [31, 37, 42]. Interestingly, fatty infiltration is a major finding in the pancreas of patients with cystic fibrosis, 50% of whom will develop diabetes during their life [43]. It is often more extensive in patients with cystic fibrosis than in patients with T1D or T2D (Fig. 3).

2.2.3 Lymphocytic infiltration

Diffuse lymphocytic infiltration of the exocrine pancreas can also be observed and could be more common in patients with recent-onset T1D or T2D [2, 12, 40]. (Fig. 4). This aspect of the pathology of the pancreas will be further discussed below.

2.2.4 Pancreatic atherosclerosis

Finally, pancreatic arteriosclerosis is a frequent observation at autopsy in subjects with diabetes [1, 2, 33]. According to Cecil, nearly 100% of patients over 40-year-old present with at least one pancreatic vascular anomaly. However, some of these anomalies are sometimes observed very soon after diabetes diagnosis [1, 2]. The most frequent lesions are the thickening of small arteriolar walls, followed by vessels hyalinosis and eventually by complete occlusion of the lumen.

2.2.5 Diabetic exocrine pancreatopathy

Mohapatra et al [44] reckon that all the above-mentioned histological characteristics are specific of the pancreas of patients with T1D or T2D and thus described a novel entity, called *diabetic exocrine pancreatopathy* (DEP), that can be defined by histological and clinical parameters. For patients with T1D,

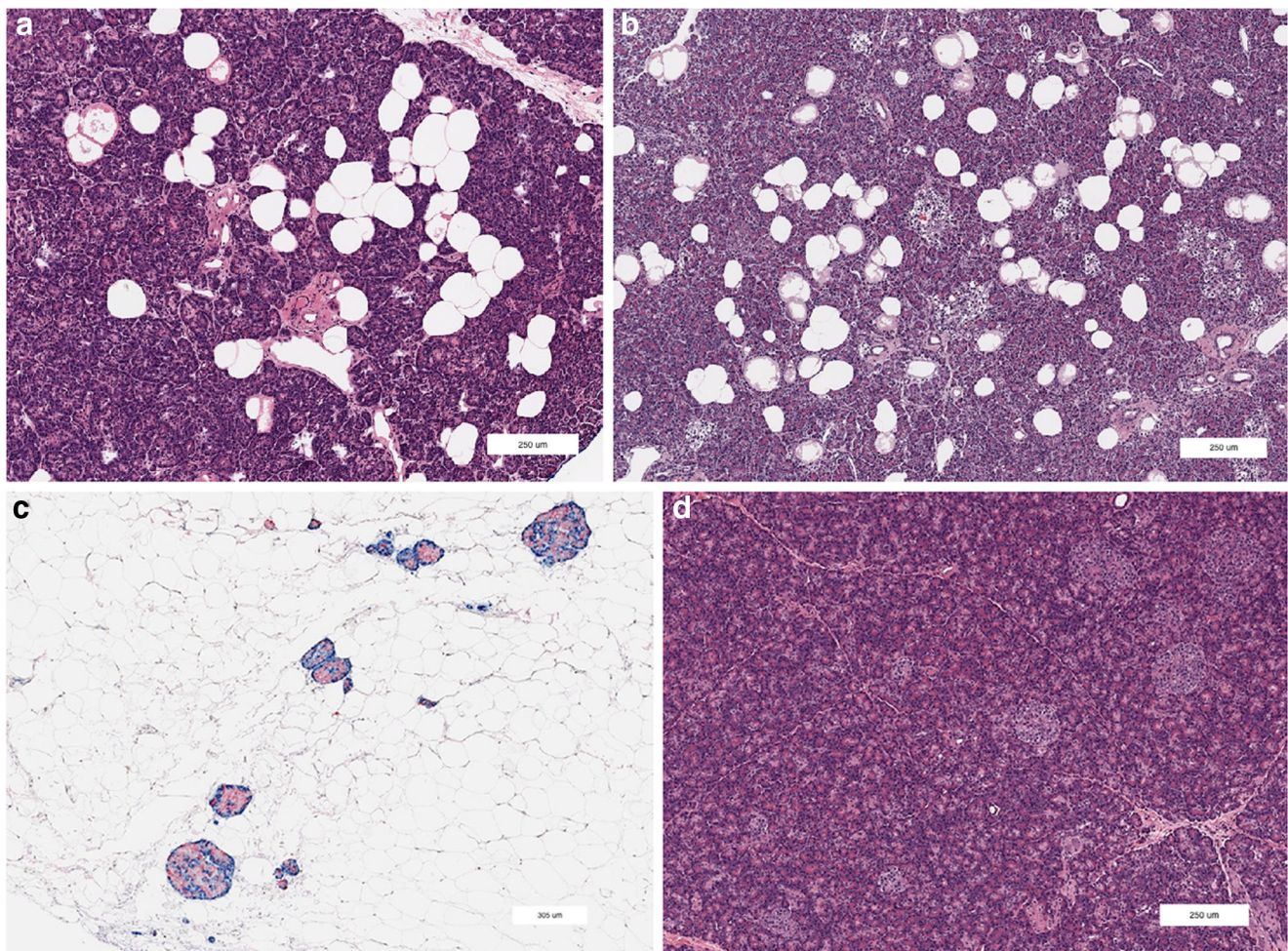
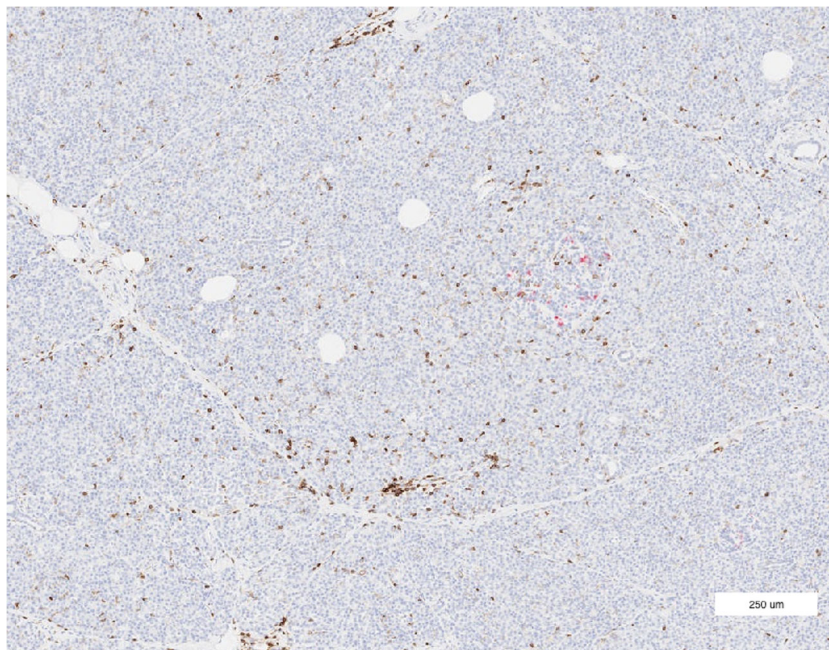


Fig. 3 Fatty infiltration of the exocrine pancreas. a Pancreas slide from a 49-year-old female patient with T2D. Hematoxylin-eosin (nPOD caseID 6329). b Pancreas slide from a 40-year-old male patient with T1D. Hematoxylin-eosin (nPOD caseID H911). c Pancreas slide from a 21-

year-old female patient with cystic fibrosis. Immuno-histo-chemistry: red: insulin, blue: glucagon (nPOD caseID 6452). d Pancreas slide from a 25-year-old male control subject. Hematoxylin-eosin (nPOD caseID 6454)

Fig. 4 Diffuse lymphocytic infiltration of the exocrine pancreas. Pancreas slide from a 17-year-old male patient with T1D. Immuno-histo-chemistry: brown: CD45 (nPOD caseID 6399)



the clinical criteria include a moderate pancreatic exocrine dysfunction as defined by a reduced fecal elastase-1 concentration (FEC), a normal or only slightly decreased coefficient of fat absorption, and a stable disease over time. The histological criteria of DEP are a decrease in pancreatic weight or volume, increased inter-acinar fibrosis and acinar atrophy with minimal inflammation, and the absence of pancreatic ductal changes. In a recent study, pathologists were able to distinguish DEP from chronic pancreatitis in 8 out of 10 samples by using this definition [45].

Collectively, the association between T1D and anomalies of the exocrine pancreas appears well established: the average size of the pancreas is lower in patients with T1D than in controls and it might be even more so in patients with a long duration of diabetes. Moreover, histological lesions of the exocrine pancreas are more frequently found in the pancreas of patients with T1D than in controls.

3 Pancreatic exocrine dysfunction in patients with type 1 diabetes

3.1 Evaluation of the pancreatic exocrine function

Lower gastrointestinal symptoms, mostly diarrhea, are more prevalent in patients with T1D and T2D than in controls [46]. Together with the anatomical and histological lesions of the pancreas described above, such gastrointestinal symptoms may be related to anomalies in pancreatic exocrine function, even though these symptoms can also be observed in other diabetes-associated diseases such as gastroparesis, celiac disease or bacterial overgrowth.

Therefore, the pancreatic exocrine function has been investigated in patients with diabetes, dating back as far as 1925 [47]. The direct function tests, *e.g.* the secretin test, which remains the gold standard, involve the use of direct duodenal intubation and are hence seldom used in large populations. Indirect function tests have thus been developed, with the measurement of FEC being the most currently used. FEC measurements have been compared to direct function tests. Using a cut-off of 200 $\mu\text{g/g}$ of stool, FEC reaches a sensitivity of 63–100% and a specificity of 88–93% [48, 49]. However, more recent studies have shown that FEC should be used with care in certain cases. For instance, the sensitivity of FEC is too low for mild and mild-to-moderate forms of pancreatic insufficiency [50, 51], while its specificity is reduced in patients with watery diarrhea [52]. Thus, some authors suggest using a lower threshold of 50 or even 15 $\mu\text{g/g}$ for the diagnosis of exocrine failure [53, 54].

3.2 Prevalence of pancreatic exocrine dysfunction in patients with type 1 diabetes

3.2.1 Prevalence of pancreatic exocrine dysfunction in adults with type 1 diabetes

Thirty-five to 77% of adult patients with T1D present with pancreatic exocrine dysfunction, as defined by a direct function test, *e.g.* a low volume of pancreatic exocrine secretion or abnormal concentrations of bicarbonate, amylase, lipase or trypsin in the pancreatic juice [47, 55–63] (Table 3).

Forty-eight to 72% of patients with T1D display a low concentration of blood trypsin or amylase [59, 64, 65]. One study added that the prevalence of pancreatic insufficiency, as

Table 3 Pancreatic exocrine dysfunction as defined by direct tests in patients with T1D

	Number of patients with T1D ^a	Number of controls	Pancreatic secretion anomalies	Exocrine dysfunction prevalence in patients with T1D ^a	Exocrine dysfunction prevalence in controls	Correlates of exocrine dysfunction
Jones 1925 [47]	13 patients under 30-years-old with diabetes	10	Abnormal enzymes activity after fat meal (cream) Abnormal duodenal bile pigments output after duodenal magnesium administration	69% 69%	0% 0%	/
Diamond 1940 [56]	4	24	Secretin test: Lipase output <135 U/kg/h Bicarbonate output <90 meq/L	25% 50%	21% 4%	/
Pollard 1943 [57]	10	None	Secretin test: Pancreatic juice volume <0,7 cc/kg Bicarbonate output <75 meq/L Trypsin output <1 U/kg Amylase output <325 U/kg	60% 50% 30% 70%	NA	Duration of diabetes
Frier 1976, 1978, 1980 [59, 60, 62]	20	13	Secretin + CCK/PZ ^b test: Bicarbonate output <20 mmol/h Amylase output <8 mol/h Trypsin output <160 µg/h	65% 35% 80%	0% 0% 15%	Duration of diabetes, daily insulin dose. In patients with diabetes for less than 5 years: absence of C-peptide residual secretion.
Lankisch, 1982, [58] Creutzfeldt 2005 [61]	53	None	Secretin + pancreozymin test: Bicarbonate output <6,5 mmol/30 min Trypsin output <30 U/ 30 min Amylase output <12,000 U/30 min At least one anomaly	15% 26% 36% 43%	NA	None

^a T1D Type 1 diabetes, ^b CCK-PZ cholecystokinin-pancreozymin test

Table 4 Pancreatic exocrine dysfunction as defined by a low fecal elastase concentration in patients with T1D

	Number of patients with T1D ^a	Number of controls	Fecal elastase concentration	Exocrine dysfunction prevalence in patients with T1D ^a	Exocrine dysfunction prevalence in controls	Reduction in mean or median fecal elastase concentration as compared to controls	Correlates of exocrine dysfunction
Hardt 2000 [7]	30	105	100-200 µg/g <100 µg/g	27% 30%	13% 5%	52% (mean)	None
Canaway 2000 [76]	51 (<17-years-old)	None	100-200 µg/g <100 µg/g	14% 0	NA	NA	None
Icks 2001 [8]	112	116	<200 µg/g <100 µg/g	46% 26%	14% 5%	58% (median)	Male gender, age at onset, diabetes duration, HbA1c ≥7%, watery stool
Hardt 2003 [71]	323	None	100-200 µg/g <100 µg/g	23% 29%	NA	33% (median, as compared to patients with T2D ^b)	Diabetes duration, low BMI ^c
Laass 2004 [77]	94 (2 to 25-years-old)	None	≤200 µg/g and faecal fat excretion ≤7 g/24 h ≤200 µg/g and faecal fat excretion >7 g/24 h	35% 10%	NA	NA	None
Cavalot 2006 [73]	66	None	100-200 µg/g <100 µg/g	15% 11%	NA	NA	Fecal fat excretion
Hahn 2008 [78]	33	None	<200 µg/g	27% (polyclonal antibodies) to 46% (monoclonal antibodies)	NA	NA	Nephropathy
Rodieux 2011 [79]	85 (children and adolescents)	None	<200 µg/g	5%	NA	NA	/
Larger 2012 [75]	195	None	<200 µg/g <100 µg/g	34% 19%	NA	NA	GAD or IA2 antibodies, diabetes duration
Vujasinovic 2013 [80]	50	None	100-200 µg/g <100 µg/g	4% 2%	NA	NA	Vitamin D deficiency
Shivaprasad 2015 [72]	105	95	<200 µg/g <100 µg/g	31% 18%	4% 1%	36% (mean)	HbA1c, fasting blood sugar, low BMI ^c , low hemoglobin
Bolado 2015 [74]	93: T1D 7: LADA	None	<200 µg/g <100 µg/g	43% 22%	NA	NA	HbA1c, presence of diabetes-related complications

^a T1D Type 1 diabetes, ^b T2D Type 2 diabetes, ^c BMI Body mass index

defined by a low serum trypsinogen concentration, is highest in patients with T1D (23%), followed by patients with T2D (5.6%) and by control subjects (0%) [66]. Another study showed that 23.5% of patients with T1D had a low value of fecal chymotrypsin [67]. Plasma trypsin concentration and the urine pancreatic amylase to salivary amylase ratio were found to be lower in patients with T1D than in controls [68, 69], while another study showed that post-prandial ^{13}C -exhalation, which reflects pancreatic lipase secretion, is lower in patients with T1D or T2D than in controls [70].

Finally, 27 to 56% of patients with T1D suffer from pancreatic insufficiency, as defined by a FEC <200 $\mu\text{g/g}$ of stool [7, 71–75] (Table 4). For comparison, 18 to 29% of patients with T2D and 4 to 13% of controls have a FEC <200 $\mu\text{g/g}$. FEC was found to be <100 $\mu\text{g/g}$ in 11 to 30% of patients with T1D. The odds ratio (OR) for T1D and a FEC < 100 $\mu\text{g/g}$ is estimated to be 6.9 as compared to controls [8]. In contrast, another study only found a 5.4% prevalence of low FEC in patients with T1D [80]. This could be explained by the very strict exclusion criteria used in this study: patients older than 75-years-old, patients consuming over 20 g of alcohol per day, patients with a history of abdominal surgery, of previous pancreatic disease, of autoimmune diseases or of cancer were all excluded.

3.2.2 Prevalence of pancreatic exocrine dysfunction in children

The studies are less concordant in children than in adults. Serum immunoreactive trypsinogen concentration seems to be lower in children with recent T1D than in controls [81], and the pancreozymin-secretin test, a direct function test, appears to result in a lower volume of duodenal fluid and output of bicarbonate in children with T1D than in controls [82]. But although one study found a prevalence of pancreatic insufficiency in children with T1D as high as 45% [77], other authors found a FEC < 200 $\mu\text{g/g}$ in only 4.7% to 14% of children with T1D [79], with only mild to moderate pancreatic exocrine dysfunction [76].

3.3 Correlates of pancreatic exocrine dysfunction in patients with type 1 diabetes

3.3.1 Patients characteristics

When considering the clinical phenotype of patients, even though one study [8] showed that exocrine pancreatic deficiency was more frequent in male patients of older age, most authors did not find any correlation between age or gender and exocrine dysfunction [64, 66, 73, 74].

The correlation between BMI and exocrine dysfunction remains debated, as some studies found that FEC decreases with BMI [71, 72, 83], while others did not [8, 66, 73, 75, 77].

Alcohol and tobacco use do not seem to be linked with exocrine dysfunction in patients with T1D [8, 74].

3.3.2 Duration of diabetes

Some studies found that direct function tests results are abnormal only in patients with T1D or T2D of long duration [57, 60]. Moreover, several authors showed a correlation between diabetes duration and exocrine dysfunction prevalence and/or severity [8, 71, 75, 83]. On the other hand, other studies did not confirm this correlation in adults [7, 58, 68, 74, 84, 85] or in children [76, 77, 82]. However, in a group of patients with T1D with a high prevalence of exocrine dysfunction at the start of the study and with a high rate of dropout, results of the secretin-pancreozymin test were stable over an 11-years period [61].

3.3.3 Type 1 diabetes-associated autoantibodies

Another standing issue is the relationship between the presence of diabetes-associated antibodies and pancreatic exocrine dysfunction. The presence of autoantibodies was not related to exocrine dysfunction in the study by Ewald et al [83]. Quite interestingly, however, the exocrine function was normal at the time of seroconversion in pre-diabetic children and had decreased at the clinical onset of T1D. Some of the children were followed up and a decreasing trend in FEC was seen closer to diabetes onset in all of them [86]. Likewise, another study showed that the serum trypsinogen concentration is lower in non-diabetic subjects with multiple diabetes-associated antibodies, who are at high risk of T1D, compared to subjects with only one or no diabetes-associated antibody, who are at low risk of T1D [66]. In contrast, in adults with long-term T1D, severe exocrine dysfunction was associated with the absence of autoantibodies [75].

3.3.4 Metabolic control

Among patients with T1D, $\text{HbA}_{1\text{C}}$ is higher in patients with pancreatic insufficiency than in those without [8, 47, 72–74, 83], although this result was not confirmed by all studies [58, 64].

Results are also contradictory regarding the correlation between exocrine dysfunction and microvascular complications such as retinopathy and neuropathy [58, 74].

Concerning diabetes treatment, neither we nor Cavalot et al found any relationship between daily insulin dose and exocrine dysfunction [68, 73, 75], while another study showed an inverse correlation between daily insulin dose and plasma trypsin [68, 73, 75].

3.3.5 Endogenous insulin secretion

Finally, in some studies, serum C-peptide concentration, a marker of residual beta-cell function, does not correlate with pancreatic dysfunction [59, 74]. In other studies, serum C-peptide concentration is inversely correlated to FEC or with the output of bicarbonate during the secretin test [62, 73, 83]. One study even showed that all patients with severe exocrine

dysfunction, *i.e.* with a FEC <100 µg/g, have a very low serum C-peptide concentration, *i.e.* ≤0.5 ng/mL [73]. Furthermore, patients with a higher fasting C-peptide seem to have a bigger pancreas [6, 20], even if this correlation was not observed in other studies [23, 26].

Collectively, the link between pancreatic exocrine function and T1D remains quite unclear. The prevalence of pancreatic exocrine dysfunction as defined by direct or indirect function tests is indeed higher in patients with T1D than in controls. However, no specific factor emerges that correlates with this exocrine dysfunction, with the possible exception of diabetes duration. Nonetheless, these alterations of pancreatic exocrine function can precede the onset of T1D, suggesting that the exocrine and endocrine dysfunction may share a similar pathogenesis, as discussed below.

4 Etiological factors

4.1 Effects of pancreatic hormones on the pancreatic exocrine tissue and function

The relationship between residual insulin secretion and pancreatic exocrine function reflects one of the possible etiological factors of exocrine atrophy and dysfunction in patients with T1D. Indeed, it has been suggested that pancreatic hormones play an important part in the survival and function of acinar cells. This is supported by the fact that the efferent islet blood flow is thought to nourish the acinar regions before leaving the pancreas [87, 88], at least in rodents, while the organization of the pancreas microvasculature might be different in the human [89]. The dramatic changes in hormonal secretion that take place during T1D natural history may therefore impact the structure and function of the exocrine pancreas.

Insulin secretion falls down during the pre-clinical stage of T1D, but the secretion of other hormones is also altered early in the course of T1D, including increased release of glucagon [90, 91], and somatostatin [92].

4.1.1 Effects of insulin on pancreatic exocrine tissue

The interplay between insulin and the exocrine pancreas has been repeatedly studied. We showed that the pancreas volume correlates with residual C-peptide secretion [20].

Histologically, the acinar cells surrounding the islets of Langerhans have bigger nuclei than the ones located farther away, resulting in a histological appearance known as the “halo effect” [93]. Indeed, the number of mitoses in acinar cells is increased around the pancreatic islets in toads [94]. In ducks, who have islets with and islets without beta cells, the halo effect is only found around insulin-containing islets [95]. In rats, the halo effect disappears after administration of the beta-cell toxin alloxan [96].

In patients with T1D, although Löhr and Kloppel observed that acinar atrophy is homogeneous all over the pancreas [15], other authors showed that the acinar tissue is well preserved around the few insulin-containing islets, whereas acinar cells are smaller and contain fewer zymogen granules in the vicinity of insulin-deficient islets [41]. Similar observations were reported in a rat model of diabetes [97].

The presence of insulin receptors on acinar cells [98, 99] further hints at a possible trophic effect of insulin on the exocrine tissue. When insulin receptors are activated on acinar cells, cell growth and amylase synthesis are stimulated [98, 100].

4.1.2 Effects of insulin on pancreatic exocrine function

Insulin has been shown to regulate amylase synthesis at the transcription level [101]. Intravenous injection of a blocking anti-insulin serum dampens the postprandial exocrine pancreatic secretion [102]. Likewise, the loss of beta cells in rodent models directly alters exocrine function tests, and these anomalies are reversed by insulin administration [100, 103–105]. In rats, the amylase concentration in pancreatic tissue is also decreased by alloxan treatment and conversely increased by insulin administration [106]. Moreover, the hyperglycemia induced by prolonged glucose infusion alters the exocrine secretion, a defect that is reversed when the insulin secretagogue glibenclamide is administered [104].

It should however be emphasized that these effects are more likely induced by blood glucose variations and vagal reactions than by the insulin itself. Indeed, the duodenal output of trypsin during a direct function test is reduced during a hyperglycemic hyperinsulinemic clamp but not with a euglycemic hyperinsulinemic clamp [107]. Moreover, pretreatment with atropine or vagotomy abolishes the effects of insulin on exocrine pancreas secretion [108, 109].

4.1.3 Effects of glucagon on the exocrine pancreas

Glucagon is also of importance for the pancreatic exocrine tissue. It is well established that glucagon secretion is increased in patients with T1D and T2D [90, 91, 110].

Chronic glucagon administration modulates exocrine histology and gives rise to acinar atrophy and degranulation [111, 112] and possibly to ductal tissue glycogen infiltration [113].

The effect of glucagon on exocrine function is more difficult to understand. In one study, intravenous glucagon administration to dogs first increased and then decreased pancreatic exocrine secretion [114], while other authors only observed a decreased secretion after glucagon administration that might have been mediated by hyperglycemia [115], or a decreased response to the secretin test [116].

It has been suggested that, in the fasting state, glucagon inhibits exocrine secretion, whereas in the fed state, glucagon

secretion, stimulated by amino acids, stimulates exocrine secretion and bicarbonate output [94, 117].

4.1.4 Effects of somatostatin on the exocrine pancreas

Somatostatin inhibits exocrine secretion in a dose-dependent fashion by direct effects and via neural mechanisms [118]: it decreases pancreatic trypsin, amylase and bicarbonate output in response to different stimuli [119–121]. Although seldom investigated, somatostatin secretion seems to be increased in patients with T1D and T2D [92].

4.1.5 Effects of pancreatic polypeptide on the exocrine pancreas

Pancreatic polypeptide (PP) is thought to be slightly increased in patients with T1D and T2D [122]. It stimulates DNA synthesis and cell growth in the exocrine pancreas [123]. In T1D, it has been shown that the lobe rich in PP-cells is spared from atrophy [124].

Collectively, insulin, which exerts trophic and pro-secretory effects on the exocrine pancreas, plummets during the T1D natural history; glucagon secretion increases and may therefore cause acinar atrophy and degranulation; while the effects of somatostatin and PP are less clear. The changes in pancreatic hormone secretion that occur in T1D are thus likely to contribute to the structural and functional anomalies described in the exocrine pancreas.

4.2 Autoantibodies targeting antigens of the exocrine pancreas

T1D is often associated with other autoimmune diseases targeting different organs, including the digestive system, *e.g.* autoimmune gastritis and celiac disease. It is thus relevant to question whether the exocrine pancreas could be an additional target of the autoimmune process. Interestingly, autoimmunity against the exocrine pancreas is susceptible to develop in congenic NOD mice carrying specific genes which protect them against diabetes [125].

Moreover, it has been shown that ICA69, one of the minor T1D-associated antigens [126], is equally expressed in the exocrine pancreas and in the islets [127].

Autoantibodies (aAbs) targeting duct cells (specific for the carbonic anhydrase II) or acini (specific for lactoferrin) [128] are found in 66% and 53% of patients with autoimmune pancreatitis, respectively [129]. Interestingly, they are also found in 20–65% and 7–67% of adult patients with T1D, respectively [130–132], while they are seldom found in children. These aAbs are instead very rarely detected in patients with T2D or in control subjects.

Other aAbs targeting the pancreatic exocrine tissue have been described in patients with T1D: 39% of patients with

T1D display aAbs targeting the pancreatic cytokeratin, and the prevalence of these aAbs decreases with diabetes duration [133]; 73% of patients with T1D display aAbs targeting a pancreatic enzyme called bile salt-dependent lipase (BSDL), while only 17% of patients with T2D and 8% of controls are positive for this aAbs [134]. In the two latter studies, the aAbs were more often found in first-degree relatives than in controls.

Lastly, an aAbs targeting amylase 2A originally discovered in patients with autoimmune pancreatitis was also found in 88% of patients with fulminant diabetes and in 21% of patients with T1D [129].

aAbs targeting the exocrine pancreas are thus more often found in patients with T1D than in patients with T2D or in control subjects. However, even though a few cases of concomitant diagnosis of T1D and autoimmune pancreatitis have been reported [135, 136] the direct involvement of these aAbs in the pancreatic exocrine dysfunction and histological lesions in patients with T1D has not been directly demonstrated. This is also the case for the classical T1D-associated aAbs targeting insulin, glutamic acid decarboxylase (GAD), insulinoma-associated antigen (IA)-2 and zinc transporter (ZnT)8. Nonetheless, their detection could hint to an autoimmune component contributing to the dysfunction of the exocrine pancreas, which may represent a primary pathogenic mechanism or a secondary insult on a different substrate.

4.3 Inflammation of the exocrine pancreas

4.3.1 Immune infiltration of the exocrine pancreas

Immune infiltration of the exocrine pancreas has been described both in animal models of T1D, including the NOD mouse [137], and in humans. Based on pancreata from the network for Pancreatic Organ Donors with T1D (nPOD) project, it has been shown that the pancreas of pre-diabetic subjects, *i.e.* normoglycemic subjects with T1D-associated aAbs, harbor more CD45+ cells in their exocrine tissue than that of the control subjects [128]. This infiltrate is made of both CD4+ and CD8+ T cells [12, 138], suggesting the engagement of adaptive immune responses targeting some unknown tissue antigens. A similar infiltration of the exocrine pancreas was observed in patients with T1D [12, 33, 138]. However, in the nPOD project, CD8+ T cells were also found in the pancreas of patients with T2D [12].

Similar observations were made when we focused our analysis on CD8+ T cells targeting beta-cell antigens, as obtained by *in situ* staining with the recombinant peptide-human leukocyte antigen (HLA) complexes recognized by such T cells [139, 140]. These cells were found not only in the islet proximity but also within the exocrine tissue. The other message arising from these and other studies is that the pancreas of non-diabetic donors does also show some infiltrate localized

in the islet or exocrine portions. Some studies suggest that these T cells, mostly CD8+, may represent a tissue-resident subset [141] endowed with local defense functions [142]. Neutrophils were also detected in the exocrine tissue of patients with T1D, as opposed to patients with T2D or controls, specifically around small blood vessels, acini and ducts, independently from diabetes duration [9, 143].

4.3.2 Other markers of pancreatic exocrine tissue inflammation

Other signs of pancreatic exocrine tissue inflammation have been described in patients with T1D: serum lipase elevation [144], complement activation [145] and expression of chemokines such as CXCL10 by the acinar cells of patients with T1D [146] have all been reported. Proteomic analyses of the exocrine pancreatic tissue show differences between patients with T1D and controls for pathways involved in innate immune responses, complement activation, inflammatory responses, and cell death and survival [147, 148].

Collectively, immune cells such as T cells and neutrophils infiltrate the exocrine pancreas in patients with T1D and are likely to contribute to local inflammation and possibly histological lesions.

4.4 Other possible etiological factors

4.4.1 Pancreatic vascularization

The blood supply of the pancreas primarily derives from highly anastomosed branches of the celiac trunk, which finally branch into a dense capillaries network. The islets of Langerhans represent only 2% of the pancreatic volume but drain approximately 10% of the blood flow [149], but the ducts are also highly vascularized [150].

As mentioned above, pancreatic vessels anomalies are often seen in patients with diabetes [1, 2, 33, 151, 152]. Diabetes could be at least worsened by impaired vascular perfusion [153]. Similarly, pancreatic exocrine dysfunction could be a consequence of pancreatic vascularization defects [154]. Pancreatic vessel lesions involving small arteries and arterioles are found 3 to 5 times more often in patients with T1D and T2D than in controls [155, 156]. Conversely, the prevalence of diabetes is particularly high in patients with severe mesenteric atherosclerosis (73% versus 5 to 22% in groups with moderate, mild or no atherosclerosis) [157].

However, several studies did not find vascular lesions in the exocrine tissue of patients with T1D [158–160], even though diabetes duration might have been too short for vascular lesions to develop in some of these studies. Gepts [33] was the only one that quantified pancreatic vessel lesions in subjects with long-standing T1D. No sclerosis was found in patients with acute-onset diabetes, but pathology of the

exocrine tissue correlated with vessel sclerosis severity in patients with chronic diabetes.

More recently, the role of the pericytes has been evoked to explain the dysregulation of vasomotion in the pancreas of patients with diabetes [161, 162].

4.4.2 Neural abnormalities

Pancreatic exocrine secretion is regulated by vagal pancreas-projecting neurons and by peripheral pancreatic neurons which integrate olfactory, gustative, gastric, enteric and cerebral signals [163, 164]. While one study found that vagotomy had no effect on pancreatic exocrine secretion [165], other authors showed that atropine, an anticholinergic agent inhibiting parasympathetic signals, decreases protein secretion. Conversely, the parasympathomimetic betanechol stimulates protein secretion by the pancreas. This is in favor of a cholinergic regulation of pancreatic secretion, possibly through an entero-pancreatic reflex [166]. It has been shown recently that sensory nerve fibers could be important in the etiopathology of diabetes in NOD mice [167]. Neural anomalies could also be involved in the pancreatic exocrine lesions of patients with T1D since the density of parasympathetic axons was found to be reduced to a half in patients with recent-onset T1D compared with controls [168].

4.4.3 Pancreatic stellate cells

Pancreatic stellate cells (PSC), which display a morphology similar to hepatic stellate cells, are found in the peri-acinar space of the pancreas. These cells are activated by inflammation and are thought to play a major role in pancreatic fibrosis [169]. Hyperglycemia promotes PSC proliferation and secretion of smooth muscle alpha-actin and collagen 1 via protein kinase C and p38 mitogen-activated protein kinase activation [170–173], thus favoring fibrosis. However, the precise role of pancreatic stellate cells in the pathology of the exocrine pancreas in T1D remains to be elucidated.

Even though their respective roles need to be more carefully studied, vascular lesions, neural anomalies, and pancreatic stellate cells are all potentially important in the development of histological anomalies in the exocrine pancreas and in pancreatic exocrine dysfunction of patients with T1D.

4.5 Pancreas as a whole organ: Alternative theories on type 1 diabetes pathogenesis

For many years, it has been widely accepted that T1D is an islet-specific disease. However, the involvement of the exocrine pancreas in T1D pathogenesis may have been underestimated. It is perhaps revealing that several immunohistochemistry studies reported that HLA class I molecules, which mediate tissue recognition and destruction by cytotoxic

CD8+ T cell lymphocytes and are upregulated in inflammatory conditions, are hyperexpressed in the islets of patients with T1D [174]. Intriguingly, more recent studies showed no difference in HLA class I expression between the islets and the exocrine tissue of T1D patients [175]. Other lines of evidence also challenge the islet-centric view of T1D. Above all, the infiltration by T cells and other immune cells is as important in the exocrine pancreas as in the islets, and insulinitis is not a constant finding even in patients with recent-onset T1D [10, 176]. These findings challenge our current views on T1D pathogenesis and are leading to alternative hypotheses. One such hypothesis has been proposed by Korsgren et al, who suggested that bacteria present in the duodenum might enter the bile duct through the papilla of Vater and be degraded by the pancreatic juice, thus releasing toxins and bacterial components. In a rat model in which bacteria were injected in the bile duct, peri-ductal pancreatic inflammation was observed and ultimately, beta-cell degeneration, which was confined to the infected lobes [9].

Following this reasoning, it is possible that the appearance of T1D-associated autoantibodies may simply represent the consequence of this non-specific inflammation [177, 178]. Indeed, there are other instances in which an inflammatory process that predominantly involves the innate arm of the immune system may secondarily trigger an adaptive, antigen-targeted autoimmune response. For instance, cystic fibrosis is a disease in which pancreas inflammation is often associated with T1D-associated autoantibodies [179, 180]. Similar observations have been reported in chronic pancreatitis [181]. In our in-situ studies of ZnT8-reactive CD8+ T cells [139], the higher densities of these cells were similarly observed in a chronic pancreatitis case without diabetes, suggesting a secondary autoimmune response triggered by local inflammation. It is thus possible that the presence of autoantibodies, or the overall involvement of adaptive T cell responses, might represent a bystander effect of pancreatic inflammation.

5 Should patients with type 1 diabetes be treated for exocrine insufficiency?

Patients with T1D often present with histological and functional abnormalities of the exocrine pancreas. Are these abnormalities clinically significant and should they be routinely explored and treated?

5.1 Consequences of the exocrine dysfunction

Compared with controls, patients with T1D suffer more often from gastro-intestinal disorders. Six to 37% of patients with T1D or T2D complain from at least one gastro-intestinal symptom (e.g. diarrhea) [72, 78, 182]. It should however be

noted that gastroparesis and other intestinal consequences of autonomic failure are obvious confounding factors [183]. Steatorrhea, namely increased fecal fat excretion, is biologically proven in 29–67% of patients with T1D, but seems to be symptomatic in only half of the cases [78, 184].

Patients with T1D and T2D and abdominal symptoms often have a higher HbA_{1c}, a longer duration of diabetes, and more frequent microvascular and macrovascular complications [182].

Several studies showed a correlation, albeit sometimes quite weak, between gastro-intestinal symptoms, steatorrhea, and FEC [80, 85, 182, 184]. Indeed, nearly 40% of patients with diabetes and a FEC <100 µg/g have a fat excretion >10 g per day, indicating relevant steatorrhea and probable pancreatic exocrine deficiency [185].

However, symptoms could also sometimes be seen in patients with utterly normal FEC, and some authors did not confirm the association between symptoms and FEC [7, 8].

Other complications of exocrine dysfunction include: denutrition [186, 187], vitamin D deficiency [80, 188] and osteoporosis [189].

5.2 Pancreatic enzymes replacement therapy

The efficacy and safety of pancreatic enzyme replacement therapy (PERT) have been proven in chronic pancreatitis [182]. In a specific type of secondary diabetes, tropical calculous pancreatitis, PERT improves abdominal pain, quality of life, post-prandial glycemia and HbA_{1c} [190].

In a recent study, PERT improved the coefficients of fat absorption (36% versus 7.5% with placebo) and of nitrogen absorption (39% versus 18% with placebo) in patients with exocrine insufficiency and diabetes, and the incidence of hypo- and hyperglycemia were similar between the treatment and placebo groups [191].

Regarding the effects on metabolic control, the efficacy of PERT remains debated. One study showed that in non-diabetic patients with chronic pancreatitis, PERT enhances gastric inhibitory polypeptide (GIP), glucagon-like peptide (GLP) and insulin response to meals, but does not modify post-prandial glycemia [192] while another showed better GIP and insulin response to meal, better glucose tolerance, and better response to fat charge in patients with chronic pancreatitis [193]. Interestingly, a recent study showed that the quantity of pancreatic enzyme administered after total pancreatectomy in patients with pancreatic tumors correlates positively with glycemic control at 12 months [194]. However, in patients with T1D and low FEC, HbA_{1c}, fasting glycemia, post-prandial glycemia, and clinical symptoms were not modified after 16 weeks of treatment, except for a decrease in hypoglycemia frequency in the treated group [195].

These conflicting results explain why clear recommendations are difficult to establish. It seems however justified to

recommend an evaluation of the exocrine function in patients with T1D reporting any gastro-intestinal symptom, especially diarrhea. When possible, both steatorrhea and FEC should be measured [184, 196]. Additionally, it seems reasonable to measure serum nutritional markers including albumin, prealbumin, magnesium and fat-soluble vitamins [188, 197]. The latter should be supplemented if indicated [198]. If sufficient elements are in favor of pancreatic exocrine dysfunction and if the patient complains from gastro-intestinal disorders, PERT can be prescribed, as it may improve clinical symptoms and quality of life [199–201]. Treatment must however be initiated with caution, ideally in-hospital, since PERT initiation can result in major variations in insulin needs due to better digestion of starch [202]. Conversely, one may speculate that exocrine deficiency in patients with T1D increases the risk of maldigestion-induced hypoglycemia.

Biological pancreatic exocrine dysfunction in patients with T1D may thus associate with gastro-intestinal symptoms such as steatorrhea and with possible long-term complications such as liposoluble vitamins deficiency and osteoporosis and increase the risk of hypoglycemia through maldigestion of complex carbohydrates. FEC and denutrition markers should be measured in patients with T1D presenting with gastro-intestinal symptoms. PERT should be considered in these patients if FEC is low, as it may improve symptoms and decrease the risk of hypoglycemia.

6 Concluding remarks

Anomalies of the exocrine pancreas are a frequent finding in patients with T1D. Pancreas size is lower in patients than in controls, and histological lesions of the exocrine tissue such as vascular dystrophy, fibrosis, and acinar atrophy are common and are not always associated with diabetes duration. About one-third of the patients suffer from exocrine insufficiency.

Numerous causal factors have been suggested and include pancreatic hormonal fluctuations impact on exocrine tissue trophism, global inflammation of the exocrine pancreas, auto-immunity targeting both ducts and acini, vascular and neurological lesions, and direct effects of hyperglycemia.

Patients with T1D, at least when they present with gastro-intestinal complaints, could benefit from a more systematic detection of exocrine dysfunction: treating exocrine insufficiency seems to improve symptoms and quality of life and could prevent, at least partially, denutrition and complications such as osteoporosis. The effects of PERT on metabolic control are still debated. More generally, specific studies on the consequences of exocrine dysfunction and the risk-benefit ratio of PERT in patients with T1D are lacking; clear recommendations are therefore difficult to establish.

However, the growing knowledge on exocrine pancreas involvement in T1D seems to indicate that a more global

pancreatic disease is at stake at least in some forms of T1D pathogenesis than was thought until recently.

Acknowledgements Images in this manuscript were provided by Network for Pancreatic Organ Donors with Diabetes (nPOD) online pathology site. nPOD is a collaborative type 1 diabetes research project sponsored by JDRF and the Helmsley Charitable Trust. Organ Procurement Organizations partnering with nPOD to provide research resources are listed at <http://www.jdrfnpod.org//for-partners/npod-partners/>.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

References

1. Hoppe-Seyster. Deutsches archiv fuer klinische medizin [Internet]. 1904 [cited 2018 May 31]. Available from: <http://archive.org/details/deutschesarchiv68unkngoog>. Accessed 31 May 2018.
2. Cecil RL. A study of the pathological anatomy of the pancreas in ninety cases of diabetes mellitus. *J Exp Med.* 1909;11:266–90.
3. Opie EL. Pathological changes affecting the islands of Langerhans of the pancreas. *J Boston Soc Med Sci.* 1900;4:251–60.
4. Katsarou A, Gudbjörnsdóttir S, Rawshani A, Dabelea D, Bonifacio E, Anderson BJ, et al. Type 1 diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Primers.* 2017;3:17016.
5. Fonseca V, Berger LA, Beckett AG, Dandona P. Size of pancreas in diabetes mellitus: a study based on ultrasound. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1985;291:1240–1.
6. Chiarelli F, Verrotti A, Altobelli E, Blasetti A, Morgese G. Size of the pancreas in type I diabetic children and adolescents. *Diabetes Care.* 1995;18:1505–6.
7. Hardt PD, Krauss A, Bretz L, Porsch-Ozcürümeç M, Schnell-Kretschmer H, Mäser E, et al. Pancreatic exocrine function in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol.* 2000;37:105–10.
8. Icks A, Haastert B, Giani G, Rathmann W. Low fecal elastase-1 in type I diabetes mellitus. *Z Gastroenterol.* 2001;39:823–30.
9. Korsgren S, Molin Y, Salmela K, Lundgren T, Melhus A, Korsgren O. 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.* 2012;181:1735–48.
10. Skog O, Korsgren S, Melhus A, Korsgren O. Revisiting the notion of type 1 diabetes being a T-cell-mediated autoimmune disease. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2013;20:118–23.
11. Campbell-Thompson M, Wasserfall C, Montgomery EL, Atkinson MA, Kaddis JS. Pancreas organ weight in individuals with disease-associated autoantibodies at risk for type 1 diabetes. *JAMA.* 2012;308:2337–9.
12. Rodriguez-Calvo T, Ekwall O, Amirian N, Zapardiel-Gonzalo J, von Herrath MG. Increased immune cell infiltration of the exocrine pancreas: a possible contribution to the pathogenesis of type 1 diabetes. *Diabetes.* 2014;63:3880–90.
13. Longnecker DS. Anatomy and Histology of the Pancreas. *Pancreapedia: The Exocrine Pancreas Knowledge Base [Internet].* 2014 [cited 2018 Aug 21]; Available from: /reviews/anatomy-and-histology-of-pancreas.
14. Maclean N, Ogilvie RF. Observations on the pancreatic islet tissue of young diabetic subjects. *Diabetes.* 1959;8:83–91.

15. Löhr M, Klöppel G. Residual insulin positivity and pancreatic atrophy in relation to duration of chronic type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus and microangiopathy. *Diabetologia*. 1987;30:757–62.
16. Alzaid A, Aideyan O, Nawaz S. The size of the pancreas in diabetes mellitus. *Diabet Med*. 1993;10:759–63.
17. Silva ME, Vezozzo DP, Ursich MJ, Rocha DM, Cerri GG, Wajchenberg BL. Ultrasonographic abnormalities of the pancreas in IDDM and NIDDM patients. *Diabetes Care*. 1993;16:1296–7.
18. Gilbeau JP, Poncelet V, Libon E, Derue G, Heller FR. The density, contour, and thickness of the pancreas in diabetics: CT findings in 57 patients. *AJR Am J Roentgenol*. 1992;159:527–31.
19. Goda K, Sasaki E, Nagata K, Fukai M, Ohsawa N, Hahafusa T. Pancreatic volume in type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol*. 2001;38:145–9.
20. Philippe M-F, Benabadi S, Barbot-Trystram L, Vadrot D, Boitard C, Larger E. Pancreatic volume and endocrine and exocrine functions in patients with diabetes. *Pancreas*. 2011;40:359–63.
21. Virostko J, Hilmes M, Eitel K, Moore DJ, Powers AC. Use of the electronic medical record to assess pancreas size in type 1 diabetes. *PLoS One*. 2016;11:e0158825.
22. Lu J, Hou X, Pang C, Zhang L, Hu C, Zhao J, et al. Pancreatic volume is reduced in patients with latent autoimmune diabetes in adults. *Diabetes Metab Res Rev*. 2016;32:858–66.
23. Sasamori H, Fukui T, Hayashi T, Yamamoto T, Ohara M, Yamamoto S, et al. Analysis of pancreatic volume in acute-onset, slowly-progressive and fulminant type 1 diabetes in a Japanese population. *J Diabetes Investig*. 2018.
24. Bilgin M, Balci NC, Momtahan AJ, Bilgin Y, Klör H-U, Rau WS. MRI and MRCP findings of the pancreas in patients with diabetes mellitus: compared analysis with pancreatic exocrine function determined by fecal elastase 1. *J Clin Gastroenterol*. 2009;43:165–70.
25. Gaglia JL, Guimaraes AR, Harisinghani M, Turvey SE, Jackson R, Benoist C, et al. Noninvasive imaging of pancreatic islet inflammation in type 1A diabetes patients. *J Clin Invest*. 2011;121:442–5.
26. Williams AJK, Thrower SL, Sequeiros IM, Ward A, Bickerton AS, Triay JM, et al. Pancreatic volume is reduced in adult patients with recently diagnosed type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97:E2109–13.
27. d'Annunzio G, Chiara A, Lorini R. Pancreatic gland size reduction and exocrine impairment in type 1 diabetic children. *Diabetes Care*. 1996;19:777–8.
28. Regnell SE, Peterson P, Trinh L, Broberg P, Leander P, Lemmark Å, et al. Pancreas volume and fat fraction in children with type 1 diabetes. *Diabet Med*. 2016;33:1374–9.
29. Saisho Y, Butler AE, Meier JJ, Monchamp T, Allen-Auerbach M, Rizza RA, et al. Pancreas volumes in humans from birth to age one hundred taking into account sex, obesity, and presence of type-2 diabetes. *Clin Anat*. 2007;20:933–42.
30. Kou K, Saisho Y, Jinzaki M, Itoh H. Relationship between body mass index and pancreas volume in Japanese people. *JOP*. 2014;15:626–7.
31. Bonnet-Serrano F, Diedisheim M, Mallone R, Larger E. Decreased α -cell mass and early structural alterations of the exocrine pancreas in patients with type 1 diabetes: an analysis based on the nPOD repository. *PLoS One*. 2018;13:e0191528.
32. DeSouza SV, Singh RG, Yoon HD, Murphy R, Plank LD, Petrov MS. Pancreas volume in health and disease: a systematic review and meta-analysis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018;12:757–66.
33. Gepts W. Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. *Diabetes*. 1965;14:619–33.
34. Geraghty EM, Boone JM, McGahan JP, Jain K. Normal organ volume assessment from abdominal CT. *Abdom Imaging*. 2004;29:482–90.
35. Raeder H, Haldorsen IS, Ersland L, Grüner R, Taxt T, Søvik O, et al. Pancreatic lipomatosis is a structural marker in nondiabetic children with mutations in carboxyl-ester lipase. *Diabetes*. 2007;56:444–9.
36. Van Dalem A, Demeester S, Balti EV, Keymeulen B, Gillard P, Lapauw B, et al. Prediction of impending type 1 diabetes through automated dual-label measurement of proinsulin:C-peptide ratio. *PLoS One*. 2016;11:e0166702.
37. Saisho Y. Pancreas volume and fat deposition in diabetes and Normal physiology: consideration of the interplay between endocrine and exocrine pancreas. *Rev Diabet Stud*. 2016;13:132–47.
38. Hardt PD, Killinger A, Nalop J, Schnell-Kretschmer H, Zekom T, Klör HU. Chronic pancreatitis and diabetes mellitus. A retrospective analysis of 156 ERCP investigations in patients with insulin-dependent and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Pancreatol*. 2002;2:30–3.
39. Olsen TS. The incidence and clinical relevance of chronic inflammation in the pancreas in autopsy material. *Acta Pathol Microbiol Scand A*. 1978;86A:361–5.
40. Waguri M, Hanafusa T, Itoh N, Miyagawa J, Imagawa A, Kuwajima M, et al. Histopathologic study of the pancreas shows a characteristic lymphocytic infiltration in Japanese patients with IDDM. *Endocr J*. 1997;44:23–33.
41. Foulis AK, Stewart JA. The pancreas in recent-onset type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: insulin content of islets, insulinitis and associated changes in the exocrine acinar tissue. *Diabetologia*. 1984;26:456–61.
42. Diedisheim M, Mallone R, Boitard C, Larger E. β -Cell mass in nondiabetic autoantibody-positive subjects: an analysis based on the network for pancreatic organ donors database. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101:1390–7.
43. Kopito LE, Shwachman H. The pancreas in cystic fibrosis: chemical composition and comparative morphology. *Pediatr Res*. 1976;10:742–9.
44. Mohapatra S, Majumder S, Smyrk TC, Zhang L, Matveyenko A, Kudva YC, et al. Diabetes mellitus is associated with an exocrine Pancreatopathy: conclusions from a review of literature. *Pancreas*. 2016;45:1104–10.
45. Majumder S, Zhang L, Philip N, Sah R, Mohapatra S, Zamboni G, et al. 959 exocrine Pancreatopathy (EP) associated with diabetes mellitus (DM) is histologically distinct from chronic pancreatitis (CP): an international multi-reader blinded study. *Gastroenterology*. 2016;150:S191.
46. Bytzer P, Talley NJ, Leemon M, Young LJ, Jones MP, Horowitz M. Prevalence of gastrointestinal symptoms associated with diabetes mellitus: a population-based survey of 15,000 adults. *Arch Intern Med*. 2001;161:1989–96.
47. Jones CM, Castle WB, Mulholland HB, Bailey F. Pancreatic and hepatic activity in diabetes mellitus: the alterations with some observations on the etiology of the disease. *Arch Intern Med (Chic)*. 1925;35:315–36.
48. Löser C, Möllgaard A, Fölsch UR. Faecal elastase 1: a novel, highly sensitive, and specific tubeless pancreatic function test. *Gut*. 1996;39:580–6.
49. Vanga RR, Tansel A, Sidiq S, El-Serag HB, Othman MO. Diagnostic performance of measurement of fecal Elastase-1 in detection of exocrine pancreatic insufficiency: systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2018;16:1220–1228.e4.
50. Lankisch PG, Schmidt I, König H, Lehnick D, Knollmann R, Löhr M, et al. Faecal elastase 1: not helpful in diagnosing chronic pancreatitis associated with mild to moderate exocrine pancreatic insufficiency. *Gut*. 1998;42:551–4.

51. Domínguez-Muñoz JE, Hieronymus C, Sauerbruch T, Malfertheiner P. Fecal elastase test: evaluation of a new noninvasive pancreatic function test. *Am J Gastroenterol*. 1995;90:1834–7.
52. Leeds JS, Oppong K, Sanders DS. The role of fecal elastase-1 in detecting exocrine pancreatic disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2011;8:405–15.
53. Conwell DL, Lee LS, Yadav D, Longnecker DS, Miller FH, Mortelet KJ, et al. American pancreatic association practice guidelines in chronic pancreatitis: evidence-based report on diagnostic guidelines. *Pancreas*. 2014;43:1143–62.
54. Lindkvist B. Diagnosis and treatment of pancreatic exocrine insufficiency. *World J Gastroenterol*. 2013;19:7258–66.
55. Agren G, Lagerlög H, Berglund H. The Secretin Test of Pancreatic Function in the Diagnosis of Pancreatic Disease I - ÅGREN - 1936 - Acta Medica Scandinavica - Wiley Online Library [Internet]. 1936 [cited 2018 Jun 8]. Available from: <https://onlinelibrary-wiley-com.gate2.inist.fr/doi/abs/10.1111/j.0954-6820.1936.tb14607.x>. Accessed 8 June 2018.
56. Diamond JS, Siegel SA, Kantor JL. The secretin test in the diagnosis of pancreatic diseases with a report of one hundred thirty tests. *Am J Dig Dis*. 1940;7:435–42.
57. Pollard HM, Miller L, Brewer WA. The external secretion of the pancreas and diabetes mellitus. *Am J Dig Dis*. 1943;10:20–3.
58. Lankisch PG, Manthey G, Otto J, Koop H, Talaulicar M, Willms B, et al. Exocrine pancreatic function in insulin-dependent diabetes mellitus. *Digestion*. 1982;25:211–6.
59. Frier BM, Adrian TE, Saunders JH, Bloom SR. Serum trypsin concentration and pancreatic trypsin secretion in insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin Chim Acta*. 1980;105:297–300.
60. Frier BM, Saunders JH, Wormsley KG, Bouchier IA. Exocrine pancreatic function in juvenile-onset diabetes mellitus. *Gut*. 1976;17:685–91.
61. Creutzfeldt W, Gleichmann D, Otto J, Stöckmann F, Maisonneuve P, Lankisch PG. Follow-up of exocrine pancreatic function in type-1 diabetes mellitus. *Digestion*. 2005;72:71–5.
62. Frier BM, Faber OK, Binder C, Elliot HL. The effect of residual insulin secretion on exocrine pancreatic function in juvenile-onset diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1978;14:301–4.
63. Chey WY, Shay H, Shuman CR. External pancreatic secretion in diabetes mellitus. *Ann Intern Med*. 1963;59:812–21.
64. Dandona P, Freedman DB, Foo Y, Perkins J, Katrak A, Mikhailidis DP, et al. Exocrine pancreatic function in diabetes mellitus. *J Clin Pathol*. 1984;37:302–6.
65. Skrha J, Stěpán J, Pacovský V. Serum lipase, isoamylase and pancreatic function test (PFT) in juvenile-onset insulin-dependent diabetes mellitus. *Acta Diabetol Lat*. 1983;20:357–61.
66. Li X, Campbell-Thompson M, Wasserfall CH, McGrail K, Posgai A, Schultz AR, et al. Serum Trypsinogen Levels in Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*. 2017;40:577–82.
67. Mohan V, Snehalatha C, Ahmed MR, Madanagopalan N, Chari S, Jayanthi V, et al. Exocrine pancreatic function in tropical fibrocalculous pancreatic diabetes. *Diabetes Care*. 1989;12:145–7.
68. Adrian TE, Barnes AJ, Bloom SR. Hypotrypsinaemia in diabetes mellitus. *Clin Chim Acta*. 1979;97:213–6.
69. Kamarýt J, Stejskal J, Osicková L. Urinary isoamylases in juvenile diabetics. *J Clin Chem Clin Biochem*. 1978;16:539–41.
70. Keller J, Layer P, Brückel S, Jahr C, Rosien U. 13C-mixed triglyceride breath test for evaluation of pancreatic exocrine function in diabetes mellitus. *Pancreas*. 2014;43:842–8.
71. Hardt PD, Hauenschild A, Nalop J, Marzeion AM, Jaeger C, Teichmann J, et al. High prevalence of exocrine pancreatic insufficiency in diabetes mellitus. A multicenter study screening fecal elastase 1 concentrations in 1,021 diabetic patients. *Pancreatol*. 2003;3:395–402.
72. Shivaprasad C, Pulikkal AA, Kumar KMP. Pancreatic exocrine insufficiency in type 1 and type 2 diabetics of Indian origin. *Pancreatol*. 2015;15:616–9.
73. Cavalot F, Bonomo K, Perna P, Bacillo E, Salacone P, Gallo M, et al. Pancreatic elastase-1 in stools, a marker of exocrine pancreas function, correlates with both residual beta-cell secretion and metabolic control in type 1 diabetic subjects. *Diabetes Care*. 2004;27:2052–4.
74. Bolado F, Prieto-Martínez C, Ruiz-Clavijo D, Urman J, Casi MA, Vila JJ. 918 low levels of pancreatic Elastase-1 may not reflect exocrine pancreatic insufficiency in type 1 diabetes mellitus. *Gastroenterology*. 2015;148:S-174.
75. Larger E, Philippe MF, Barbot-Trystram L, Radu A, Rotariu M, Nobécourt E, et al. Pancreatic exocrine function in patients with diabetes: pancreatic function in patients with diabetes. *Diabet Med*. 2012;29:1047–54.
76. Canaway S, Phillips I, Betts P. Pancreatic exocrine insufficiency and type 1 diabetes mellitus. *Br J Nurs*. 2000;9:2030–2.
77. Laass MW, Henker J, Thamm K, Neumeister V, Kuhlisch E. Exocrine pancreatic insufficiency and its consequences on physical development and metabolism in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Eur J Pediatr*. 2004;163:681–2.
78. Hahn J-U, Kerner W, Maisonneuve P, Lowenfels AB, Lankisch PG. Low fecal elastase 1 levels do not indicate exocrine pancreatic insufficiency in type-1 diabetes mellitus. *Pancreas*. 2008;36:274–8.
79. Rodieux F, Dirlwanger M, Hanquinet S, Tempia-Caliera MG, Schwitzgebel V. P135 - L'insuffisance pancréatique exocrine est rare chez les enfants avec un diabète de type 1. /data/revues/12623636/v37i1sS1/S1262363611707613/ [Internet]. 2011 [cited 2018 Jun 11]; Available from: <http://www.em-consulte.com/en/article/291510>. Accessed 11 June 2018.
80. Vujasinovic M, Zaletel J, Tepes B, Popic B, Makuc J, Epek Lenart M, et al. Low prevalence of exocrine pancreatic insufficiency in patients with diabetes mellitus. *Pancreatol*. 2013;13:343–6.
81. Landin-Olsson M, Borgström A, Blom L, Sundkvist G, Lernmark A. Immunoreactive trypsin(ogen) in the sera of children with recent-onset insulin-dependent diabetes and matched controls. The Swedish childhood diabetes group. *Pancreas*. 1990;5:241–7.
82. Sato M, Yamamoto K, Mayama H, Yamashiro Y. Exocrine pancreatic function in diabetic children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1984;3:415–20.
83. Ewald N, Raspe A, Kaufmann C, Bretzel RG, Kloer HU, Hardt PD. Determinants of exocrine pancreatic function as measured by fecal Elastase-1 concentrations (FEC) in patients with diabetes mellitus. *Eur J Med Res*. 2009;14:118–22.
84. Domschke W, Tympner F, Domschke S, Demling L. Exocrine pancreatic function in juvenile diabetics. *Am J Dig Dis*. 1975;20:309–12.
85. Vacca JB. The exocrine pancreas in diabetes mellitus. *Ann Intern Med*. 1964;61:242.
86. Kondrashova A, Nurminen N, Lehtonen J, Hyöty M, Toppari J, Ilonen J, et al. Exocrine pancreas function decreases during the progression of the beta-cell damaging process in young prediabetic children. *Pediatr Diabetes*. 2017.
87. Fraser PA, Henderson JR. The arrangement of endocrine and exocrine pancreatic microcirculation observed in the living rabbit. *Exp Physiol*. 1980;65:151–8.
88. Henderson JR, Moss MC. A morphometric study of the endocrine and exocrine capillaries of the pancreas. *Q J Exp Physiol*. 1985;70:347–56.
89. Cohrs CM, Chen C, Jahn SR, Stertmann J, Chmelova H, Weitz J, et al. Vessel network architecture of adult human islets promotes distinct cell-cell interactions in situ and is altered after transplantation. *Endocrinology*. 2017;158:1373–85.

90. Unger RH, Aguilar-Parada E, Müller WA, Eisentraut AM. Studies of pancreatic alpha cell function in normal and diabetic subjects. *J Clin Invest.* 1970;49:837–48.
91. Walczak M, Mrozkiewicz D, Dmochowski K, Rewers M, Cichy W. Serum pancreatic polypeptide and glucagon immunoreactivity in fasting healthy and diabetic children. *Mater Med Pol.* 1989;21:38–42.
92. Ertan A, Arimura A, Akdamar K, Shibata T, Groot K, Luciano M, et al. Pancreatic immunoreactive somatostatin and diabetes mellitus. *Dig Dis Sci.* 1984;29:625–30.
93. Hellman B, Wallgren A, Petersson B. Cytological characteristics of the exocrine pancreatic cells with regard to their position in relation to the islets of Langerhans. A study in normal and obese-hyperglycaemic mice. *Acta Endocrinol.* 1962;39:465–73.
94. Henderson JR, Daniel PM, Fraser PA. The pancreas as a single organ: the influence of the endocrine upon the exocrine part of the gland. *Gut.* 1981;22:158–67.
95. Wallgren A, Hellman B. Influence of the islet a and B cells on the exocrine pancreatic tissue in the duck. *Acta Anat (Basel).* 1962;48:137–41.
96. Kramer MF, Tan HT. The peri-insular acini of the pancreas of the rat. *Z Zellforsch Mikrosk Anat.* 1968;86:163–70.
97. Hegyi P, Takács T, Jármay K, Nagy I, Czako L, Lonovics J. Spontaneous and cholecystokinin-octapeptide-promoted regeneration of the pancreas following L-arginine-induced pancreatitis in rat. *Int J Pancreatol.* 1997;22:193–200.
98. Mössner J, Logsdon CD, Williams JA, Goldfine ID. Insulin, via its own receptor, regulates growth and amylase synthesis in pancreatic acinar AR42J cells. *Diabetes.* 1985;34:891–7.
99. Williams JA, Goldfine ID. The insulin-pancreatic acinar axis. *Diabetes.* 1985;34:980–6.
100. Korc M, Owerbach D, Quinto C, Rutter WJ. Pancreatic islet-acinar cell interaction: amylase messenger RNA levels are determined by insulin. *Science.* 1981;213:351–3.
101. Söling HD, Unger KO. The role of insulin in the regulation of -amylase synthesis in the rat pancreas. *Eur J Clin Invest.* 1972;2:199–212.
102. Lee KY, Zhou L, Ren XS, Chang TM, Chey WY. An important role of endogenous insulin on exocrine pancreatic secretion in rats. *Am J Phys.* 1990;258:G268–74.
103. Otsuki M, Williams JA. Effect of diabetes mellitus on the regulation of enzyme secretion by isolated rat pancreatic acini. *J Clin Invest.* 1982;70:148–56.
104. Adler G, Kern HF. Regulation of exocrine pancreatic secretory process by insulin in vivo. *Horm Metab Res.* 1975;7:290–6.
105. Saito A, Williams JA, Kanno T. Potentiation of cholecystokinin-induced exocrine secretion by both exogenous and endogenous insulin in isolated and perfused rat pancreata. *J Clin Invest.* 1980;65:777–82.
106. Benabdeljlil A, Palla JC, Desnuelle P. Effect of insulin on pancreatic amylase and chymotrypsinogen. *Biochem Biophys Res Commun.* 1965;18:71–5.
107. Lam WF, Gielkens HA, Coenraad M, Souverijn JH, Lamers CB, Masclee AA. Effect of insulin and glucose on basal and cholecystokinin-stimulated exocrine pancreatic secretion in humans. *Pancreas.* 1999;18:252–8.
108. Patel R, Singh J, Yago MD, Vilchez JR, Martínez-Victoria E, Mañas M. Effect of insulin on exocrine pancreatic secretion in healthy and diabetic anaesthetised rats. *Mol Cell Biochem.* 2004;261:105–10.
109. Couture Y, Dunnigan J, null M. Stimulation of pancreatic amylase secretion and protein synthesis by insulin. *Scand J Gastroenterol.* 1972;7:257–63.
110. Sherr J, Tsalikian E, Fox L, Buckingham B, Weinzimer S, Tamborlane WV, et al. Evolution of abnormal plasma glucagon responses to mixed-meal feedings in youth with type 1 diabetes during the first 2 years after diagnosis. *Diabetes Care.* 2014;37:1741–4.
111. Salter JM, Davidson IW, Best CH. The pathologic effects of large amounts of glucagon. *Diabetes.* 1957;6:248–52; discussion, 252–5.
112. Cameron JM, Melrose AG. Changes in liver, pancreatic and stomach morphology following chronic glucagon administration in Guinea-pigs. *Br J Exp Pathol.* 1962;43:384–6.
113. Lazarus SS, Volk BW, Lofaro P. The effect of protracted glucagon administration on blood glucose and on pancreatic morphology. *Endocrinology.* 1958;63:359–71.
114. Necheles H. Effects of glucagon on external secretion of the pancreas. *Am J Phys.* 1957;191:595–7.
115. Nakajima S, Magee DF. Inhibition of exocrine pancreatic secretion by glucagon and D-glucose given intravenously. *Can J Physiol Pharmacol.* 1970;48:299–305.
116. Dyck WP, Rudick J, Hoexter B, Janowitz HD. Influence of glucagon on pancreatic exocrine secretion. *Gastroenterology.* 1969;56:531–7.
117. Shaw HM, Heath TJ. The effect of glucagon on the formation of pancreatic juice and bile in the rat. *Can J Physiol Pharmacol.* 1973;51:1–5.
118. Liddle RC and RA. Regulation of Pancreatic Secretion. *Pancreapedia: The Exocrine Pancreas Knowledge Base* [Internet]. 2015 [cited 2018 Aug 22]; Available from: /reviews/regulation-of-pancreatic-secretion.
119. Gyr K, Beglinger C, Köhler E, Trautzi U, Keller U, Bloom SR. Circulating somatostatin. Physiological regulator of pancreatic function? *J Clin Invest.* 1987;79:1595–600.
120. Boden G, Sivitz MC, Owen OE, Essa-Koumar N, Landor JH. Somatostatin suppresses secretin and pancreatic exocrine secretion. *Science.* 1975;190:163–5.
121. Heintges T, Lüthen R, Niederau C. Inhibition of exocrine pancreatic secretion by somatostatin and its analogues. *Digestion.* 1994;55:1–9.
122. Adrian TE. Pancreatic polypeptide. *J Clin Pathol.* 1978;43–50:s1–8.
123. Greenberg GR, Mitznegg P, Bloom SR. Effect of pancreatic polypeptide on DNA-synthesis in the pancreas. *Experientia.* 1977;33:1332–3.
124. Rahier J, Wallon J, Loozen S, Lefevre A, Gepts W, Haot J. The pancreatic polypeptide cells in the human pancreas: the effects of age and diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 1983;56:441–4.
125. Luce S, Briet C, Bécourt C, Lemonnier F, Boitard C. The targeting of β -cells by T lymphocytes in human type 1 diabetes: clinical perspectives. *Diabetes Obes Metab.* 2013;15(Suppl 3):89–97.
126. Martin S, Kardorf J, Schulte B, Lampeter EF, Gries FA, Melchers I, et al. Autoantibodies to the islet antigen ICA69 occur in IDDM and in rheumatoid arthritis. *Diabetologia.* 1995;38:351–5.
127. Mally MI, Cirulli V, Hayek A, Otonkoski T. ICA69 is expressed equally in the human endocrine and exocrine pancreas. *Diabetologia.* 1996;39:474–80.
128. Wiberg A, Granstam A, Ingvast S, Härkönen T, Knip M, Korsgren O, et al. Characterization of human organ donors testing positive for type 1 diabetes-associated autoantibodies. *Clin Exp Immunol.* 2015;182:278–88.
129. Endo T, Takizawa S, Tanaka S, Takahashi M, Fujii H, Kamisawa T, et al. Amylase alpha-2A autoantibodies: novel marker of autoimmune pancreatitis and fulminant type 1 diabetes. *Diabetes.* 2009;58:732–7.
130. Taniguchi T, Okazaki K, Okamoto M, Seko S, Tanaka J, Uchida K, et al. High prevalence of autoantibodies against carbonic anhydrase II and lactoferrin in type 1 diabetes: concept of autoimmune exocrinopathy and endocrinopathy of the pancreas. *Pancreas.* 2003;27:26–30.

131. Hardt PD, Ewald N, Bröckling K, Tanaka S, Endo T, Kloer HU, et al. Distinct autoantibodies against exocrine pancreatic antigens in European patients with type 1 diabetes mellitus and non-alcoholic chronic pancreatitis. *JOP*. 2008;9:683–9.
132. di Cesare E, Previti M, Lombardo F, Mazzù N, di Benedetto A, Cucinotta D. Prevalence of autoantibodies to carbonic anhydrase II and lactoferrin in patients with type 1 diabetes. *Ann N Y Acad Sci*. 2004;1037:131–2.
133. Kobayashi T, Nakanishi K, Kajio H, Morinaga S, Sugimoto T, Murase T, et al. Pancreatic cytokeratin: an antigen of pancreatic exocrine cell autoantibodies in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1990;33:363–70.
134. Panicot L, Mas E, Thivolet C, Lombardo D. Circulating antibodies against an exocrine pancreatic enzyme in type 1 diabetes. *Diabetes*. 1999;48:2316–23.
135. Yamada T, Hiraoka E, Miyazaki T, Sato J, Ban N. Diabetes as first manifestation of autoimmune pancreatitis. *Am J Med Sci*. 2017;353:498–9.
136. Ennazzk L, Mghari GE, Ansari NE. Association of newly diagnosed type 1 diabetes and autoimmune pancreatitis. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep*. 2016;2016.
137. Papaccio G, Chieffi-Baccari G, Mezzogiorno V, Esposito V. Extraslet infiltration in NOD mouse pancreas: observations after immunomodulation. *Pancreas*. 1993;8:459–64.
138. Coppieters KT, Dotta F, Amirian N, Campbell PD, Kay TWH, Atkinson MA, et al. Demonstration of islet-autoreactive CD8 T cells in insulinitic lesions from recent onset and long-term type 1 diabetes patients. *J Exp Med*. 2012;209:51–60.
139. Culina S, Lalanne AI, Afonso G, Cerosaletti K, Pinto S, Sebastiani G, et al. Islet-reactive CD8+ T cell frequencies in the pancreas, but not in blood, distinguish type 1 diabetic patients from healthy donors. *Sci Immunol*. 2018;3.
140. Gonzalez-Duque S, Azoury ME, Colli ML, Afonso G, Turatsinze J-V, Nigi L, et al. Conventional and neo-antigenic peptides presented by β cells are targeted by circulating Naïve CD8+ T cells in type 1 diabetic and healthy donors. *Cell Metab*. 2018.
141. Radenkovic M, Silver C, Arvastsson J, Lynch K, Lernmark Å, Harris RA, et al. Altered regulatory T cell phenotype in latent autoimmune diabetes of the adults (LADA). *Clin Exp Immunol*. 2016;186:46–56.
142. Schenkel JM, Masopust D. Tissue-resident memory T cells. *Immunity*. 2014;41:886–97.
143. Valle A, Giamporcaro GM, Scavini M, Stabilini A, Grogan P, Bianconi E, et al. Reduction of circulating neutrophils precedes and accompanies type 1 diabetes. *Diabetes*. 2013;62:2072–7.
144. Semakula C, Vandewalle CL, Van Schravendijk CF, Sodoyez JC, Schuit FC, Foriers A, et al. Abnormal circulating pancreatic enzyme activities in more than twenty-five percent of recent-onset insulin-dependent diabetic patients: association of hyperlipasemia with high-titer islet cell antibodies. *Belgian diabetes registry. Pancreas*. 1996;12:321–33.
145. Rowe P, Wasserfall C, Croker B, Campbell-Thompson M, Pugliese A, Atkinson M, et al. Increased complement activation in human type 1 diabetes pancreata. *Diabetes Care*. 2013;36:3815–7.
146. Sarkar SA, Lee CE, Victorino F, Nguyen TT, Walters JA, Burrack A, et al. Expression and regulation of chemokines in murine and human type 1 diabetes. *Diabetes*. 2012;61:436–46.
147. Zhang Q, Fillmore TL, Schepmoes AA, Clauss TRW, Gritsenko MA, Mueller PW, et al. Serum proteomics reveals systemic dysregulation of innate immunity in type 1 diabetes. *J Exp Med*. 2013;210:191–203.
148. Burch TC, Morris MA, Campbell-Thompson M, Pugliese A, Nadler JL, Nyalwidhe JO. Proteomic analysis of disease stratified human pancreas tissue indicates unique signature of type 1 diabetes. *PLoS One*. 2015;10:e0135663.
149. Lewis MP, Reber HA, Ashley SW. Pancreatic blood flow and its role in the pathophysiology of pancreatitis. *J Surg Res*. 1998;75:81–9.
150. El-Gohary Y, Tulachan S, Branca M, Sims-Lucas S, Guo P, Prasad K, et al. Whole-mount imaging demonstrates hypervascularity of the pancreatic ducts and other pancreatic structures. *Anat Rec (Hoboken)*. 2012;295:465–73.
151. Saladino CFJ. Age changes in the canine pancreas: histomorphological, electron microscopic, and biochemical study. 1971;246.
152. Funk HU. Veränderungen an Pankreaskapillaren bei Diabetikern. *Diabetologia*. 1966;1:228–32.
153. Levy BI, Schiffrin EL, Mourad J-J, Agostini D, Vicaut E, Safar ME, et al. Impaired tissue perfusion: a pathology common to hypertension, obesity, and diabetes mellitus. *Circulation*. 2008;118:968–76.
154. Pollak OJ. Human pancreatic atherosclerosis. *Ann N Y Acad Sci*. 1968;149:928–39.
155. Blumenthal HT, Probst JG, Berns AW. Interrelationship of diabetes mellitus and pancreatitis. *Arch Surg*. 1963;87:844–50.
156. Berns AW, Owens CT, Blumenthal HT. A histo- and immunopathologic study of the vessels and islets of langerhans of the pancreas in diabetes mellitus. *J Gerontol*. 1964;19:179–89.
157. Reiner L, Jimenez FA, Rodriguez FL. Atherosclerosis in the mesenteric circulation. Observations and correlations with aortic and coronary atherosclerosis. *Am Heart J*. 1963;66:200–9.
158. Clair JRS, Ramirez D, Passman S, Benninger RKP. Contrast-enhanced ultrasound measurement of pancreatic blood flow dynamics predicts type 1 diabetes progression in preclinical models. *Nat Commun*. 2018;9:1742.
159. Kivisaari L. The effect of experimental pancreatitis and diabetes on the microvasculature of the rat pancreas. *Scand J Gastroenterol*. 1979;14:689–95.
160. Canzano JS, Nasif LH, Butterworth EA, Fu DA, Atkinson MA, Campbell-Thompson M. Islet Microvasculature Alterations With Loss of Beta-cells in Patients With Type 1 Diabetes. *J Histochem Cytochem*. 2018;22155418778546.
161. Sasson A, Rachi E, Sakhneny L, Baer D, Lisnyansky M, Epshtein A, et al. Islet Pericytes are required for β -cell maturity. *Diabetes*. 2016;65:3008–14.
162. Almaça J, Weitz J, Rodriguez-Diaz R, Pereira E, Caicedo A. The Pericyte of the pancreatic islet regulates capillary diameter and local blood flow. *Cell Metab*. 2018;27:630–644.e4.
163. Babic T, Browning KN, Kawaguchi Y, Tang X, Travagli RA. Pancreatic insulin and exocrine secretion are under the modulatory control of distinct subpopulations of vagal motoneurons in the rat. *J Physiol Lond*. 2012;590:3611–22.
164. Love JA, Yi E, Smith TG. Autonomic pathways regulating pancreatic exocrine secretion. *Auton Neurosci*. 2007;133:19–34.
165. Solomon TE, Grossman MI. Effect of atropine and vagotomy on response of transplanted pancreas. *Am J Phys*. 1979;236:E186–90.
166. Valenzuela JE, Weiner K, Saad C. Cholinergic stimulation of human pancreatic secretion. *Dig Dis Sci*. 1986;31:615–9.
167. Razavi R, Chan Y, Afifiyan FN, Liu XJ, Wan X, Yantha J, et al. TRPV1+ sensory neurons control beta cell stress and islet inflammation in autoimmune diabetes. *Cell*. 2006;127:1123–35.
168. Lundberg M, Lindqvist A, Wierup N, Krogvold L, Dahl-Jørgensen K, Skog O. The density of parasympathetic axons is reduced in the exocrine pancreas of individuals recently diagnosed with type 1 diabetes. *PLoS One*. 2017;12:e0179911.
169. Masamune A, Watanabe T, Kikuta K, Shimosegawa T. Roles of pancreatic stellate cells in pancreatic inflammation and fibrosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009;7:S48–54.

170. Czako L, Hegyi P, Rakoncay Z, Wittmann T, Otsuki M. Interactions between the endocrine and exocrine pancreas and their clinical relevance. *Pancreatol*. 2009;9:351–9.
171. Nomiyama Y, Tashiro M, Yamaguchi T, Watanabe S, Taguchi M, Asaumi H, et al. High glucose activates rat pancreatic stellate cells through protein kinase C and p38 mitogen-activated protein kinase pathway. *Pancreas*. 2007;34:364–72.
172. Watanabe S, Nagashio Y, Asaumi H, Nomiyama Y, Taguchi M, Tashiro M, et al. Pressure activates rat pancreatic stellate cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2004;287:G1175–81.
173. Zang G, Sandberg M, Carlsson P-O, Welsh N, Jansson L, Barbu A. Activated pancreatic stellate cells can impair pancreatic islet function in mice. *Ups J Med Sci*. 2015;120:169–80.
174. Foulis AK, Farquharson MA, Hardman R. Aberrant expression of class II major histocompatibility complex molecules by B cells and hyperexpression of class I major histocompatibility complex molecules by insulin containing islets in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1987;30:333–43.
175. Skog O, Korsgren S, Wiberg A, Danielsson A, Edwin B, Buanes T, et al. Expression of human leukocyte antigen class I in endocrine and exocrine pancreatic tissue at onset of type 1 diabetes. *Am J Pathol*. 2015;185:129–38.
176. Battaglia M, Atkinson MA. The streetlight effect in type 1 diabetes. *Diabetes*. 2015;64:1081–90.
177. Magalhaes I, Pingris K, Poitou C, Bessoles S, Venteclef N, Kiaf B, et al. Mucosal-associated invariant T cell alterations in obese and type 2 diabetic patients. *J Clin Invest*. 2015;125:1752–62.
178. Kuric E, Krogvold L, Hanssen KF, Dahl-Jørgensen K, Skog O, Korsgren O. No evidence for presence of mucosal-associated invariant T cells in the Insulinitis lesions in patients recently diagnosed with type 1 diabetes. *Am J Pathol*. 2018;188:1744–8.
179. Stechova K, Kolouskova S, Sumnik Z, Cinek O, Kverka M, Faresjo MK, et al. Anti-GAD65 reactive peripheral blood mononuclear cells in the pathogenesis of cystic fibrosis related diabetes mellitus. *Autoimmunity*. 2005;38:319–23.
180. Bizzari C, Giannone G, Benevento D, Montemiro E, Alghisi F, Cappa M, et al. ZnT8 antibodies in patients with cystic fibrosis: an expression of secondary beta-cell damage? *J Cyst Fibros*. 2013;12:803–5.
181. Scuro LA, Bovo P, Sandrini T, Angelini G, Cavallini G, Mirakian R. Autoimmunity and diabetes associated with chronic pancreatitis. *Lancet*. 1983;1:424.
182. Cummings MH, Chong L, Hunter V, Kar PS, Meeking DR, Cranston IC. Gastrointestinal symptoms and pancreatic exocrine insufficiency in type 1 and type 2 diabetes. *Practical Diabetes*. 2015;32:54–8.
183. Gotfried J, Priest S, Schey R. Diabetes and the small intestine. *Curr Treat Options Gastroenterol*. 2017;15:490–507.
184. Cavalot F, Bonomo K, Fiora E, Bacillo E, Salacone P, Chirio M, et al. Does pancreatic elastase-1 in stools predict steatorrhea in type 1 diabetes? *Diabetes Care*. 2006;29:719–21.
185. Hardt PD, Hauenschild A, Jaeger C, Teichmann J, Bretzel RG, Kloer HU, et al. High prevalence of steatorrhea in 101 diabetic patients likely to suffer from exocrine pancreatic insufficiency according to low fecal elastase 1 concentrations: a prospective multicenter study. *Dig Dis Sci*. 2003;48:1688–92.
186. Lindkvist B, Domínguez-Muñoz JE, Luaces-Regueira M, Castiñeiras-Alvariño M, Nieto-García L, Iglesias-García J. Serum nutritional markers for prediction of pancreatic exocrine insufficiency in chronic pancreatitis. *Pancreatol*. 2012;12:305–10.
187. Lindkvist B, Nilsson C, Kvamström M, Oscarsson J. Importance of pancreatic exocrine dysfunction in patients with type 2 diabetes: a randomized crossover study. *Pancreatol*. 2018.
188. Alexandre-Heymann L, Lemoine AY, Nakib S, Kapel N, Ledoux S, Larger E. Nutritional markers in patients with diabetes and pancreatic exocrine failure. *Acta Diabetol*. 2019.
189. Tignor AS, Wu BU, Whitlock TL, Lopez R, Repas K, Banks PA, et al. High prevalence of low-trauma fracture in chronic pancreatitis. *Am J Gastroenterol*. 2010;105:2680–6.
190. Mohan V, Poongothai S, Pitchumoni CS. Oral pancreatic enzyme therapy in the control of diabetes mellitus in tropical calculous pancreatitis. *Int J Pancreatol*. 1998;24:19–22.
191. Whitcomb DC, Bodhani A, Beckmann K, Sander-Struckmeier S, Liu S, Fuldeore M, et al. Efficacy and safety of Pancrelipase/Pancreatin in patients with exocrine pancreatic insufficiency and a medical history of diabetes mellitus. *Pancreas*. 2016;45:679–86.
192. Knop FK, Vilsbøll T, Larsen S, Højberg PV, Vølund A, Madsbad S, et al. Increased postprandial responses of GLP-1 and GIP in patients with chronic pancreatitis and steatorrhea following pancreatic enzyme substitution. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007;292:E324–30.
193. Ebert R, Creutzfeldt W. Reversal of impaired GIP and insulin secretion in patients with pancreatogenic steatorrhea following enzyme substitution. *Diabetologia*. 1980;19:198–204.
194. Suzuki S, Miura J, Shimizu K, Tokushige K, Uchigata Y, Yamamoto M. Clinicophysiological outcomes after total pancreatectomy. *Scand J Gastroenterol*. 2016;51:1526–31.
195. Ewald N, Bretzel RG, Fantus IG, Hollenhorst M, Kloer HU, Hardt PD, et al. Pancreatin therapy in patients with insulin-treated diabetes mellitus and exocrine pancreatic insufficiency according to low fecal elastase 1 concentrations. Results of a prospective multicenter trial. *Diabetes Metab Res Rev*. 2007;23:386–91.
196. Keller J, Aghdassi AA, Lerch MM, Mayerle JV, Leyer P. Tests of pancreatic exocrine function - clinical significance in pancreatic and non-pancreatic disorders. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2009;23:425–39.
197. Zsóri G, Illés D, Terzin V, Ivány E, Czako L. Exocrine pancreatic insufficiency in type 1 and type 2 diabetes mellitus: do we need to treat it? A systematic review. *Pancreatol*. 2018.
198. Struyvenberg MR, Martin CR, Freedman SD. Practical guide to exocrine pancreatic insufficiency - breaking the myths. *BMC Med*. 2017;15:29.
199. Löhr J-M, Oliver MR, Frulloni L. Synopsis of recent guidelines on pancreatic exocrine insufficiency. *United European Gastroenterol J*. 2013;1:79–83.
200. Working Party of the Australasian Pancreatic Club, Smith RC, Smith SF, Wilson J, Pearce C, Wray N, et al. Summary and recommendations from the Australasian guidelines for the management of pancreatic exocrine insufficiency. *Pancreatol*. 2016;16:164–80.
201. Piciucchi M, Capurso G, Archibugi L, Delle Fave MM, Capasso M, Delle Fave G. Exocrine pancreatic insufficiency in diabetic patients: prevalence, mechanisms, and treatment. *Int J Endocrinol*. 2015;2015:595649.
202. O'Keefe SJ, Cariem AK, Levy M. The exacerbation of pancreatic endocrine dysfunction by potent pancreatic exocrine supplements in patients with chronic pancreatitis. *J Clin Gastroenterol*. 2001;32:319–23.

2. Diabète de type 2

Les anomalies macroscopiques du pancréas exocrine semblent souvent moins sévères chez les patients présentant un DT2 que chez ceux présentant un DT1, avec un volume de pancréas intermédiaire entre celui de sujets témoins et celui de patients présentant un DT1 (82–85), voire identique à celui des témoins selon les études (86–88). En ce qui concerne les anomalies histologiques, elles ont été décrites indifféremment du type de diabète jusqu'aux années 1950. Leur fréquence augmente avec l'âge et avec la durée de diabète, et sont communément observées dans le cas du DT2 également. Ainsi, la fibrose intra-lobulaire et inter-acinaire, l'infiltration lymphocytaire (55) ou les anomalies des artérioles intra-pancréatiques (54) sont des anomalies fréquemment observées.

Dans les modèles animaux de DT2, ces anomalies, et notamment la fibrose et les anomalies de la matrice extra-cellulaire, semblent compromettre la communication entre les tissus endocrine et exocrine, ce qui pourrait avoir des conséquences sur le bon fonctionnement des deux tissus (89).

Par ailleurs, l'infiltration graisseuse du pancréas semble plus fréquente dans le DT2 que dans le DT1. L'étude de Tushuizen *et al* (90) a ainsi estimé qu'environ 30% des patients porteurs d'un DT2 présentent une « stéatose pancréatique » à l'échographie, contre seulement 10% des témoins. D'autres études vont dans ce sens d'une proportion élevée de graisse intra-pancréatique chez les patients présentant un DT2, même en prenant en compte l'IMC souvent plus élevé dans cette population (91–95). De façon intéressante, le taux de graisses dans le pancréas semble inversement corrélé à la fonction bêta pancréatique.

Comme pour le volume du pancréas, la fréquence de l'IPE des sujets présentant un DT2 est intermédiaire entre celle des témoins et celles des patients présentant un DT1 : selon les études, 18 à 29% des patients présentant un DT2 ont une IPE définie par une élastase fécale inférieure à 200µg/g, contre 27 à 56% des patients présentant un DT1 et 4 à 13% des témoins. 3 à 20% présentent une IPE sévère définie par une élastase fécale inférieure à 100µg/g, contre 18 à 28,5% des patients présentant un DT1 et 1,1% des témoins (96–100). Il est intéressant de noter qu'une étude récente a montré que les fréquences de la rétinopathie et de l'abolition des pouls périphériques sont corrélées à la sévérité de l'IPE mesurée par l'élastase fécale chez les patients présentant un DT2 (101). Un travail du service avait également montré une association entre IPE et maladie vasculaire (99).

Les causes des anomalies pancréatiques exocrines dans le DT2 semblent proches de celles observées dans le DT1 (pour rappel : perte de l'effet trophique de l'insuline sur les cellules acinaires faisant suite à l'insulinopénie, inflammation du pancréas exocrine, anomalies vasculaires et neurales intra-pancréatiques, activation des cellules étoilées pancréatiques) (102) (**Figure 6**). L'insulinopénie étant moindre dans le DT2, cela pourrait expliquer que les lésions exocrines soient moins sévères dans le DT2 que dans le DT1.

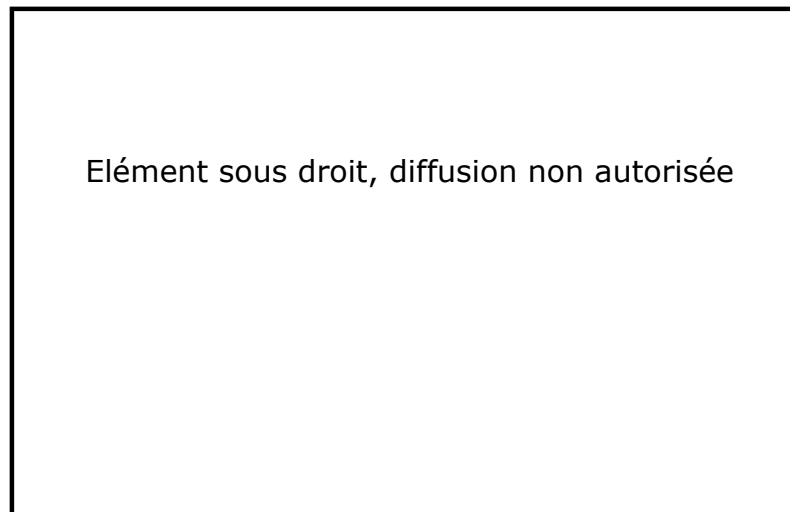


Figure 6. Facteurs contribuant à l'IPE dans le diabète.

Radlinger B, Ramoser G, Kaser S. Exocrine Pancreatic Insufficiency in Type 1 and Type 2 Diabetes. Curr Diab Rep. 1 avr 2020;20(6):18.

Au total, il paraît donc clair que les pancréas exocrine et endocrine ne sont pas deux tissus complètement indépendants, et que s'ils ont deux fonctions bien distinctes, l'intégrité des deux types de tissus est nécessaire à leur bon fonctionnement, et qu'ils exercent des influences réciproques.

Chapitre 3 : Vascularisation pancréatique, pancréas endocrine et pancréas exocrine

L'une des premières anomalies histologiques qui a été rapportée dans le diabète a été la présence de lésions vasculaires intra-pancréatiques. En effet, il avait été noté dès les années 1900 qu'après l'âge de 40 ans, des lésions plus ou moins sévères de la paroi des artérioles

pancréatiques étaient retrouvées systématiquement à l'autopsie du pancréas chez les patients présentant un diabète (54,55). La vascularisation insulaire étant particulièrement développée, de nombreuses théories sur le rôle majeur de la vascularisation dans le maintien d'une bonne fonction endocrine ont vu le jour. Par ailleurs, des études récentes montrent que la communication sanguine entre les tissus pancréatiques exocrine et endocrine est à double sens (103). Nous nous sommes donc intéressés aux liens entre vaisseaux destinés au pancréas, vaisseaux intra-pancréatiques, pancréas endocrine et pancréas exocrine.

Dans ce chapitre, nous commencerons par un rappel sur la vascularisation normale du pancréas, puis nous aborderons les liens entre diabète et anomalies vasculaires, notamment pancréatiques.

I Vascularisation normale du pancréas

Le pancréas est vascularisé par plusieurs arcades anastomotiques, avec une grande variabilité interindividuelle. La plupart du temps, la vascularisation s'organise de la manière suivante : la queue et le corps du pancréas sont irrigués par des branches de l'artère splénique, qui naît du tronc cœliaque. La tête du pancréas est quant à elle vascularisée par une arcade vasculaire formée par des branches de l'artère gastroduodénale issue de l'artère hépatique (elle-même une branche du tronc cœliaque) et par des branches de l'artère mésentérique supérieure (104) (**figure 7**). Le sang est ensuite drainé par des veines qui se jettent dans la veine splénique et la veine mésentérique supérieure, qui s'anastomosent ensuite pour former la veine porte.

Les îlots sont nettement plus vascularisés que le pancréas exocrine, avec un réseau capillaire dense. Les canaux pancréatiques sont eux aussi fortement vascularisés (105,106). Il faut toutefois noter que la vascularisation insulaire n'est pas parfaitement conservée entre les espèces. Les îlots murins semblent plus vascularisés que ceux des humains, et les études animales sur la vascularisation insulaire ne sont pas forcément transposables à l'Homme (107). Quoiqu'il en soit, la vascularisation insulaire est généralement constituée d'1 à 5 artérioles par îlot, qui se divisent en un réseau capillaire fenêtré assez dense (108) (**figure 8**).

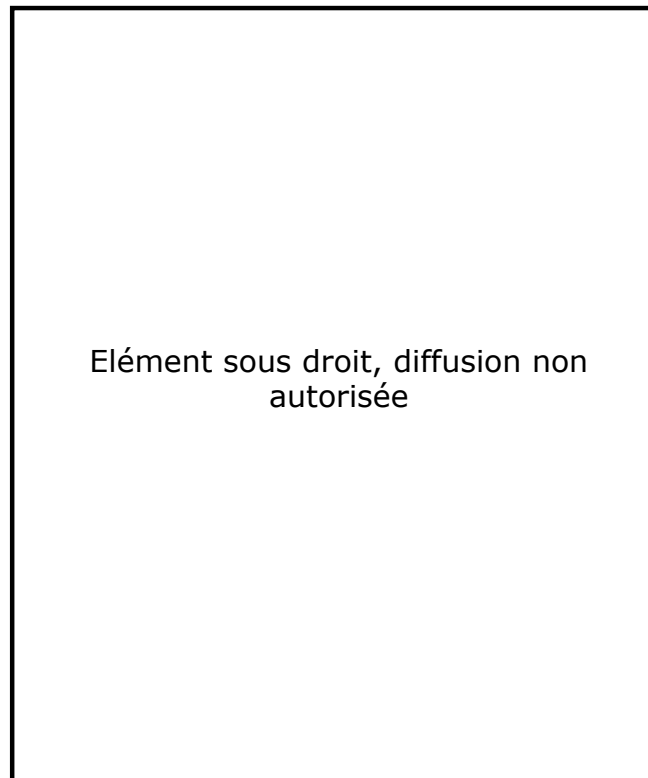


Figure 7. Vascularisation du pancréas Vue antérieure (**A**) et postérieure (**B**). Le tronc coeliaque et l'artère mésentérique supérieure naissent de l'aorte abdominale. Leurs branches s'anastomosent pour créer des arcades qui vascularisent le pancréas.

Hruban R.H, Pitman M.B, Klimstra D.S. AFIP Atlas of Tumor Pathology, Fourth Series, Fascicle Tumors of the pancreas. American Registry of Pathology, Washington, DC in collaboration with the Armed Forces Institute of Pathology, Washington, DC, 2007

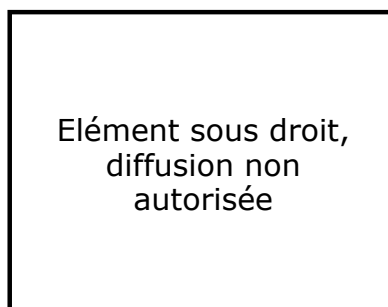


Figure 8. Reconstruction 3D de la vascularisation d'un îlot de Langerhans de souris. Vert : CD31 (marquage des cellules endothéliales), Rouge : Glucagon, Bleu : Insuline.

El-Gohary Y, Tulachan S, Branca M, Sims-Lucas S, Guo P, Prasad K, et al. Whole-mount imaging demonstrates hypervascularity of the pancreatic ducts and other pancreatic structures. Anat Rec (Hoboken) 295(3): 465-473,2012

Pendant de nombreuses années, les îlots ont été considérés comme des petits organes indépendants, encapsulés dans le tissu exocrine, avec une vascularisation spécifique à chaque îlot, partant d'artérioles afférentes et se drainant dans des veinules efférentes. Cela a donné lieu à de nombreuses hypothèses sur les flux vasculaires, avec finalement 3 types de flux retenus :

le premier, le plus fréquemment observé, va de la périphérie de l'îlot vers le centre ; le deuxième part du centre vers la périphérie de l'îlot ; et enfin le troisième va d'un pôle insulaire à l'autre (109). Une étude plus récente vient proposer une autre vision des îlots : ces derniers ne seraient pas des organes vascularisés de façon indépendante, mais seraient bien intégrés à part entière dans le pancréas, et la circulation pourrait donc se faire de façon plus aléatoire que ce qui avait été décrit jusqu'à présent (103). Ainsi, Dybala *et al* ont montré que les flux entre îlots et tissu exocrine environnant sont bidirectionnels, chez la souris comme chez l'humain : l'îlot est généralement irrigué par une artériole principale, mais le flux sanguin se poursuit dans un réseau capillaire multidirectionnel, non différenciable de celui du tissu pancréatique exocrine. Cette observation récente va dans le sens d'une intercommunication permanente entre tissus endocrine et exocrine (**figure 9**).

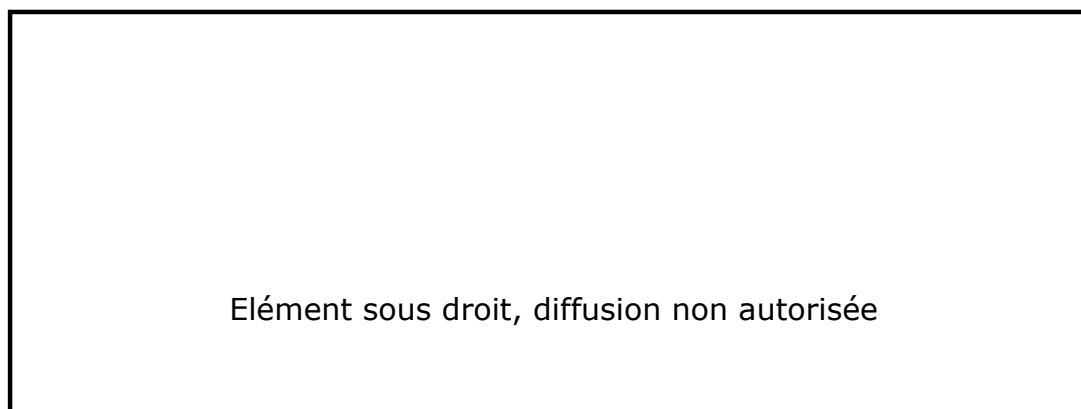


Figure 9 Différentes représentations de la vascularisation insulaire. Ancien modèle : l'îlot (en vert) est un système isolé avec une artériole afférente (rouge) se divisant en un réseau capillaire finalement drainé par une veinule efférente (bleu). Nouveau modèle : circulation ouverte, l'artère afférente entre dans l'îlot et se divise en un réseau capillaire intégré à son microenvironnement.
Dybala MP, Kuznetsov A, Motobu M, Hendren-Santiago BK, Philipson LH, Chervonsky AV, et al. Integrated Pancreatic Blood Flow: Bidirectional Microcirculation Between Endocrine and Exocrine Pancreas. Diabetes. juill 2020;69(7):1439-50.

Du point de vue histologique et fonctionnel, les cellules insulaires murines ne possèdent pas de membrane basale et interagissent directement avec la membrane basale endothéliale, alors que chez l'humain une double membrane basale sépare les cellules insulaires des cellules endothéliales (50,110).

De nombreuses études ont montré que chez l'Homme comme chez la souris, dès la période embryonnaire, les cellules bêta et les cellules endothéliales insulaires sont en communication permanente (111,112) : les cellules endothéliales sécrètent des facteurs de transcription dans le pancréas embryonnaire, ce qui induit le développement des îlots. Les cellules endocrines

sécrètent quant à elles des facteurs pro-angiogéniques dont le Vascular Endothelial Growth Factor-A (VEGF-A), mais également d'autres facteurs angiogéniques et angiostatiques qui modèlent la structure et la fonction du réseau vasculaire local.

A l'âge adulte, la communication paracrine persiste entre les 2 types cellulaires (sécrétion de VEGF-A, de thrombospondine, d'angiopoïétine ou de TGF-bêta par les cellules bêta ; sécrétion d'endothéline-1 ou d'hépatocyte growth factor par les cellules endothéliales (113)). La sécrétion de VEGF-A maintient entre autres la « fenestration » des capillaires insulaires, ce qui permet le passage rapide des hormones vers la circulation sanguine (114). La sécrétion de VEGF-A est finement régulée et cosécritée avec des facteurs antiangiogéniques et angiostatiques tels la thrombospondine-1, ce qui permet de maintenir un nombre adéquat de capillaires fonctionnels à tout moment (115,116). Une hypo ou une hypersécrétion de VEGF-A peuvent toutes deux induire des anomalies de vascularisation des îlots, ce qui est souvent associé à des anomalies de régulation glycémique (117). En outre, le niveau d'expression du VEGFR2, la forme active du récepteur du VEGF, est plus élevé dans les cellules endothéliales des capillaires insulaires que dans celles du pancréas exocrine, ce qui rend compte de propriétés différentes des capillaires des tissus exocrine et endocrine (118).

Un autre type cellulaire fait l'objet d'études de plus en plus nombreuses : les péricytes, cellules qui entourent les petits vaisseaux et dont certaines ont des capacités contractiles. Ces derniers ont une importance non négligeable dans la régulation du flux sanguin au sein des îlots : certains péricytes réagissent à divers stimuli (sécrétion d'endothéline 1 ou d'adénosine par exemple) et induisent une contraction ou une dilatation des artérioles et des capillaires insulaires qu'ils entourent, modulant le flux sanguin des îlots. Cela pourrait contribuer à la régulation de sécrétion hormonale en réponse à des stimuli sympathiques ou parasympathiques (119).

II Vascularisation et diabète

1. Facteurs de risque cardio-vasculaires et diabète : liens épidémiologiques

1.1 Etudes observationnelles

Si le lien entre diabète et lésions vasculaires est communément admis, (les complications micro-comme macroangiopathiques sont une source majeure de morbi-mortalité chez les patients présentant un diabète), l'association inverse est moins souvent évoquée.

Une des questions majeures à l'origine de ce travail de thèse a été de savoir si la présence de pathologies vasculaires pancréatiques pourrait être en cause dans les anomalies de régulation glycémique, ou du moins les majorer. Certaines études rapportées ci-dessous ont généré cette hypothèse.

Ainsi, une incidence de diabète plus importante que dans la population générale du même âge a été décrite :

- Chez des patients suivis pour une *insuffisance cardiaque* (21 à 28 cas de diabète incident pour 1000 patients-années, contre 16,8 dans la population générale correspondante (120)).

- Chez des patients suivis dans les 3 ans après la survenue d'un *infarctus du myocarde* (3,7% de nouveaux cas par an, contre 0,8 à 1,6% dans la population générale correspondante) (121).

Une autre étude montre que, même chez des patients présentant tous une coronaropathie et ayant eu une pose de stent coronaire, l'incidence du diabète est plus élevée chez ceux qui ont eu un infarctus du myocarde que chez les autres (27 cas/1000 personnes années contre 16/1000) (122). Cette association est d'autant plus importante à dépister que les patients présentant un diabète et un antécédent d'infarctus du myocarde ont un taux de mortalité cardio-vasculaire plus élevé que les patients sans diabète.

- Chez des patients présentant une HTA. Par exemple, chez des femmes américaines de plus de 45 ans et à IMC égal, la présence d'une HTA confère un hazard ratio de 2,03 de développer un diabète à 10 ans (123) ; chez les patients ayant eu un infarctus du myocarde, l'HTA est également un facteur de risque supplémentaire de développer un diabète (121) ; et de nombreuses autres études effectuées dans diverses populations (Chine, Corée, Pologne, Iran, Royaume-Uni, Viet-Nam, Italie, France), vont dans le même sens (124–135). Il est à noter que dans une étude américaine, après prise en compte des facteurs de confusion, la présence d'une HTA augmentait bien le risque de développer un diabète chez les sujets blancs, mais pas chez les sujets Afro-américains (136). Des auteurs font remarquer que certaines molécules antihypertensives (bêta-bloquants, diurétiques) ont un effet diabétogène et pourraient expliquer une partie du surrisque de diabète, mais elles ne sont pas les seules en cause car les patients hypertendus non traités ont également un risque augmenté.

Des explications physiopathologiques à cette association ont été proposées. On sait notamment que l'hypertension primaire est souvent liée à une hyperactivation du système sympathique, qui est accompagnée d'une moindre vasodilatation au niveau musculaire, ce qui induit une diminution de l'absorption du glucose par les muscles et une insulino-résistance musculaire

(137). Par ailleurs, il a été suggéré que certains terrains génétiques favorisent la dysfonction endothéliale, qui induit à la fois une moindre réponse des tissus à l'insuline, avec une nouvelle fois une moindre vasodilatation au niveau musculaire, et une hyperpression vasculaire qui peut finir par favoriser l'hypertension artérielle (138). Ainsi, dans les familles de patients hypertendus, les sujets normo-tendus ont des indices d'insulinorésistance plus élevés que les sujets issus de familles témoins (139). Un autre élément favorisant l'HTA et le diabète est la dysrégulation du système rénine-angiotensine-aldostérone : la surproduction d'angiotensine 2 va induire un stress oxydant qui majore l'insulinorésistance (140).

- Chez des patients ayant eu un *AVC ischémique* (141).

- Chez des patients qui consomment du *tabac* (tabagisme actif ou sevré récemment) (135) : les patients ayant fait un infarctus du myocarde et qui continuent de fumer ont un hazard ratio de 1,66 de développer un diabète dans les 3 ans après l'infarctus (121). Dans l'étude de Wannamethee *et al*, le risque relatif de développer un diabète sur une durée de suivi de 18 ans chez des hommes de plus de 40 ans n'ayant pas de pathologie particulière à l'inclusion est de 1,8 chez les fumeurs par rapport aux non-fumeurs (142). D'autres études, encore une fois réalisées dans de nombreuses populations différentes, confirment les liens entre tabagisme et incidence accrue de diabète. La plupart montrent un risque accru de développer un diabète avec une consommation quotidienne de tabac plus importante et un tabagisme ancien (143–145). D'autres études montrent que même le tabagisme passif augmente le risque de développer un diabète (146,147). Selon les études, l'effet délétère du tabac ne disparaît ensuite complètement qu'après 10 à 30 ans de sevrage complet (cette durée étant d'autant plus longue que les sujets avaient une grande consommation de tabac quotidienne) (142,148,149). De façon intéressante, le sevrage tabagique augmente le risque de développer un diabète dans les 5 premières années après l'arrêt, puis l'incidence diminue par la suite. Ceci est probablement dû en partie à la prise de poids associée à l'arrêt du tabac, même si cette explication est discutée (142,150–152). Enfin, comme pour l'HTA, les effets du tabac sont différents selon certaines caractéristiques des populations : l'effet diabétogène du tabagisme semble moins fort chez les femmes que chez les hommes (153–155). En revanche, cet effet semble exister chez les sujets blancs comme chez les sujets Afro-américains (156).

Certaines études expérimentales ont tenté d'expliquer ce lien épidémiologique. Des souris exposées à la fumée de cigarette vont subir un stress oxydant, un stress du réticulum endoplasmique, une diminution de la masse bêta et une diminution de la sécrétion d'insuline. (157). Une autre étude a montré que l'exposition de lignées de cellules bêta à la fumée de

cigarette induit l'apoptose des cellules suite à l'activation de la voie p38-Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK) (158).

- Chez des patients présentant des signes de *rigidité artérielle*. Ainsi, les patients présentant une vitesse d'onde de pouls carotido-fémorale augmentée ont un hazard ratio de 3,24 de développer un diabète à 4 ans par rapport à ceux avec vitesse normale (159). D'autres études montrent que chez des patients hypertendus ou non, les sujets avec une vitesse d'onde de pouls bras-cheville augmentée ont également un plus haut risque de développer un diabète (160–162). Une autre étude intéressante montre que le risque de développer un diabète gestationnel est augmenté chez les femmes qui présente un index de résistance de l'artère mésentérique supérieure augmenté (163).

Il existe bien sûr un biais commun à toutes ces études observationnelles : les patients présentant les pathologies cardio-vasculaires citées ci-dessus ont souvent des facteurs de risque communs au diabète et aux pathologies en question, notamment l'obésité ou la sédentarité. De plus, ayant été inclus dans des cohortes de suivi au long terme, leur suivi clinique et paraclinique est plus fréquent que celui réalisé dans la population générale, ce qui permet de réaliser le diagnostic de diabète plus précocement et augmente artificiellement le taux d'incidence du diabète. Cependant, dans la quasi-totalité des études, les populations sont stratifiées ou des analyses multivariées sont réalisées pour justement prendre en compte les facteurs de confusion, et le surrisque persiste malgré cette prise en compte.

1.2 Etudes interventionnelles

Plusieurs études interventionnelles ont été menées pour déterminer si prendre en charge ces facteurs de risque pouvaient diminuer le risque de développer un diabète.

Le sevrage tabagique permet de rétablir une incidence identique à celle de la population non fumeuse environ 20 ans après l'arrêt du tabac.

En ce qui concerne l'HTA, les résultats sont résumés ci-dessous :

- L'étude DREAM (164) a suivi pendant 3 ans des sujets présentant un « pré-diabète » traités par ramipril 15mg/j ou par placebo. L'incidence du diabète est restée identique dans les 2 groupes, mais les sujets sous ramipril avaient plus de chance de redevenir normoglycémique à la fin de l'étude que ceux sous placebo. Des résultats plus francs ont été montrés dans l'étude

HOPE (165) : des patients de plus de 55 ans présentant une coronaropathie ont été traités par ramipril 10 mg/j ou par placebo, et suivis 4,5 ans. Les patients traités par ramipril avaient une diminution marquée de l'incidence du diabète à la fin de l'étude (risque relatif de 0,66) (**Figure 10**).

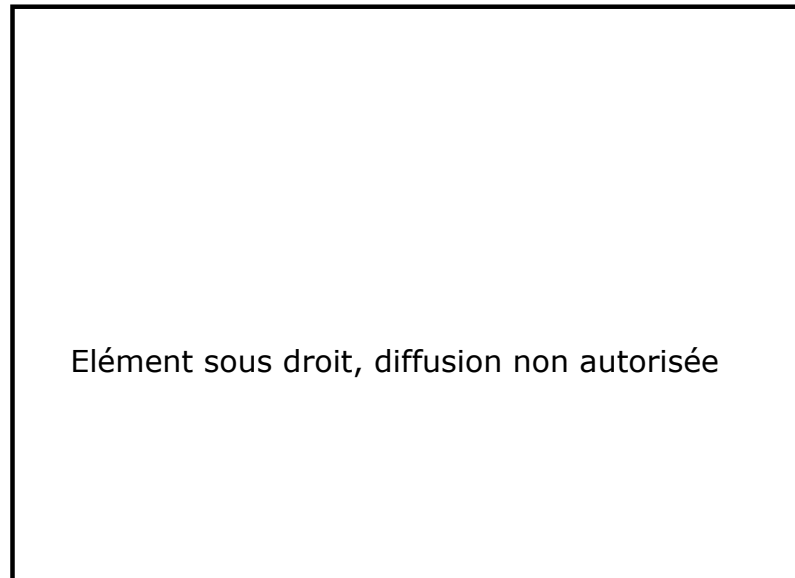


Figure 10. Risque relatif de développer un diabète chez les patients sous ramipril versus placebo. RR 0,66 (0,51-0,85, $p < 0,001$).

Yusuf S, Gerstein H, Hoogwerf B, Pogue J, Bosch J, Wolfenbuttel BH, et al. Ramipril and the development of diabetes. JAMA. 17 oct 2001;286(15):1882-5

- L'étude NAVIGATOR (166) a suivi pendant 5 ans des sujets présentant un « pré-diabète » et des facteurs de risque cardio-vasculaires, traités par valsartan ou par placebo. L'incidence du diabète était plus faible dans le groupe traité par valsartan (hazard ratio 0,86), sans diminution du taux d'événements cardio-vasculaires par ailleurs. Le valsartan semble à la fois majorer la sécrétion d'insuline en réponse au glucose et l'insulinosensibilité (167).

- L'étude CHARM (168) a suivi pendant 2 à 4 ans des patients présentant une insuffisance cardiaque, traités par candesartan ou par placebo. Les patients traités par candesartan avaient un risque plus faible de développer un diabète (hazard ratio 0,78).

- L'effet protecteur des traitements antihypertenseurs sur le développement du diabète semble lié spécifiquement aux médicaments du système rénine-angiotensine. En effet, plusieurs études observationnelles montrent que les patients traités par inhibiteurs d'enzyme de conversion (IEC) ou antagonistes du récepteur de l'angiotensine 2 (ARA2) ont moins de risque de

développer un diabète que ceux traités par d'autres molécules antihypertensives (169–171). Une étude interventionnelle a montré que les patients hypertendus de plus de 50 ans à haut risque cardio-vasculaires traités par valsartan avaient moins de risque de diabète que ceux traités par amlodipine (inhibiteur calcique) (172). Une autre étude interventionnelle chez des patients de plus de 55 ans hypertendus avec au moins un autre facteur de risque cardio-vasculaire a montré que les patients traités par lisinopril développaient moins de diabète que ceux traités par chlorthalidone (diurétique). Une métaanalyse plus récente a confirmé que les IEC et les ARA2 diminuent le risque de développer un diabète, alors que les diurétiques augmentent légèrement ce risque (173). Une étude japonaise a même montré que le traitement par telmisartan chez des patients présentant un diabète améliore l'HbA1c de manière dose-dépendante (174).

Les raisons de l'efficacité des traitements du système rénine-angiotensine dans la prévention du diabète sont encore incomplètement connues, mais rejoignent les hypothèses citées ci-dessus sur la physiopathologie des liens entre diabètes et HTA : les IEC et ARA2 pourraient améliorer la fonction endothéliale et le flux sanguin musculaire, et donc l'insulinosensibilité, la sécrétion d'insuline en réponse au glucose (qui pourrait être expliquée par le fait qu'on améliore l'oxygénation des cellules bêta (175)) et moduleraient certaines réponses hormonales (176,177) (**figure 11**).

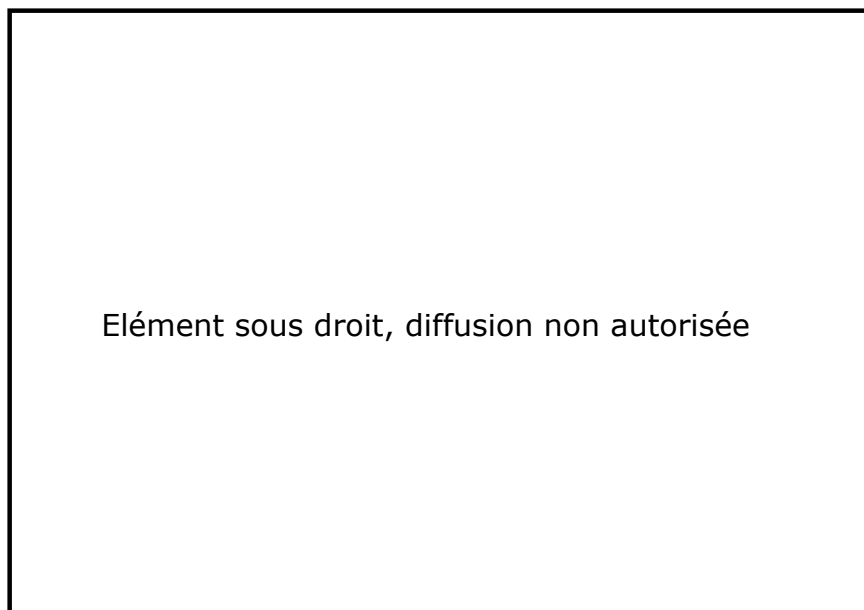


Figure 11. Mécanismes pouvant expliquer la prévention du diabète par les traitements du système rénine-angiotensine (SRA). L'HTA et les facteurs de risque cardiovasculaires sont souvent associés avec une activation du SRA. L'activation de l'angiotensine 2 induit : l'inhibition de l'activation de la voie PI3K par l'insuline ; l'inhibition de la différenciation des pré-adipocytes en adipocytes matures, ce qui diminue la sécrétion d'adiponectine et augmente la sécrétion de cytokines inflammatoires ; l'augmentation de production de ROS, ce qui induit des lésions insulaires et une dysfonction des cellules bêta ; l'activation de la voie MAPK, ce qui induit un remodelage vasculaire. Toutes ces anomalies conduisent à l'insulinorésistance.

Zhou M-S, Schulman IH. Prevention of diabetes in hypertensive patients: Results and implications from the VALUE trial. Vasc Health Risk Manag. 2009;5:361-8.

2. Diabète et anomalies des vaisseaux pancréatiques

2.1 Modèles animaux

Les études épidémiologiques montrent bien une association entre les pathologies cardiovasculaires et le diabète. De nombreux auteurs se sont donc intéressés aux potentielles anomalies vasculaires dans les modèles animaux de DT2, avec un intérêt particulier pour les vaisseaux pancréatiques et insulaires.

2.1.1 Anomalies vasculaires dans les modèles murins de diabète

- Chez des rats Zucker Diabetic Fatty (ZDF), qui développent des anomalies de régulation glycémique à partir de 8 semaines de vie et un diabète franc vers 12 semaines, une augmentation de nombre des cellules endothéliales insulaires est observée initialement, accompagnée d'anomalies de structure (disparition des fenestrations), puis le nombre de cellules endothéliales chute, jusqu'à arriver à des zones complètes sans endothelium avec des signes d'hémorragies à

14 semaines. En parallèle, des lésions insulaires globales apparaissent. Les capillaires du tissu exocrine restent normaux quel que soit l'âge des rats. L'administration de pioglitazone prévient à la fois la disparition des cellules endothéliales et l'apparition du diabète, possiblement en régulant l'expression de VEGF-A et de thrombospondine (178).

- Chez des rats Otsuka-Long-Evans-Tokushia fatty (OLETF), dont environ la moitié développe une intolérance au glucose et un surpoids, et l'autre moitié un diabète franc sans surpoids à 50 semaines de vie, les rats diabétiques ont un réseau capillaire insulaire beaucoup moins dense que les rats avec intolérance au glucose (**Figure 12**), et une masse bêta plus faible (179).

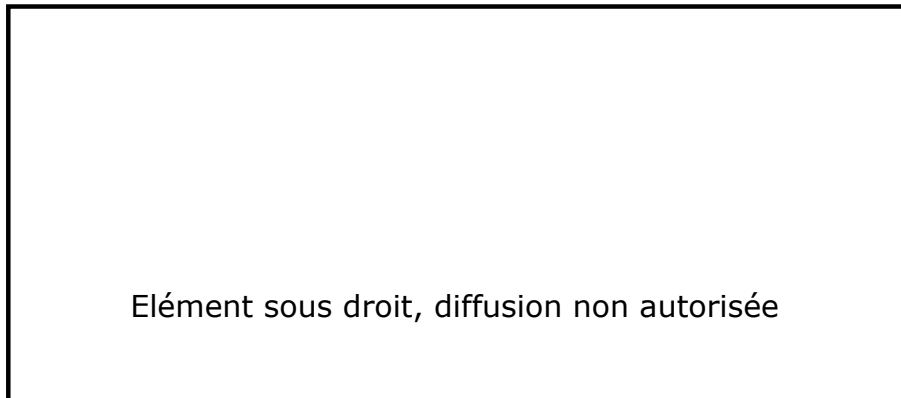


Figure 12. Photographies au microscope électronique du réseau capillaire insulaire. A : souris intolérantes au glucose, B : souris diabétiques, C : souris témoin à 54 semaines de vie.

Mizuno A, Noma Y, Kuwajima M, Murakami T, Zhu M, Shima K. Changes in islet capillary angioarchitecture coincide with impaired B-cell function but not with insulin resistance in male Otsuka-Long-Evans-Tokushima fatty rats: Dimorphism of the diabetic phenotype at an advanced age. Metabolism. 1 avr 1999;48(4):477-83.

- Chez les souris db/db, un modèle murin de DT2, les capillaires insulaires ont des diamètres souvent supérieurs et surtout plus variables que ceux observés chez les souris témoins. Les péricytes sont plus nombreux, activés, ce qui a pour conséquence l'apparition de fibrose et d'un œdème péricapillaire. Le nombre de capillaires diminue progressivement avec l'avancée en âge des souris. On observe par ailleurs des anomalies du réticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi dans les cellules bêta (180).

- Chez les rats Goto Kazikazi (rats GK, un modèle de DT2 sans obésité, avec apparition d'un diabète à partir de l'âge de 1 mois), les anomalies capillaires ressemblent à celles observées chez les souris db/db : dès l'âge de 2 mois, les capillaires sont de plus grand diamètre que chez les rats témoins, avec une grande variabilité d'un îlot à l'autre et au sein d'un même îlot, et une désorganisation du réseau capillaire. Ces anomalies sont accompagnées d'une fibrose des îlots. A 4 mois apparaît ensuite une désorganisation des îlots avec une perte d'environ 60% de la

masse bêta (181). Il est par ailleurs à noter que les cellules endothéliales, entre autres molécules, sécrètent de l'interleukine 1 bêta (IL-1bêta), qui est impliquée dans les mécanismes d'athérosclérose et d'inflammation. Lorsque l'antagoniste du récepteur de l'interleukine 1, qui inhibe donc l'action de l'IL-1bêta, est administré aux rats GK entre 4 et 8 semaines de vie, la fréquence des anomalies endothéliales et la fibrose diminuent, la qualité de la vascularisation insulaire augmente, et surtout, les glycémies sont moins élevées chez les rats traités que chez les rats témoins. Ainsi, les sécrétions endothéliales ont un effet sur la régulation glycémique (182).

- Chez des rats transgéniques Human Islet amyloid Polypeptide (HIP), qui présentent des anomalies de régulation glycémique à partir de 5 mois et un diabète déclaré entre 6 et 10 mois, on observe un élargissement de l'espace entre les cellules insulaires et les autres types cellulaires dès l'âge de 2 mois. A partir de 4 mois, on observe des anomalies péricyaires et un début de fibrose péricapillaire. A 8 mois apparaissent une apoptose des péricytes et des dépôts amyloïdes insulaires, et à 14 mois les capillaires sont très peu nombreux et les îlots sont quasiment complètement remplacés par de l'amylose. A l'inverse, le tissu exocrine reste normal (183).

- Enfin, chez des rats à qui on a administré de l'alloxan et devenus diabétiques, la lumière des capillaires insulaires est plus étroite dès 2 semaines après l'injection, avec une diminution des fenestrations, un épaississement des parois, une diminution des contacts cellulaires avec les cellules bêta, un œdème et une fibrose périvasculaire. Toutes ces anomalies s'aggravent à 2 et 4 mois après l'injection (184).

- Il est à noter qu'un modèle de souris ne présentant pas de diabète mais avec une masse bêta augmentée (par augmentation du nombre et de la taille des cellules bêta), la souris *AktTg*, présente une activation des péricytes, qui produisent des dépôts de collagène et donc de la fibrose au niveau des capillaires insulaires. Ces anomalies s'accompagnent, malgré une masse bêta augmentée, d'une moins bonne sécrétion d'insuline en réponse au glucose que chez les souris témoin, avec une sécrétion d'insuline par unité de cellule bêta diminuée, en partie en raison d'une moins bonne contractilité des vaisseaux en réponse aux stimuli neuraux qui favorisent habituellement la sécrétion d'insuline (185).

Au total, on observe des caractéristiques communes entre ces différents modèles murins de diabète : des anomalies précoces des capillaires (précédant ou apparaissant tôt dans l'histoire naturelle de l'hyperglycémie), avec notamment des variations de diamètre et des anomalies de

structures dont la perte des fenestrations, souvent accompagnées d'une fibrose et d'un œdème péricapillaire.

2.1.2 Hypothèses physiopathologiques

Ces anomalies peuvent être en partie liées aux mécanismes cités plus haut (terrain génétique favorisant la dysfonction endothéliale, remodelage vasculaire dans un contexte de stress oxydant ou de stress du réticulum endoplasmique...).

Mais d'autres hypothèses ont été proposées et testées.

Ainsi, l'hyperglycémie peut induire des anomalies vasculaires pancréatiques : Sophie Calderari, sous la direction d'E. Larger, a greffé des pancréas de poussin chez des souris avec déficit immunitaire combiné sévère (SCID) normoglycémiques ou rendues hyperglycémiques par injection de streptozotocine. Chez les souris hyperglycémiques, la densité vasculaire intrapancréatique était plus faible et la structure endothéliale très altérée par rapport aux souris normoglycémiques. L'administration d'un inhibiteur d'angiopoïétine 2 évitait en grande partie ces anomalies, ce qui montre que la sécrétion de molécules en réponse à l'hyperglycémie peut induire des anomalies vasculaires pancréatiques (186).

A l'inverse, les anomalies vasculaires pancréatiques peuvent également avoir un effet sur la régulation glycémique. Hogan *et al* (187) ont montré que les cellules endothéliales d'îlots de souris db/db ou de souris nourries en « high fat diet » produisent des molécules proinflammatoires et vasoconstrictrices. En outre, après avoir cultivé une lignée de cellules endothéliales insulaires dans des conditions diabétogènes (hyperglycémie ou palmitate), le milieu de culture de ces cellules a été utilisé pour cultiver des îlots. La production d'insuline globale de ces îlots étaient diminuées de 30%, et la production d'insuline en réponse au glucose était diminuée de 50%. Ainsi, les molécules sécrétées par les cellules endothéliales dans des conditions diabétogènes ont une influence péjorative sur la fonction des cellules bêta.

Par ailleurs, une hypoxie locale, liée à des mauvaises conditions de vascularisation, pourrait également perturber la régulation glycémique, puisqu'il a été montré que la sécrétion d'insuline dépend de la pression partielle locale en oxygène (175), et que l'hypoxie pourrait induire une dédifférenciation des cellules bêta (188).

2.1.3 Interventions sur le système rénine-angiotensine

Comme chez l'Homme, plusieurs équipes ont expérimenté les effets de l'administration de traitements du système rénine-angiotensine-aldostérone sur les anomalies vasculaires pancréatiques et sur la régulation glycémique.

- Chez des souris db/db, l'administration de candesartan (ARA2) à partir de l'âge de 8 semaines diminue la fibrose intra et péri-insulaire, prévient la perte des cellules endothéliales insulaires, améliore la tolérance au glucose, augmente la masse bêta et diminue les marqueurs de stress oxydant dans les cellules bêta (189).

- L'administration de périndopril (IEC) ou d'irbesartan (ARA2) à des rats ZDF à partir de l'âge de 10 semaines diminue la fibrose insulaire et améliore légèrement la sécrétion d'insuline en réponse au glucose (190).

- L'administration d'aliskiren (inhibiteur de la rénine) à des souris db/db augmente la masse bêta et diminue la fibrose insulaire, ce qui n'est pas le cas de l'hydralazine, un traitement antihypertenseur vasodilatateur (191).

2.2 Les anomalies de vascularisation pancréatique chez l'Homme

Chez l'Homme, les anomalies vasculaires pancréatiques sont également fréquemment observées chez les patients porteurs d'un diabète.

Dès 1904, Hoppe-Seyler a montré que les parois des petits vaisseaux intrapancréatiques sont épaissies chez les patients qui présentent un diabète, avec parfois des occlusions complètes (54). Cecil, quelques années plus tard, a montré que dans 80% des autopsies pancréatiques de patients porteurs d'un diabète, les parois des vaisseaux sont épaissies, la fréquence de ces anomalies augmentant avec l'âge (55).

Puis, entre les années 1950 et 1970, d'autres anatomo-pathologistes ont confirmé et précisé la fréquence de ces anomalies (192–194) : des anomalies des capillaires intrapancréatiques sont observées par Funk dans 1/7 à 1/3 des cas chez les patients présentant un diabète et quasiment jamais chez les témoins (195). Dans une série d'autopsies de pancréas de sujets essentiellement porteurs d'un DT2, les lésions athéromateuses et l'épaississement des parois des vaisseaux pancréatiques étaient 2 à 3 fois plus fréquentes que chez les témoins, contrairement aux lésions

vasculaires inflammatoires et thrombotiques, dont les fréquences étaient proches (196). Dans une étude portant plutôt sur des sujets avec DT1, les autopsies pancréatiques montraient des lésions vasculaires quasiment systématiques 5 ans après la découverte du diabète (197).

Par la suite, une étude a évalué les artériographies pancréatiques post-mortem de 96 sujets présentant un DT2 ou non. Les patients avec DT2 ont des artères intrapancréatiques plus irrégulières, et une densité pancréatique globale moindre que les témoins. Seuls 2% des patients ont une artériographie pancréatique complètement normale, contre 22% des témoins (198).

Plus récemment, les techniques d'immuno-histo-chimie et d'immuno-fluorescence ont permis d'étudier de façon plus précise les capillaires pancréatiques et plus particulièrement insulaires chez les patients présentant un diabète : Canzano *et al* ont comparé les autopsies de patients avec DT1 et de témoins, et ont pu montrer que le diamètre des capillaires insulaires est plus faible alors que la densité capillaire est plus importante chez les patients que chez les témoins (**Figure 13**). Dans les îlots où une sécrétion d'insuline persiste, les anomalies capillaires sont moins fréquentes. Les capillaires du pancréas exocrine sont similaires entre patients et témoins (199).

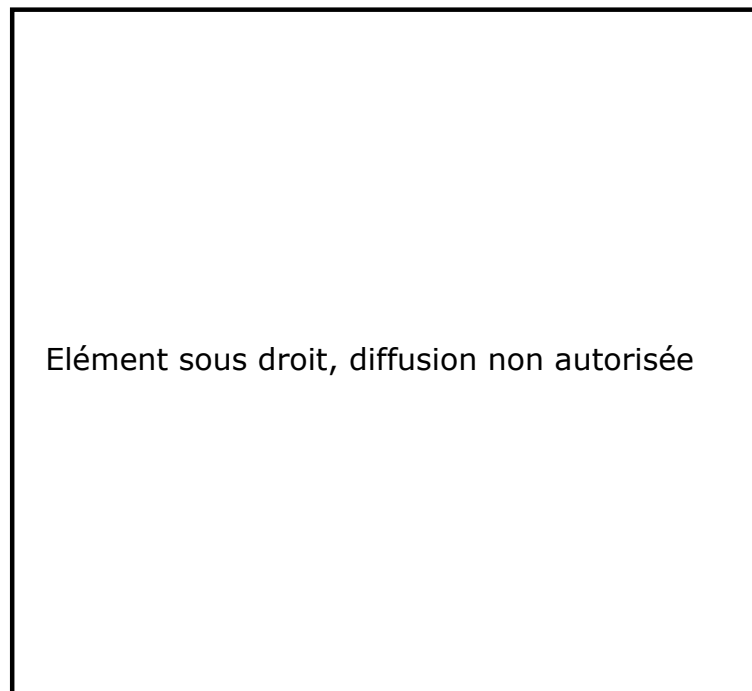


Figure 13. Vaisseaux insulaires chez des donneurs témoins ou avec DT1. A et B : témoins, C et D : DT1. Diamètre des vaisseaux inférieur, densité des vaisseaux supérieure chez les patients par rapport aux témoins. Echelle : 100µm. Vert : sécrétogranine 3. Jaune : smooth muscle actine. Bleu : insuline. Rouge : CD34.

Canzano JS, Nasif LH, Butterworth EA, Fu DA, Atkinson MA, Campbell-Thompson M. Islet Microvasculature Alterations With Loss of Beta-cells in Patients With Type 1 Diabetes. *J Histochem Cytochem.* 1 mai 2018;22155418778546.

Dans le DT2, les vaisseaux insulaires semblent également altérés, avec un épaissement des parois, des ruptures de continuité, et une densité capillaire plus importante que chez les témoins (200,201).

Cette association d'anomalies structurelles et d'une densité vasculaire plus importante après calcul sur coupes dans le DT1 et le DT2 pourrait être expliquée par un aspect plus tortueux des vaisseaux. Le fait que les capillaires soient préservés dans les îlots sécrétant encore de l'insuline est encore une fois en faveur d'un dialogue constant entre îlots et capillaires insulaires et de l'importance de la sécrétion correcte en insuline pour le maintien de la structure des vaisseaux du voisinage.

2.3 Imagerie de la perfusion pancréatique

Les progrès des dernières décennies dans les techniques d'imagerie permettent également d'étudier non seulement les vaisseaux, mais aussi le flux sanguin intrapancréatique.

En effet, l'hypothèse que les variations de flux sanguin pancréatique et insulaire pourraient refléter en partie la fonction pancréatique est évoquée depuis les années 1980. Diverses techniques (injection de microsphères, microscopie à fluorescence *in vivo*, échographie ultrarapide...) ont été utilisées d'abord sur modèles animaux pour essayer de démontrer cette relation, avec notamment la recherche de variations de perfusion après injection de glucose.

Ainsi, dès 1983, Jansson *et al* (202) ont montré que l'injection de glucose augmente le flux sanguin pancréatique total et particulièrement insulaire chez le rat, ce qu'ils ont confirmé dans d'autres études plus récentes (203,204). Cette augmentation de flux insulaire est également montrée chez la souris (205,206). De façon intéressante, la perfusion d'agonistes du GLP1 chez le rat modifie les variations de flux pancréatique en réponse à l'injection de glucose, tandis que la perfusion de peptide C, produit du clivage de la proinsuline, augmente le flux insulaire basal (207). Chez le cochon, on peut également observer par imagerie nucléaire couplée à l'IRM une augmentation de perfusion pancréatique en réponse à des injections intraveineuses de glucose. Il faut cependant noter qu'une dose suffisante de glucose (0,5g de glucose/kg) est nécessaire pour observer cet effet, ce qui peut indiquer que les techniques d'imagerie actuelles ne permettent pas toujours d'observer des variations fines de perfusion, ou que ces variations n'apparaissent que dans des conditions déjà pathologiques (208).

Chez l'humain, la mesure de perfusion pancréatique est possible par différentes modalités d'imagerie, qui ont chacune leurs qualités et leurs défauts : imagerie nucléaire (tomographie par émission de positons associée au scanner ou à l'IRM) (209,210) ; scanner de perfusion (211), ces deux dernières modalités fournissent des images de bonne qualité mais ont l'inconvénient d'être irradiantes ; IRM avec injection (212), l'injection de produit de contraste en scanner comme en IRM ayant un risque faible d'allergie et pouvant être compliquée chez des patients présentant une insuffisance rénale ; IRM - Arterial Spin Labeling (ASL) ou IRM - Blood Oxygenation Level-Dependent (BOLD) (213), des techniques d'IRM ne nécessitant pas d'injection mais manquant parfois de sensibilité (214–216) ; ou échographie de contraste (217), qui demande un personnel entraîné.

L'étude de la perfusion pancréatique après injection de glucose est par ailleurs assez limitée chez l'Homme : quelques auteurs ont analysé la perfusion pancréatique après repas tests, mais ceux-ci stimulent à la fois la fonction endocrine et exocrine (210,218). D'autres ont analysé la réponse à une ingestion de jus de fruit ou de gel de glucose (219,220), avec une majoration de plus de 30% du flux sanguin pancréatique 10 minutes après l'ingestion lors de l'analyse par IRM ASL, et une majoration du flux évaluée par IRM-BOLD. Enfin, Carlbom *et al* (221) ont montré que la perfusion pancréatique augmente après injection de glucose par voie intraveineuse.

Toutes ces études ont été réalisées sur sujets sains, mais certains auteurs ont également cherché à savoir si le flux était perturbé dans un contexte de diabète. Chez l'animal, il a été montré que chez des cochons rendus diabétiques par injection de streptozotocine, la perfusion pancréatique évaluée par imagerie nucléaire est inférieure de 46 % à celle des cochons témoins (222). De même, chez des souris traitées par streptozotocine, des anomalies de perfusion pancréatique sont observées même aux stades précoces d'intolérance au glucose sans diabète. Chez des souris Non Obese Diabetic (NOD), un autre modèle de DT1 avec inflammation des îlots, on observe des anomalies de perfusion pancréatique à l'état basal et en réponse au glucose dès l'apparition de l'insulite, avant même l'apparition du diabète. Les souris qui présentent les anomalies de perfusion les plus sévères sont d'ailleurs celles qui développent un diabète plus rapidement (205). De façon similaire, les rats Drlyp/lyp à risque de DT1 présentent une diminution de flux sanguin insulaire avant même l'apparition de l'insulite (223). A l'inverse, chez le rat GK, un modèle de DT2, l'analyse de perfusion pancréatique par injection de microsphères à 10-12 semaines de vie montre un flux pancréatique global et insulaire augmenté par rapport aux rats témoins. Après vagotomie, le flux insulaire diminue chez tous les rats, et celui des rats GK

devient similaire à celui des témoins. On peut donc penser qu'un mécanisme d'adaptation à l'hyperglycémie neuromédié est en jeu dans ce modèle (224).

Chez l'Homme, une étude a montré que la perfusion pancréatique à jeun mesurée par imagerie nucléaire est inférieure chez les patients avec DT1 par rapport à celle des témoins, et n'augmente pas en cas d'apports de glucose, contrairement à ce qui est observé chez les témoins (221). Une autre étude n'a pas montré cet effet, mais ne montrait aucune variation de perfusion après injection de glucose, y compris chez les sujets témoins, indiquant un possible manque de sensibilité de la technique d'imagerie utilisée (225). Des anomalies de perfusion pancréatique basale ont également été montrées par IRM avec contraste chez des patients présentant un DT2, avec des anomalies plus marquées chez les patients porteurs de diabète depuis plus de 10 ans (226).

Ainsi, pour résumer, des anomalies de structure et de fonction du pancréas exocrine sont fréquemment observées chez les patients présentant les diabètes « classiques » que sont le DT1 et le DT2. A l'inverse, un grand nombre de pathologies du pancréas exocrine (pancréatite chronique, cancer du pancréas, mucoviscidose) sont fréquemment associées à un type de diabète spécifique appelé diabète pancréatique. L'un des acteurs à l'interface des tissus pancréatiques endocrine et exocrine est le réseau vasculaire pancréatique. Les anomalies vasculaires pancréatiques sont plus fréquentes dans le DT1 et le DT2, et pourraient être un facteur au moins favorisant, s'il n'est pas causal, des diabètes.

**Première partie : Liens entre
pancréas exocrine et diabète
dans les maladies
pancréatiques : l'exemple de la
mucoviscidose**

La première étude de cette thèse est une contribution sur les liens entre pathologies pancréatiques et diabète. Comme nous le rapportons plus haut dans l'introduction, la mucoviscidose, une pathologie causée par des mutations du canal chlore CFTR, résulte en une maladie pulmonaire mais également pancréatique. Elle induit une dégénérescence du pancréas exocrine et une insuffisance pancréatique exocrine. Certaines mutations sont associées à des pathologies plus sévères que d'autres, les moins sévères n'aboutissant pas toujours à une insuffisance pancréatique exocrine.

Il a également été montré que la mucoviscidose s'accompagne dans environ la moitié des cas d'un diabète chez les patients adultes.

Dans notre étude, nous avons cherché à savoir si l'imagerie pancréatique au scanner était différente entre les patients présentant une mucoviscidose sans ou avec un diabète de la mucoviscidose : les patients avec un DM avaient-ils plus souvent une dégénérescence graisseuse complète du pancréas ? En étudiant les scanners, nous avons découvert qu'ils présentaient bien plus souvent des calcifications pancréatiques que les patients n'ayant pas de diabète.

Les résultats de cette étude sont présentés ci-dessous. L'article est actuellement soumis à la revue *Pancreas*, sous le titre *CT imaging shows specific pancreatic abnormalities in persons with cystic fibrosis related diabetes: a cross-sectional study*. Auteurs : L. Alexandre-Heymann, M. Puerto, C. Martin, E. Burnet, H. Mosnier-Pudar, P-R. Burgel, E. Larger.

CT IMAGING SHOWS SPECIFIC PANCREATIC ABNORMALITIES IN PERSONS WITH CYSTIC FIBROSIS RELATED DIABETES: A CROSS-SECTIONAL STUDY

Short title: Specific pancreatic abnormalities in persons with CFRD

L Alexandre-Heymann^{a,c}, M Puerto^c, C Martin^{a,b}, E Burnet^b, H Mosnier-Pudar^c, P-R Burgel^{a,b}, E Larger^{a,c}

^aUniversité de Paris, Institut Cochin, INSERM, CNRS, F-75014 Paris, France

^bService de Pneumologie, National Reference Center for Cystic Fibrosis, ERN-Lung CF Network, AP-HP, Hôpital Cochin, F-75014 Paris, France

^cService de Diabétologie, AP-HP, Hôpital Cochin, F-75014 Paris, France

Corresponding author:

Laure Alexandre-Heymann

Hôpital Cochin, Service de diabétologie, 123 boulevard de Port-Royal 75014 PARIS

Email: laure.alexandre@aphp.fr

Keywords: cystic fibrosis related diabetes, pancreas lipomatosis, pancreatic calcifications, abdominal CT, exocrine pancreatic insufficiency

Abstract

Background / objectives: Cystic fibrosis related diabetes (CFRD) is observed in 20 to 50% of adults with cystic fibrosis (CF). We hypothesized that pancreatic imaging may differ between participants with and without CFRD.

Methods: Retrospective study comparing the abdominal ultrasounds and computed tomography (CT) of participants with CF with or without CFRD (“CFRD” and “CF control (CFC)” groups, respectively). The main outcome was the presence of complete lipomatosis of the pancreas. The secondary outcome was the presence of pancreatic calcifications.

Results: Forty-four CFRD participants and 58 CFC participants were included. Thirty-seven percent of the abdominal ultrasounds results were either uninterpretable or discordant with the CT results. Therefore, only the CT were analyzed. Seventy-one percent of CFRD participants presented with complete pancreatic lipomatosis, versus 57% of CFC participants ($p = 0.0016$), but this was related to the higher proportion of exocrine pancreatic insufficiency and of severe CFTR mutations in CFRD participants. Unexpectedly, 9 CFRD participants (22%) presented with pancreatic calcifications, versus none of the CFC participants ($p = 0.0003$).

Conclusions: Complete pancreatic lipomatosis was more prevalent in CFRD than in CFC participants, in whom it was still a very frequent occurrence. A more distinctive feature was the presence of pancreatic calcifications.

1. Introduction

Cystic fibrosis (CF) affects about one out of every 3,000 newborns of Northern European ancestry. It is a multisystem disease that can affect the respiratory tract, the gastrointestinal tract, the gonads, the liver, and the pancreas. Lesions of the exocrine pancreas are one of the hallmarks of CF, but disorders of the endocrine pancreas can also occur: one of the common complications of CF is cystic fibrosis related diabetes (CFRD), a specific form of diabetes. CFRD is found in 2% of children, 7 to 20% of adolescents, and 20 to 50% of adults with CF [1–3] and is more often seen in women than in men. CFRD can lead to classic diabetes microvascular complications such as retinopathy or nephropathy [4] but is also associated with overall worse clinical status and worse pulmonary function [1,5,6]. Until very recently, the mortality rate was significantly higher in persons with CFRD than in persons without diabetes [7] but the situation has been improving for the last few years, which is likely due to improved screening and treatment of CFRD [2,8]. Hence, CFRD has to be diagnosed as early as possible. Unfortunately, diagnosing CFRD can prove quite difficult since 10 to 50% of persons with CFRD have diabetes without fasting hyperglycemia [9] and HbA_{1c} does not correlate well with mean plasma glucose in these persons [10]. Repeated oral glucose tolerance test [11,12] and continuous glucose monitoring [13] are thus used to screen for CFRD in persons with CF.

Persons with CF are known to present with structural abnormalities of the exocrine pancreas such as cysts, fatty replacement, atrophy, or fibrosis of the exocrine gland. These abnormalities can be detected on abdominal ultrasounds (AUS), computed tomography (CT) or magnetic resonance imaging [14–17]. Since abnormalities of the exocrine pancreas are described and visible by abdominal imaging in type 1 and type 2 diabetes [18], it has been hypothesized that, in persons with CF, pancreatic imaging may differ between persons with and without CFRD. However, only a few studies have looked for an association between CFRD and the morphology of the pancreas: Iannuci *et al* [19] showed that even though all persons with CF had fatty replacement of the exocrine pancreas, persons without CFRD still had some healthy exocrine tissue around their Langerhans islets, which was not found in persons with CFRD. Other studies [20–22], conducted on small series of participants, showed that fatty replacement and atrophy are very frequent observations in persons with CF. These studies found no difference between persons with and without CFRD.

Hence, the aim of our study was to evaluate the pancreatic findings on abdominal imaging performed routinely in participants with CF with or without CFRD, and their possible association with diabetes.

2. Methods

2.1 Subjects

We performed a retrospective study comparing participants with CF, with or without CFRD. It was conducted at the adult National Referral Center for Cystic Fibrosis (Cochin Hospital, Paris), which followed over 500 adults with CF in 2019.

Participants were eligible if they had CF, were older than 18 years, and had undergone at least one type of abdominal imaging between 2008 and 2016 (*i.e.* conventional AUS, abdominal CT or abdominal slices of thoracic CT performed without contrast media injection) in Cochin hospital, Paris. Using the data available from previous studies [20,21], we estimated that we needed at least 35 participants in each group in order to detect a difference between the groups (anticipated prevalence of partial or complete lipomatosis of the pancreas in participants without CFRD: 70%, in participants with CFRD: 95%, alpha risk: 0.05, study power: 80%).

The participants were randomly selected from the large database established by the Reference Center for Cystic Fibrosis until 60 participants with CFRD (diagnosed before their last available abdominal imaging was performed) and 60 participants with CF but without diabetes were included, in order to retain enough participants after exclusion.

All clinical and biological data were extracted from the participants' electronic medical records.

The diagnosis of diabetes was based on the following criteria: fasting glycemia > 7 mmol/L on two different samplings AND/OR > 11 mmol/L, 2 hours after a 75g oral glucose tolerance test (OGTT), AND/OR an already ongoing treatment for diabetes (oral treatment or insulin) at first appointment.

Participants diagnosed with diabetes were classified as participants with diabetes (CFRD group), while the others were classified as participants without diabetes (CF "control" (CFC) group).

Participants were excluded if they met with one of the following exclusion criteria: a history of lung transplantation; a history of treatment with oral corticosteroids for any reason in the year prior to the abdominal imaging; or the lack of recent medical records in the hospital database (maximum two years before the abdominal imaging).

Two participants from the CF group were excluded because they had a history of lung transplantation. In the CFRD group, 8 participants were excluded because they had a history of lung transplantation, 4 because they had been treated by oral corticosteroids in the previous year, and 4 because a recent medical record was not available.

CFC group participants' blood test results from 2017 to 2019 were also reviewed, to find out if participants from the CFC group developed CFRD after the study endpoint.

This was a retrospective study, using existing clinical data only. According to the ethics regulation and French law, all the included participants were informed of the study and could oppose to being included in the study, and all the medical data were anonymized. The database was registered with the Commission Nationale Informatique et Libertés (CNIL) registration number: 2203351v0. The study was approved by the Institutional Review Board of The French learned Society for Respiratory Medicine (Société de Pneumologie de Langue Française) (#CEPRO 2020-052).

2.2 Materials and Methods

2.2.1 Abdominal imaging

All the CT scans were assessed by two practitioners, who were blinded to the CFRD or CFC status of the participants. The CT were classified according to the following categories:

A: normal pancreas; B: partial lipomatosis of the pancreas (pancreas still visible, although hypotrophic); C: complete lipomatosis of the pancreas (no visible pancreas on the CT images) (**Fig. 1, top row**). In addition, the presence of pancreatic calcifications was assessed (**Fig. 1, bottom row**).

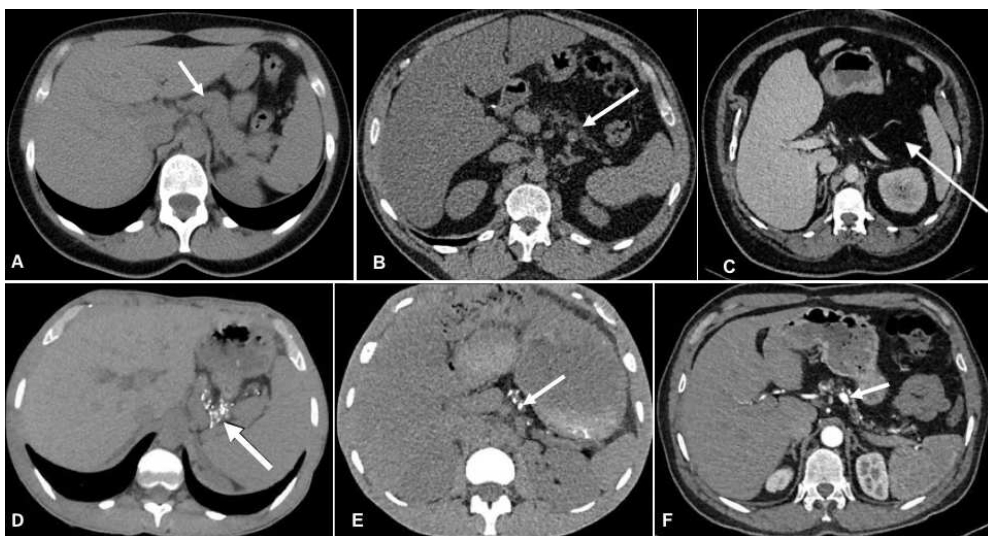


Figure 1. Computed tomography without contrast.

Top row: Different degrees of pancreas lipomatosis. (a) Normal pancreas (b) Partial lipomatosis of the pancreas. (c) Complete lipomatosis of the pancreas (white arrow shows the visually empty pancreatic area.)

Bottom row: three examples of pancreatic calcifications (arrows). Of note, all images of bottom row show partial lipomatosis of the pancreas.

AUS images could not be reviewed as they were captured in real-time. Therefore, written reports were used to classify the results according to the following categories: A: normal pancreas; B: partial lipomatosis of the pancreas (pancreas described as hypotrophic and/or hyperechoic); C: complete lipomatosis of the pancreas (complete lipomatosis of the pancreas specifically noted on the report); D: pancreatic cyst(s) (presence of pancreatic cyst(s) in a pancreas otherwise described as normal); E: pancreas “not visualized” (which could either mean complete lipomatosis of the pancreas or difficult conditions of imaging); F: uninterpretable results (described as uninterpretable in the report, usually because of intestinal or air interpositions).

2.2.2 Exocrine pancreatic insufficiency

Exocrine pancreatic insufficiency was assessed and deemed present if fecal elastase-1 was $< 200 \mu\text{g/g}$ AND/OR if the patient was already taking pancreatic enzyme replacement therapy.

2.2.3 CFRD mutations

CFRD mutations were classified as severe (classes I to III) or moderate (classes IV to VI) [23,24], (The Clinical and Functional TRanslation of CFTR (CFTR2); available at <http://cftr2.org>.) Participants were then classified as having 0, 1 or 2 severe CFTR mutations.

2.3 Statistical analysis

Statistics were performed using Graphpad Prism 5 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Data are presented as mean and standard deviation (SD) for normally distributed variables, and as median and interquartile range (IQR) for variables with a non-normal distribution. For continuous variables, unpaired t-test was used when 2 groups of normally distributed variables were compared, and one-way ANOVA was used when more than 2 groups were compared. Mann-Whitney test was used when 2 groups of variables with a non-normal distribution were compared, and Kruskal-Wallis test was used when more than 2 groups were compared. For categorical variables, Fisher’s exact test was used when 2 groups were compared and Chi-square was used when more than 2 groups were compared.

When data was missing, the number of analysable participants for the concerned variable was reported in the corresponding table.

3. Results

Forty-four participants with CFRD and 58 participants with CF but without CFRD were analyzed. The median age was 32 years, 55% of the participants were men. The participants with CFRD were older than the participants from the CFC group (34 vs 31 years), presented more often with exocrine pancreatic insufficiency and with 2 severe *CFTR* mutations than the participants from the CFC group (**Table 1**).

	CFC	CFRD	p
	participants	participants	
	N = 58	N = 44	
Age years, median (IQR)	31 (25-37)	34 (30-38)	0.04
Men n (%)	32 (55)	24 (55)	1
BMI ^a kg/m ² : mean (SD)	22.1 (3.1)	21.2 (3.0)	0.2
Exocrine pancreatic insufficiency ^b n (%)	44 (79)	44 (100)	0.001
Two severe <i>CFTR</i> mutations n (%)	41 (71)	42 (95)	0.006
Blood tests (until 2016)			
Highest known HbA _{1c} ^c %: median (IQR)	5.7 (5.4-5.9)	7.5 (6.9-8.4)	<0.001
Highest known HbA _{1c} ^c mmol/mol: median (IQR)	39 (36-41)	58 (52-68)	
Highest known fasting glycemia ^d mmol/L: median (IQR)	4.95 (4.95-5.50)	7.7 (6.05-10.45)	<0.001

Table 1. Clinical characteristics of the participants

CFC: participants with cystic fibrosis but without diabetes (CF control participants). CFRD: cystic fibrosis related diabetes. IQR: interquartile range. BMI: body mass index. SD: standard deviation. OGTT: oral glucose tolerance test.

^aAvailable in 56 CFC and 39 CFRD participants. ^bKnown in 56 CFC and 44 CFRD participants. ^cAvailable in 50 CFC and 37 CFRD participants. ^dAvailable in 55 CFC and 40 CFRD participants.

Statistical tests used in this table:

For age, HbA_{1c} and glycemias: Mann-Whitney test; for gender-ratio, presence of exocrine pancreatic insufficiency and of 2 severe *CFTR* mutations: Fisher's exact test; for BMI: unpaired t-test.

3.1 Ultrasounds

In 8 participants (8% of the whole population of our study), AUS was the only abdominal imaging modality available. In 90 participants (88% of the whole population of our study), both AUS and CT were available.

Nine AUS were described as uninterpretable because of air or intestinal interpositions, and AUS and CT results were discordant in 24 participants. Thus, among the participants with both AUS and CT available, 37% of the AUS results were either uninterpretable or discordant with the CT results (**Table 2**). It must also be noted that, when the participants had multiple abdominal AUS, the results were very variable from one assessment to the other (data not shown).

Therefore, only the results of the CT scans were used for the rest of this study.

Computed Tomography (CT) Ultrasounds	Normal	Partial or complete lipomatosis of the pancreas	No CT available
	Normal	14	17
Partial or complete lipomatosis of the pancreas, or « pancreas not visualized »	2	43	5
Pancreatic cyst	0	5	2
Uninterpretable	1	8	0
No abdominal ultrasounds available	0	4	

Table 2. Concordance between ultrasounds and computed tomography

3.2 Comparison between participants with and without CFRD

CT was available in 94 participants: 41 participants from the CFRD group (24 abdominal CT and 17 thoracic CT with abdominal slices) and 53 participants from the CFC group (20 abdominal CT and 33 thoracic CT with abdominal slices).

Fifty-seven percent of the participants from the CFC group presented with complete lipomatosis of the pancreas, versus 71% of the participants from the CFRD group ($p = 0.0016$). Virtually all participants with CFRD presented with at least partial pancreatic lipomatosis (**Fig. 2(a)**).

Since exocrine pancreatic insufficiency is an important risk factor for the development of CFRD [25], we also compared the participants with CFRD and the subgroup of CFC participants who specifically presented with exocrine pancreatic insufficiency. CT was available in 36 of those participants. Seventy-two percent of them

presented with complete lipomatosis of the pancreas, which was not different from the participants with CFRD (Fig. 2(b)).

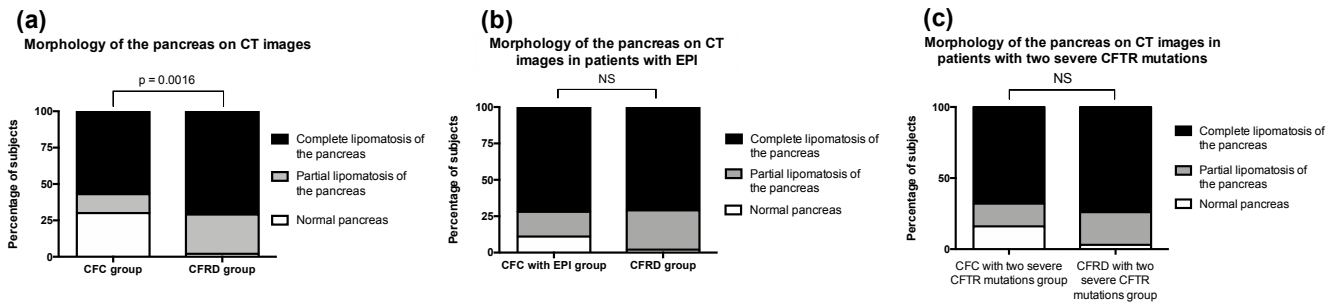


Figure 2. Morphology of the pancreas on CT images in participants with CF without CFRD (CFC group) or with CFRD (CFRD group).

(a) Comparison between the participants from the CFC group and the participants with CFRD.

(b) Comparison between the participants from the CFC subgroup who presented with EPI (CFC with EPI group) and the participants with CFRD.

(c) Comparison between the participants from the CFC and CFRD subgroups who presented with 2 severe mutations of CFTR.

EPI: exocrine pancreatic insufficiency. Black: complete lipomatosis of the pancreas. Grey: partial lipomatosis of the pancreas. White: normal pancreas. CT was available in 41 participants with CFRD, 53 participants from the CFC group, 36 CFC participants with EPI, 39 CFRD participants with 2 severe mutations, and 38 CFC participants with 2 severe mutations.

Statistical tests used in this figure: Chi-square tests.

Since genotype severity is also related to the presence of CFRD [26], we compared the CFRD and CFC participants who specifically presented with two severe CFTR mutations. CT was available in 39 and 38 of those participants, respectively. Seventy-four percent of subjects with CFRD and two severe mutations presented with complete lipomatosis of the pancreas, versus 68% of CFC subjects with two severe mutations, and the difference between the groups was not statistically significant (Fig. 2(c)).

Unexpectedly, 9 participants (22% of the participants with CFRD) presented with pancreatic calcifications, versus none of the CFC participants ($p = 0.0003$). None of these 9 participants presented with a history of acute pancreatitis. The pattern of calcifications was heterogeneous: some participants presented with small and numerous calcifications scattered among the remaining pancreas (Fig. 1(d)), while other presented with only one or several voluminous calcifications (Fig. 1(f)).

Calcifications were often associated with small parts of remaining pancreatic tissue visible on CT scan. Thus, in the CFRD group, the percentage of participants with complete pancreatic lipomatosis was lower in the subgroup with pancreatic calcifications than in the subgroup without pancreatic calcifications. No other clinical difference was found between those two subgroups (Table 3).

	No calcification	Calcifications	p
	N = 32	N = 9	
Age years: median (IQR)	34 (30-42)	34 (29-38)	0.9
Men n (%)	15 (47)	7 (78)	0.14
BMI ^a kg/m ² : mean (SD)	21.1 (3.1)	21.3 (2.3)	0.86
Two severe CFTR mutations n (%)	30 (94)	9 (100)	1
Age at diagnosis of diabetes years: median (IQR)	23 (17-29)	21 (14-25)	0.24
Duration of diabetes at time of abdominal imaging years: median (IQR)	12.5 (8.8-14.3)	12 (1.5-20.5)	0.9
Highest known HbA _{1c} ^b %: median (IQR)	7.6 (6.9-8.8)	7.1 (6.3-8.6)	0.36
Highest known HbA _{1c} mmol/mol: median (IQR)	60 (52-73)	54 (45-70)	
Currently treated with insulin n (%)	29 (91)	8 (89)	1
Complete pancreatic lipomatosis on CT n (%)	26 (81)	3 (33)	0.01

Table 3. Clinical characteristics of the participants with CFRD, with or without calcifications on CT images.

IQR: interquartile range. BMI: body mass index. SD: standard deviation.

^aAvailable in 27 participants without calcifications and 9 with calcifications. ^bAvailable in 31 participants without calcifications and 5 with calcifications.

Statistical tests used in this table:

For age and age at diagnosis of diabetes: Mann-Whitney test; for gender-ratio, presence of 2 severe CFTR mutations, of treatment with insulin and of complete pancreatic lipomatosis: Fisher's exact test; for BMI and number of years of treatment by oral antidiabetics: unpaired t-tests.

Besides, 3 participants from the CFC group, *i.e.* participants without diabetes until 2016, were diagnosed with diabetes between 2016 and 2019. They were respectively 56, 32, and 21 years old at diagnosis of diabetes. All of them had exocrine pancreatic insufficiency. The oldest patient had only one severe mutation of CFTR, the other participants had 2 severe mutations of CFTR. Two participants had complete lipomatosis of the pancreas on the CT scans performed respectively 2 years and 1 year before diabetes was diagnosed. However, the 32-year-old patient, who presented with fasting hyperglycemia but a normal HbA_{1c}, had a normal abdominal CT 2 years and an AUS deemed as normal 1 year before being diagnosed with diabetes.

3.3 Comparison between participants with and without complete pancreatic lipomatosis on CT scan

Irrespective of CFRD or CFC group, 17 participants had a normal pancreas on CT, 18 presented with partial pancreatic lipomatosis and 59 presented with complete pancreatic lipomatosis. Age, gender ratio and BMI were similar between the 3 groups. Only 6% of the participants with a normal CT presented with CFRD, versus 61% and 52% of the participants with partial and complete pancreatic lipomatosis, respectively ($p = 0.0016$). Exocrine pancreatic insufficiency was observed in only 29% of the participants with a normal pancreas on CT images versus in 94% and 95% of the participants with partial and complete pancreatic lipomatosis, respectively ($p < 0.0001$). Conversely, 71 % of the participants with exocrine pancreatic insufficiency presented with complete lipomatosis of the pancreas, versus 19% of the participants without exocrine pancreatic insufficiency ($p < 0.0001$).

Nine percent of the patients with two severe CFTR mutations had a normal pancreas on CT scan, versus 63% of the patients with only one severe CFTR mutation. Seventy-two percent of the patients with two severe CFTR mutations had complete pancreatic lipomatosis, versus 19% of the patients with only one severe mutation ($p < 0.0001$).

4. Discussion

In this study comparing adult participants with CF with or without CFRD, there were several differences between participants with and without CFRD, including a higher prevalence of complete lipomatosis of the pancreas in participants with CFRD related to a more severe genotype in this group, and the presence of pancreatic calcifications in about one-quarter of participants with CFRD, versus in none of the participants from the CFC group.

In order to evaluate pancreatic morphology, we had first planned to use both CT and AUS imaging, but conventional AUS results were not reproducible and were often discordant with the CT results. This question had already been raised in studies that compared conventional AUS and CT scan for the evaluation of pancreatic adenocarcinoma, with conflicting results [27,28]. Therefore, conventional AUS should not be chosen to evaluate the state of the pancreas in persons with CF.

The pancreas could be assessed in most of the participants on abdominal slices of routine thoracic CT performed for lung disease assessment. It must be noted that the pancreas was described in the original CT report in only one-

third of the thoracic CT scans, although it was assessable in 95% of the cases. That the pancreas can be assessed on routine thoracic CT using distal sections is an important finding, since radiation exposure can be high in persons with CF: pancreas evaluation was possible without supplementary exams in most participants with CF, thus avoiding further irradiation.

The prevalence of complete lipomatosis of the pancreas in the present study was comparable to the one reported by Sequeiros *et al*, who used MRI: in the latter work, that involved only 13 participants with CFRD and 16 participants with CF without CFRD, the prevalence of complete lipomatosis of the pancreas was 77% in participants with CFRD and 69% in participants without CFRD (versus 71% and 57% respectively in the present study).

Thus, participants with CFRD presented more often with complete lipomatosis of the exocrine pancreas than participants from the CFC group. But this was explained by the overall more severe genotype in the CFRD group than in the CFC group: when subjects with or without CFRD, with two severe CFTR mutations were compared, the prevalence of pancreatic lipomatosis did not differ between groups. This was also true when subjects with CFRD were compared with subjects with CFC and exocrine pancreatic insufficiency.

Complete pancreatic lipomatosis could thus hardly be used as a distinctive criterion for persons with CFRD, all the more since one of the participants from the CFC group that developed diabetes afterwards had a normal abdominal CT scan 3 years before being diagnosed with diabetes.

Finally, a noteworthy result of this study is that pancreatic calcifications were found in almost one-fourth of participants with CFRD and were not seen in participants without CFRD. Participants with pancreatic calcifications presented more often with remaining zones of exocrine pancreatic tissue. No clinical difference was observed between participants with and without calcifications. To our knowledge, the association between CFRD and pancreatic calcifications has been hinted at since 1963 [29] but has never been evaluated in large series of adult persons with CFRD. A study including 60 participants with CF older than 5 years old showed a prevalence of pancreatic calcifications of 8%. Eighty percent of the participants with pancreatic calcifications had at least glucose intolerance [30]. Interestingly, in non CF persons with chronic pancreatitis, people with pancreatic calcifications are more at risk of diabetes than people without calcifications [31]. Therefore, we reckon that the incidental discovery of pancreatic calcifications could be used as a warning signal for physicians to look for diabetes in persons with CF.

Our study bears several limitations. Participants with and without CFRD were not matched for gender, age or BMI. This could induce a bias in the interpretation of results. However, the gender-ratio and BMI were very similar between the two groups, and though the mean age of the participants was different between the two groups, it was still quite close and this difference is unlikely to have affected our results.

Moreover, it was a retrospective study and the number of participants with pancreatic calcifications was small. Therefore, these observations need to be confirmed in larger prospective series of adult persons with CF.

5. Conclusion

Conventional US and CT results were often discordant for the evaluation of pancreas integrity in persons with CF. Abdominal CT, including abdominal slices of thoracic CT, was more effective and should be preferred for pancreas assessment in persons with CF. Complete pancreatic lipomatosis was more often seen in participants with CFRD than in participants without, due to an overall more severe genotype in the CFRD group. A more distinctive finding was the presence of pancreatic calcifications, found in almost one in four participants with CFRD and not in participants without CFRD. If these results are confirmed in other studies, the presence of calcifications might be used as a warning signal and a trigger to look more closely for diabetes in persons with CF.

Acknowledgements

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Declaration of interest: none.

References

- [1] Marshall BC, Butler SM, Stoddard M, Moran AM, Liou TG, Morgan WJ. Epidemiology of cystic fibrosis-related diabetes. *J Pediatr* 2005;146:681–7. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2004.12.039>.
- [2] Moran A, Dunitz J, Nathan B, Saeed A, Holme B, Thomas W. Cystic fibrosis-related diabetes: current trends in prevalence, incidence, and mortality. *Diabetes Care* 2009;32:1626–31. <https://doi.org/10.2337/dc09-0586>.
- [3] Rana M, Munns CF, Selvadurai HC, Simonds S, Cooper PJ, Woodhead HJ, et al. Increased detection of cystic-fibrosis-related diabetes in Australia. *Arch Dis Child* 2011;96:823–6. <https://doi.org/10.1136/adc.2010.208652>.
- [4] Schwarzenberg SJ, Thomas W, Olsen TW, Grover T, Walk D, Milla C, et al. Microvascular complications in cystic fibrosis-related diabetes. *Diabetes Care* 2007;30:1056–61. <https://doi.org/10.2337/dc06-1576>.

- [5] Koch C, Rainisio M, Madessani U, Harms HK, Hodson ME, Mastella G, et al. Presence of cystic fibrosis-related diabetes mellitus is tightly linked to poor lung function in patients with cystic fibrosis: data from the European Epidemiologic Registry of Cystic Fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2001;32:343–50.
- [6] Leclercq A, Gauthier B, Rosner V, Weiss L, Moreau F, Constantinescu AA, et al. Early assessment of glucose abnormalities during continuous glucose monitoring associated with lung function impairment in cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros* 2014;13:478–84. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2013.11.005>.
- [7] Adler AI, Shine B, Haworth C, Leelarathna L, Bilton D. Hyperglycemia and death in cystic fibrosis-related diabetes. *Diabetes Care* 2011;34:1577–8. <https://doi.org/10.2337/dc10-2289>.
- [8] Knudsen KB, Mathiesen ER, Eriksen V, Skov M, Nielsen KG, Johannesen J, et al. The development of diabetes among Danish cystic fibrosis patients over the last two decades. *Pediatr Diabetes* 2015;16:219–26. <https://doi.org/10.1111/pedi.12143>.
- [9] Frohnert BI, Ode KL, Moran A, Nathan BM, Laguna T, Holme B, et al. Impaired fasting glucose in cystic fibrosis. *Diabetes Care* 2010;33:2660–4. <https://doi.org/10.2337/dc10-0613>.
- [10] Gilmour JA, Sykes J, Etechells E, Tullis E. Cystic Fibrosis-Related Diabetes Screening in Adults: A Gap Analysis and Evaluation of Accuracy of Glycated Hemoglobin Levels. *Can J Diabetes* 2019;43:13–8. <https://doi.org/10.1016/j.jcjd.2018.04.008>.
- [11] Brodsky J, Dougherty S, Makani R, Rubenstein RC, Kelly A. Elevation of 1-hour plasma glucose during oral glucose tolerance testing is associated with worse pulmonary function in cystic fibrosis. *Diabetes Care* 2011;34:292–5. <https://doi.org/10.2337/dc10-1604>.
- [12] Schmid K, Fink K, Holl RW, Hebestreit H, Ballmann M. Predictors for future cystic fibrosis-related diabetes by oral glucose tolerance test. *J Cyst Fibros* 2014;13:80–5. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2013.06.001>.
- [13] Schiaffini R, Brufani C, Russo B, Fintini D, Migliaccio A, Pecorelli L, et al. Abnormal glucose tolerance in children with cystic fibrosis: the predictive role of continuous glucose monitoring system. *Eur J Endocrinol* 2010;162:705–10. <https://doi.org/10.1530/EJE-09-1020>.
- [14] Lugo-Olivieri CH, Soyer PA, Fishman EK. Cystic fibrosis: spectrum of thoracic and abdominal CT findings in the adult patient. *Clin Imaging* 1998;22:346–54.
- [15] Lavelle LP, McEvoy SH, Ni Mhurchu E, Gibney RG, McMahon CJ, Heffernan EJ, et al. Cystic Fibrosis below the Diaphragm: Abdominal Findings in Adult Patients. *Radiographics* 2015;35:680–95. <https://doi.org/10.1148/rg.2015140110>.
- [16] Graham N, Manhire AR, Stead RJ, Lees WR, Hodson ME, Batten JC. Cystic fibrosis: ultrasonographic findings in the pancreas and hepatobiliary system correlated with clinical data and pathology. *Clin Radiol* 1985;36:199–203. [https://doi.org/10.1016/s0009-9260\(85\)80120-3](https://doi.org/10.1016/s0009-9260(85)80120-3).
- [17] Tham RT, Heyerman HG, Falke TH, Zwinderman AH, Bloem JL, Bakker W, et al. Cystic fibrosis: MR imaging of the pancreas. *Radiology* 1991;179:183–6. <https://doi.org/10.1148/radiology.179.1.2006275>.
- [18] Alexandre-Heymann L, Mallone R, Boitard C, Scharfmann R, Larger E. Structure and function of the exocrine pancreas in patients with type 1 diabetes. *Rev Endocr Metab Disord* 2019:1–21. <https://doi.org/10.1007/s11154-019-09501-3>.
- [19] Iannucci A, Mukai K, Johnson D, Burke B. Endocrine pancreas in cystic fibrosis: an immunohistochemical study. *Hum Pathol* 1984;15:278–84. [https://doi.org/10.1016/s0046-8177\(84\)80191-4](https://doi.org/10.1016/s0046-8177(84)80191-4).
- [20] Soyer P, Spelle L, Pelage J-P, Dufresne A-C, Rondeau Y, Gouhiri M, et al. Cystic Fibrosis in Adolescents and Adults: Fatty Replacement of the Pancreas—CT Evaluation and Functional Correlation. *Radiology* 1999;210:611–5. <https://doi.org/10.1148/radiology.210.3.r99mr08611>.
- [21] Feigelson J, Pécau Y, Poquet M, Terdjman P, Carrère J, Chazalotte JP, et al. Imaging changes in the pancreas in cystic fibrosis: a retrospective evaluation of 55 cases seen over a period of 9 years. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;30:145–51. <https://doi.org/10.1097/00005176-200002000-00010>.
- [22] Sequeiros IM, Hester K, Callaway M, Williams A, Garland Z, Powell T, et al. MRI appearance of the pancreas in patients with cystic fibrosis: a comparison of pancreas volume in diabetic and non-diabetic patients. *Br J Radiol* 2010;83:921–6. <https://doi.org/10.1259/bjr/24009651>.
- [23] Sosnay PR, Siklosi KR, Van Goor F, Kaniecki K, Yu H, Sharma N, et al. Defining the disease liability of variants in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. *Nat Genet* 2013;45:1160–7. <https://doi.org/10.1038/ng.2745>.
- [24] Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Cystic Fibrosis. *New England Journal of Medicine* 2005;352:1992–2001. <https://doi.org/10.1056/NEJMra043184>.
- [25] Geffner ME, Lippe BM, Kaplan SA, Itami RM, Gillard BK, Levin SR, et al. Carbohydrate tolerance in cystic fibrosis is closely linked to pancreatic exocrine function. *Pediatr Res* 1984;18:1107–11. <https://doi.org/10.1203/00006450-198411000-00011>.
- [26] Castellani C, Cuppens H, Macek M, Cassiman JJ, Kerem E, Durie P, et al. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J Cyst Fibros* 2008;7:179–96. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2008.03.009>.

- [27] Kamin PD, Bernardino ME, Wallace S, Jing BS. Comparison of ultrasound and computed tomography in the detection of pancreatic malignancy. *Cancer* 1980;46:2410–2. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19801201\)46:11<2410::aid-cncr2820461118>3.0.co;2-b](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19801201)46:11<2410::aid-cncr2820461118>3.0.co;2-b).
- [28] Barkin J, Vining D, Miale A, Gottlieb S, Redlhammer DE, Kalser MH. Computerized tomography, diagnostic ultrasound, and radionuclide scanning. Comparison of efficacy in diagnosis of pancreatic carcinoma. *JAMA* 1977;238:2040–2.
- [29] Harris GB, Neuhauser EB, Shwachman H. ROENTGENOGRAPHIC SPECTRUM OF CYSTIC FIBROSIS. *Postgrad Med* 1963;34:251–65. <https://doi.org/10.1080/00325481.1963.11694841>.
- [30] Iannaccone G, Antonelli M. Calcification of the pancreas in cystic fibrosis. *Pediatr Radiol* 1980;9:85–9. <https://doi.org/10.1007/BF00977670>.
- [31] Malka D, Hammel P, Sauvanet A, Rufat P, O’Toole D, Bardet P, et al. Risk factors for diabetes mellitus in chronic pancreatitis. *Gastroenterology* 2000;119:1324–32. <https://doi.org/10.1053/gast.2000.19286>.

Deuxième partie : Diabète, vascularisation pancréatique et pancréas exocrine

Chapitre 1 : Chez l'Homme : anomalies des artères à destinée pancréatique chez des patients présentant un diabète de type 2

Nous avons ensuite cherché à étudier les liens entre vascularisation pancréatique et diabète. Comme nous le rapportions dans l'introduction, les anomalies des petits vaisseaux au sein du pancréas sont décrites depuis de nombreuses années. Mais les connaissances sur les vaisseaux irrigant le pancréas sont peu nombreuses. L'étude de Kauppila *et al* (198) avait montré sur des artériographies post mortem que les artères vascularisant le pancréas présentaient souvent des irrégularités et des réductions de diamètre. Nous avons cherché à savoir si ces anomalies pouvaient être observées sur une imagerie en coupe *in vivo*. Nous avons ainsi comparé les scanners abdominaux injectés de patients présentant un DT2 et de témoins, et avons confirmé que les calcifications de l'artère splénique, qui irrigue la queue du pancréas, sont plus fréquentes, et que l'arbre vasculaire pancréatique est moins dense chez les patients que chez les témoins.

Cette étude, intitulée *Patients with type 2 diabetes present with multiple anomalies of the pancreatic arterial tree on abdominal computed tomography: comparison between patients with type 2 diabetes and a matched control group* a été publiée dans Cardiovascular Diabetology en août 2020. Auteurs : Laure Alexandre-Heymann, Matthias Barral, Anthony Dohan, Etienne Larger (227).

ORIGINAL INVESTIGATION

Open Access



Patients with type 2 diabetes present with multiple anomalies of the pancreatic arterial tree on abdominal computed tomography: comparison between patients with type 2 diabetes and a matched control group

Laure Alexandre-Heymann^{1,2*} , Matthias Barral³, Anthony Dohan^{2,3,4} and Etienne Larger^{1,2,4}

Abstract

Background: Studies suggest that cardio-vascular risk factors could foster the development of type 2 diabetes (T2D). This could partly be mediated by pancreatic atherosclerosis resulting in pancreatic ischemia. We hypothesized that patients with T2D present with more severe atherosclerosis of pancreas-bound arteries than control patients without T2D.

Methods: We performed a retrospective study comparing the abdominal computed tomography of patients with T2D and of control subjects matched for gender and for age. We performed a multivariate logistic regression with adjustment for age, gender, BMI and the presence or absence of hypertension.

Results: Forty-eight patients with T2D and 48 control subjects were included. A calcification score of the splenic artery was defined (from 0: no calcification to 3: continuous linear calcifications). Seventeen percent of the patients with T2D presented with a high calcification score (i.e. 2 or 3), versus only 2% of the control subjects ($p=0.04$). The mean number of pancreas-bound branches among the greater pancreatic artery, dorsal pancreatic artery and inferior pancreatic artery (from 0 to 3) was lower in patients with T2D than in control subjects (1.1 vs 1.7, $p=0.003$). The mean number of visible intrapancreatic arterial subdivisions (from 0 to 2) was lower in patients with T2D than in control subjects (0.7 vs 1.3, $p=0.0017$). All these differences hold true using multivariate logistic regression. None of these differences correlated with the duration of diabetes. The relationship between pancreas volume and BMI seen in control subjects was not confirmed in patients with T2D. Conversely, in patients with T2D but not in control subjects, the splenic artery diameter correlated with the pancreas volume.

Conclusions: Patients with T2D present with more calcifications of the splenic artery and with a less dense pancreatic arterial tree than control subjects.

*Correspondence: laure.alexandre@inserm.fr

¹ Service de Diabétologie, Hôpital Cochin, 123 Boulevard de Port Royal, 75014 Paris, France

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s) 2020. This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

Keywords: Atherosclerosis, Pancreas density, Pancreas ischemia, Pancreas perfusion, Pancreas volume, Type 2 diabetes

Background

Vascular lesions are very common in patients with type 2 diabetes, resulting in various complications [1]. The causal link between type 2 diabetes and micro- and macro-vascular lesions is widely accepted. Conversely, several epidemiological and experimental studies suggest that cardio-vascular anomalies could foster the development of type 2 diabetes: patients who suffer from hypertension, myocardial infarction, or arterial stiffness as measured by the carotid-femoral pulse wave velocity [2–4], and patients who smoke [5, 6] are all more at risk of type 2 diabetes than control subjects or than non-smoker patients. Patients with an increased carotid intima-media thickness, a marker of cardio-vascular risk, are more frequently glucose intolerant [7, 8]. Moreover, in the NAVIGATOR study that included patients with impaired glucose tolerance and cardiovascular disease or risk factors, treatment with an angiotensin II receptor antagonist for 5 years decreased the incidence of diabetes [9].

These correlations could partly be mediated by pancreatic atherosclerosis through pancreatic ischemia. Indeed, *in vitro*, insulin secretion decreases with hypoxia [10] and beta cells show signs of dedifferentiation in hypoxic conditions [11]. Moreover, it has been known for more than a century that atherosclerosis and other vascular anomalies are more often seen in the intrapancreatic vessels of patients with diabetes than in control subjects [12, 13]. A recent study showed that the extent of calcifications in the superior mesenteric artery associates with the presence of diabetes [14]. In a postmortem angiography study, it was shown that vascular anomalies are more often seen in patients with type 2 diabetes than in control subjects, independently from the duration of diabetes [15].

As a reminder, the body and tail of the pancreas are mainly irrigated by a branch of the celiac trunk, the splenic artery, that usually divides into the dorsal pancreatic artery, the inferior pancreatic artery, the greater pancreatic artery and other pancreatic branches. The head of the pancreas is mainly irrigated by branches arising from the gastroduodenal and the superior mesenteric arteries. All these branches are highly anastomosed [16–18].

We hypothesized that patients with type 2 diabetes more often present with vascular abnormalities of the pancreas-bound arteries than control subjects. Hence, the aim of this study was to compare the pancreatic vascular density of patients with type 2 diabetes and of control subjects.

Methods

Aim

The primary aim of our study was to quantify and compare the vascular anomalies of pancreas-bound arteries of patients with type 2 diabetes and of control subjects. The secondary objective was to compare the volume and density of the pancreas between the two groups.

Design and setting

We performed a retrospective monocentric study in a tertiary referral center for type 2 diabetes (Cochin Hospital, Paris), comparing patients with type 2 diabetes and matched control subjects. This was a retrospective study, using existing clinical data only.

Patients were included if they were older than 18 years old, had type 2 diabetes, and had had an abdominal CT before and after iodinated contrast media intravenous injection between January and December 2017 in our institution. Using the data available from a study performed on postmortem pancreatic angiography [15], we estimated that we needed at least 39 subjects in each group in order to detect a difference between the groups (OR of decreased vascularity in patients with type 2 diabetes versus in control subjects: 5.4, expected proportion of exposed controls: 20%, alpha risk: 0.05, study power: 90%).

The list of patients with type 2 diabetes was extracted from our electronic medical records system by selecting patients who had an International Classification of Disease code for type 2 diabetes (ICD code: e11xx) and a billing code of abdominal CT scan. Non-inclusion criteria were as follows: CT scans performed without contrast media injection, or CT scans acquired only after injection of contrast media (hence lacking images with or without contrast, respectively). 98 patients out of 223 were pre-selected at random in order to retain enough patients after exclusion.

Exclusion criteria were as follows: type 1 diabetes or other causes of diabetes mellitus (MODY, cystic fibrosis...); known pancreatic disease (acute pancreatitis in the 6 months prior to the CT scan, chronic pancreatitis, pancreatic adenocarcinoma, history of pancreatic surgery); liver or biliary disease (hepatocellular carcinoma, advanced cirrhosis, cholangiocarcinoma, biliary prosthesis); cardiorespiratory arrest or multi-visceral failure in the month prior or in the week following the CT scan; lack of recent medical reports (maximum 2 years). After

exclusion, 48 patients with type 2 diabetes were finally included in the study.

Control subjects were selected from the list of patients for whom an abdominal CT before and after iodinated contrast media intravenous injection had been performed from January 1st 2016 to December 31st 2017 in our hospital. The total number of potentially eligible control patients was 3267. For each included patient with type 2 diabetes, a control subject was selected. The control subjects were matched with the patients for gender and for age ± 1 year.

For each patient with T2D, a first potentially eligible control subject was picked at random. The medical records of the eligible control subjects were then assessed in order to check for the presence or absence of exclusion criteria. If the first eligible control subject was excluded, the records of another potentially eligible control were assessed, etc. 177 potentially eligible control subjects were excluded (Additional file 1: Table S1).

The exclusion criteria were the same for the patients and for the control subjects. A supplementary exclusion criterion for control subjects was diabetes of any kind. The medical files of all control subjects were checked to ensure that they did not have diabetes, i.e. that they did not have a history of fasting hyperglycemia (>7 mmol/L) or of hyperglycemia at any time (>11 mmol/L) and that they did not take any antidiabetic medication.

Processes, interventions and comparisons

Clinical and biological characteristics

All clinical and biological data were extracted from the subjects' electronic medical records.

The presence or absence of hypertension, dyslipidemia, and coronary disease was recorded for all the subjects. Hypertension was deemed present if a history of hypertension was noted in the patient's medical record AND/OR if the patient was taking any antihypertensive medication.

Dyslipidemia was deemed present if a history of dyslipidemia, hypercholesterolemia or hypertriglyceridemia was noted in the patient's medical record AND/OR if the patient was taking statin or fibrate medication AND/OR if the patient had a known history of LDL cholesterol concentration >4.95 mmol/L or a known history of serum triglyceride concentration >1.71 mmol/L.

Coronary disease was deemed present if a history of coronary disease, myocardial infarction, coronary angioplasty or coronary bypass surgery was noted in the patient's medical record.

Serum creatinine concentration was recorded. Estimated glomerular filtration rate (eGFR) was calculated using MDRD formula [19]. Renal failure was defined as

an eGFR <60 mL/min/1.73 m². Severe renal failure was defined as an eGFR <30 mL/min/1.73 m².

For the patients with type 2 diabetes, the presence or absence of peripheral neuropathy, nephropathy and retinopathy was recorded. Peripheral neuropathy was deemed present if a history of peripheral neuropathy was noted as such in the patient's medical record, AND/OR if lower limbs paresthesia, lower limb neuropathic pain, or abnormalities at the monofilament testing were noted in the patient's medical record.

Nephropathy was deemed present if a history of diabetic nephropathy was noted as such in the patient's medical record AND/OR if there was a history of microalbuminuria >3 mg/mmol of creatininuria or a history of proteinuria, or if the MDRD glomerular filtration rate was <60 mL/min without another known cause for renal dysfunction.

Retinopathy was deemed present if a history of diabetic retinopathy was noted as such in the patient's medical record AND/OR if there was a history of macular edema or of retinal photocoagulation.

Computed tomography

All the patients had abdominopelvic computed tomography (CT) using a Somatom Sensation 64[®] (Siemens Healthcare, Forchheim Germany). The following scanner parameters were used: 279–450 mm field of view, 38.4 mm beam collimation (64 \times 0.6 mm collimator setting), 120 peak kVp tube potential, 0.5–0.8 s gantry revolution time and 46 mm per gantry rotation table speed resulting in a beam pitch of 1.2 and 310–500 mm field of view, and 55 mm per gantry rotation table speed resulting in a beam pitch of 1.38. Online, real time, anatomy-adapted, attenuation-based tube current modulation techniques (Care Dose 4D[®], Siemens Medical Solution) were used with a tube current set to 120–170 effective mAs. At the start of the procedure, 120 mL of non-ionic iodinated contrast material (Iomeprol, Iomeron[®], Bracco Imaging SpA, Milan, Italy or iopamidol, Iopamiron[®], Guerbet, Roissy-Charles de Gaulle, France) were injected intravenously through a 20-Gauge catheter into an antecubital vein, at the rate of 3 mL/s by using an automated power injector. Two pass imaging sets were obtained 25 s and 70 s after the start of the contrast material administration. All CT examinations were performed from the hepatic dome to the lower margin of the symphysis pubis, using a cephalocaudal direction after breath hold instruction was given.

After acquisition, CT data were reconstructed at 1 mm thickness at 0.5 mm intervals for transverse and multiplanar reconstructions and 3D imaging. All data were stored on internal picture archiving and communication system

(PACS, Directview, V12.1.5.1156, Carestream Health Inc., Rochester, NY, USA).

Pancreas volume

For all patients, transverse CT images were analyzed along with multiplanar and 3D images using the PACS workstation. Pancreas volume calculation (Fig. 1) was performed on venous phase CT images using a combination of contour drawing, thresholding and region growing. Interpolation between the marked slices was performed semi-automatically using a linear algorithm [20, 21]. The splenic, mesenteric and hepatic arteries, celiac trunk, splenic vein, and the superior mesenteric vein were excluded from pancreatic segmentation.

Vessels assessment

The vessel assessment (Fig. 2) was performed on arterial phase CT images. The diameter of the splenic, hepatic and gastroduodenal arteries was measured

one centimeter after their origin. The presence and the total number of visible pancreas-bound branches emerging from the splenic artery or sometimes from the celiac trunk or from the superior mesenteric artery in case of anatomical variations (i.e. the greater pancreatic artery, the dorsal pancreatic artery and the inferior pancreatic artery) were noted (from 0 to 3 visible branches). Their diameters were measured one centimeter after their origin. Simultaneously, the identification of intrapancreatic first- and second-order vessel division was performed.

Calcifications

Calcifications in the splenic artery and abdominal aorta walls were evaluated on the images without contrast and classified according to the following score:

0: no calcification; 1: scarce interspersed calcifications; 2: linear calcifications with intervals of normal artery; 3:

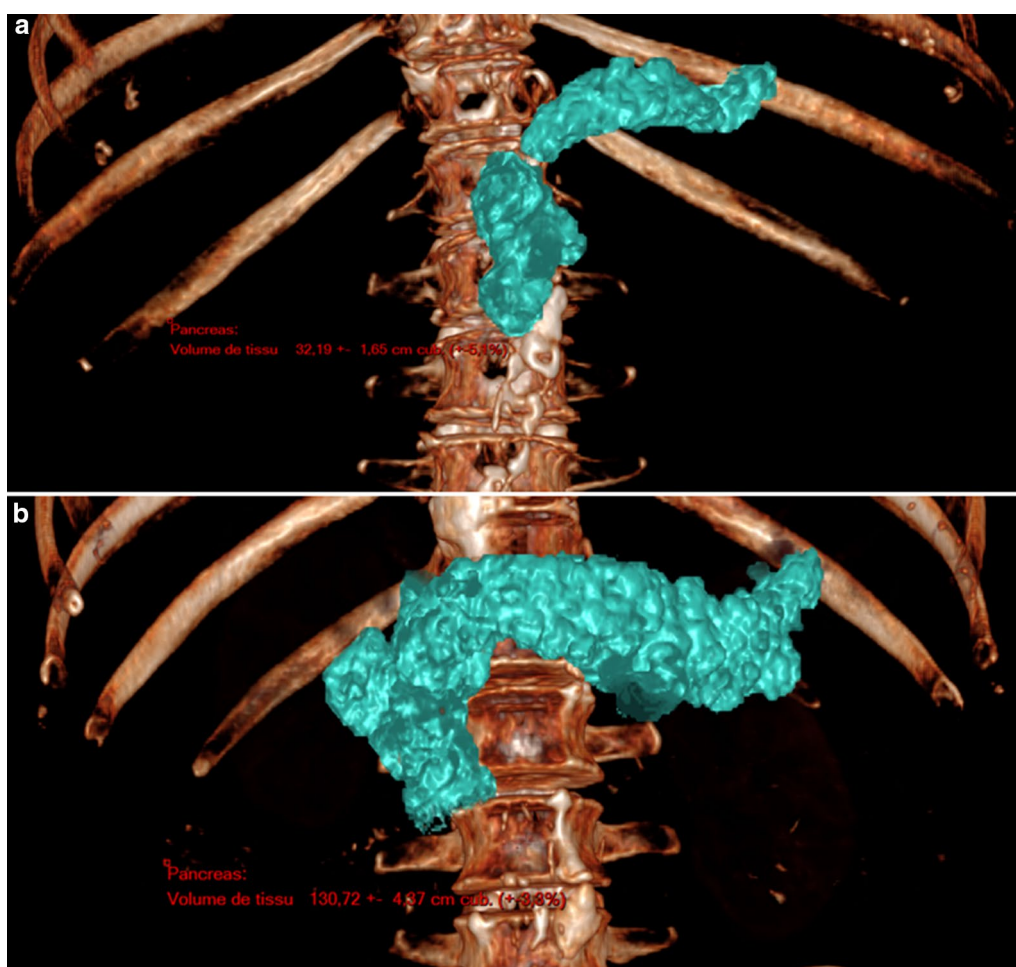


Fig. 1 Three-dimensional computed tomography image of the pancreas. **a** Calculation of the pancreatic volume reveals a volume of $32 \pm 1.7 \text{ cm}^3$. **b** Calculation of the pancreatic volume reveals a volume of $131 \pm 4 \text{ cm}^3$

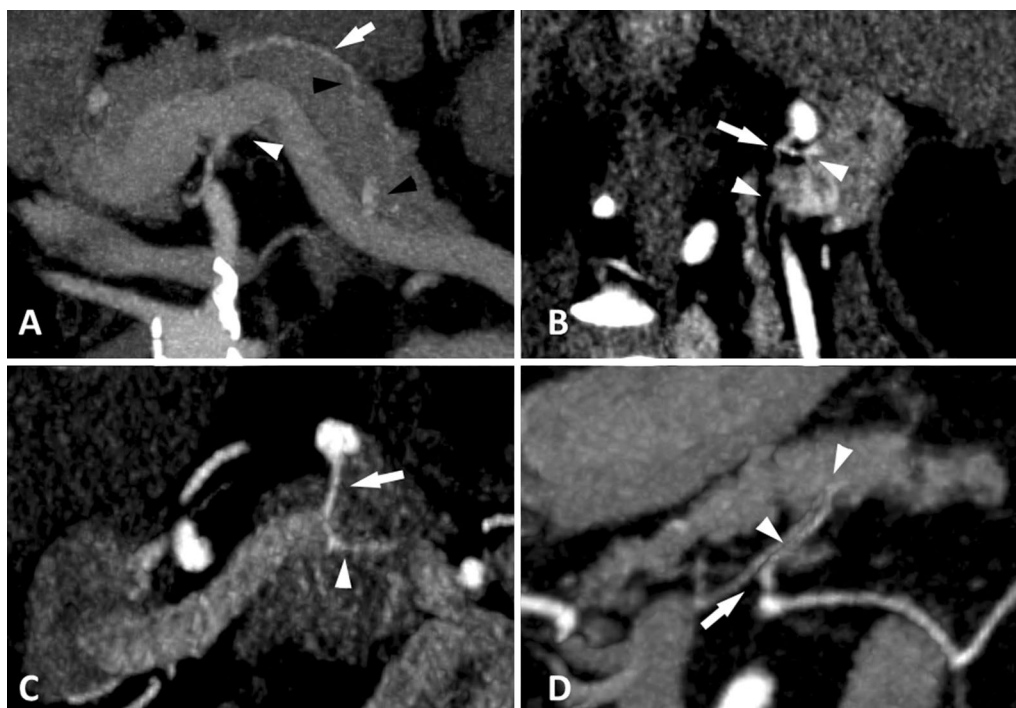


Fig. 2 Multi-detector computed tomography after intravenous administration of iodinated contrast material at the arterial phase. **a** Maximum intensity projection in the transverse plane demonstrates pancreatic transverse (arrow) artery communicating with the greater pancreatic artery (arrowhead) with first- and second-order vessel division (black arrowheads). **b** Multiplanar oblique reconstruction reveals a dorsal pancreatic artery (arrow) with first- and second-order vessel division (arrowheads). **c** Maximum intensity projection with oblique reconstruction demonstrates greater pancreatic artery (arrow) with first order vessel division (arrowhead). **d** Maximum intensity projection with oblique reconstruction reveals inferior pancreatic artery (arrow) with first- and second order vessel division (arrowheads)



Fig. 3 Multi-detector computed tomography without contrast. Calcifications in the splenic artery's wall in the pancreas parenchyma

circumferential calcifications for the abdominal aorta, and continuous linear calcifications for the splenic artery (Fig. 3).

Pancreas and liver density

Pancreas and liver density were quantified on the images without contrast. The density of the pancreas, in Hounsfield Units (HU), was defined as the mean density of 3 Regions Of Interest (ROI) delineated in the head, body and tail of the pancreas, respectively. Each ROI was carefully delineated in order to exclude vessels and calcifications.

Interobserver reliability

All CT images analyses were performed by a unique investigator blinded to the diabetes or control status of the subjects. To validate our image analysis methods, two different sets of randomly selected patients were quantified by a second, independent investigator, who was also blinded to the diabetes or control status of the subjects.

The characteristics of the pancreas (pancreas density and volume) were validated in a subgroup of 21 random subjects (11 patients with type 2 diabetes and 10 control subjects).

The characteristics of the vessels (abdominal aorta and splenic artery calcium scores, splenic artery diameter,

number of pancreas-bound arteries and of intrapancreatic arterial subdivisions) were validated in another subgroup of 22 random subjects (11 patients with type 2 diabetes and 11 control subjects).

Duration of diabetes

In order to know if the characteristics of the pancreas observed in patients with type 2 diabetes correlated with the duration of diabetes, we divided the patients in whom the duration of diabetes was known into two subgroups: the patients of the first group had a duration of diabetes of 0 to 10 years, and the patients of the second group had a duration of diabetes of more than 10 years. Age at first diagnosis of diabetes, from which diabetes duration was determined, was established according to patients and/or physician reports, noted in the medical records of the patients. We then compared the characteristics of the pancreas and its vessels between the two subgroups.

Statistical analysis

Data are presented as mean with standard deviation (SD) for the normally distributed variables, and as median with interquartile range (IQR) for the variables with non-normal distribution. For continuous variables, t-tests (paired or unpaired) were used when 2 groups of normally distributed variables were compared, Mann-Whitney test was used when 2 groups of unpaired variables with non-normal distribution were compared, Wilcoxon matched-pair signed rank test was used when 2 groups of paired variables with non-normal distribution were compared. ANOVA was used when more than 2 groups of normally distributed variables were compared, Kruskal-Wallis comparison was used when more than 2 groups of variables with non-normal distribution were compared.

For categorical variables, McNemar test was used when 2 paired groups were compared, Fisher's exact test was used when 2 unpaired groups were compared, and Chi Square was used when more than 2 groups were compared.

After performing a log likelihood ratio comparison of different models, we tested if there was an independent association between the presence or absence of type 2 diabetes and pancreas and liver characteristics using multivariate logistic regression with adjustment for age, gender, BMI and the presence or absence of hypertension. We did the same to test the association between a duration of diabetes of less or more than 10 years and pancreas and liver characteristics.

Interobserver reliability was assessed using intraclass correlation coefficient for continuous variables, and Cohen's weighted kappa for categorical variables.

Analyses were performed using Graphpad Prism 5 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) and the Real

Statistics Resource Pack software (Release 6.8), copyright (2013–2020) (www.real-statistics.com).

Results

Characteristics of patients

Forty-eight patients with type 2 diabetes and 48 control subjects were included and analyzed. Mean age was 64.7 years-old and 65% of the subjects were male. Mean Body Mass Index (BMI, defined as the weight in kilograms divided by the height in meters squared) was higher in the patients with type 2 diabetes than in the control subjects (27.7 kg/m^2 vs 23.8 kg/m^2 , $p < 0.001$). The patients with type 2 diabetes presented more often with hypertension, hypercholesterolemia and history of coronary disease than the control subjects. In patients with type 2 diabetes, the median HbA_{1c} was 7.5% (58 mmol/mol), and the median duration of diabetes was 10 years (Table 1).

The abdominal CT were mainly performed for the following indications: gastro-intestinal or urinary symptoms, e.g. abdominal pain, diarrhea, bowel obstruction or urinary urgencies (35% of the indications in patients with type 2 diabetes versus 46% in control subjects); diabetes characterization (23% of the indications in patients with type 2 diabetes); cancer extension work-up or cancer follow-up (6% of the indications in patients with type 2 diabetes versus 29% in control subjects); and asthenia or loss of body weight (13% of the indications in patients with type 2 diabetes versus 2% in control subjects) (Table 2).

Interobserver reliability of image analysis

Interobserver reliability was assessed. Cohen's weighted kappa was as follows: for abdominal aorta calcium score: 0.69 (0.48–0.90), for splenic artery calcium score: 0.81 (0.55–1), for number of pancreas-bound arteries: 0.56 (0.34–0.79) and for number of intrapancreatic arterial subdivisions: 0.61 (0.35–0.88).

Intraclass correlation coefficient was as follows: for pancreas volume: 0.74 (0.44–0.89), for pancreas density: 0.87 (0.68–0.95) and for splenic artery diameter: 0.60 (0.27–0.79).

Vessels assessment

Calcification scores

As stated above, the calcifications in the splenic artery and abdominal aorta walls were assessed on the images without contrast. They were scored from 0 (uncalcified artery) to 3 (continuous linear calcifications in the splenic artery or circumferential calcifications in the abdominal aorta).

We assessed the calcifications in the splenic artery as it is the major provider of arterial blood to the body and tail of the pancreas. The patients with type 2 diabetes more

Table 1 Clinical characteristics of the subjects

	Patients with T2D N = 48	Control subjects N = 48	p
General characteristics			
Male, n (%)	31 (65)	31 (65)	1
Age, years: mean (SD)	64.8 (12.8)	64.7 (12.8)	0.2
BMI, kg/m ² : mean (SD) ^a	27.7 (5.9)	23.8 (4.9)	<0.001
Cardiovascular risk factors			
Hypertension, n (%) ^b	30 (63)	13 (29)	0.013
Dyslipidemia, n (%) ^c	32 (76)	11 (31)	<0.0001
Coronary disease, n (%) ^d	13 (28)	4 (9)	0.05
Estimated glomerular filtration rate, mL/min: mean (SD) ^e	85.9 (30.3)	94.9 (23.6)	0.2
Renal failure, n (%) ^e	9 (19)	3 (7)	0.2
Severe renal failure, n (%) ^e	1 (2)	0 (0)	1
Tobacco use (current or stopped for less than 3 years), n (%) ^f	11 (25)	6 (19)	0.6
Diabetes characteristics			
HbA _{1c} , mmol/mol: median (IQR) ^g	58 (48–76)	34 (33–42)	NA
HbA _{1c} , %: median (IQR) ^g	7.5 (6.5–9.1)	5.3 (5.2–6)	NA
Diabetes duration, years: median (IQR) ^h	10 (5.5–17.3)		
Insulin use, n (%)	19 (40)		
Neuropathy, n (%) ⁱ	15 (52)		
Nephropathy, n (%) ^j	15 (47)		
Retinopathy, n (%) ^k	11 (42)		

T2D type 2 diabetes, BMI body mass index, SD standard deviation, IQR interquartile range

^a Available in 45 patients with T2D and 35 control subjects

^b Available in 47 patients with T2D and 45 control subjects

^c Available in 42 patients with T2D and 35 control subjects

^d Available in 46 patients with T2D and 44 control subjects

^e Glomerular filtration rate as evaluated by MDRD. Renal failure defined as a GFR < 60 mL/min/1.73 m². Severe renal failure defined as a GFR < 30 mL/min/1.73 m². Available in 48 patients with T2D and 46 control subjects

^f Available in 44 patients with T2D and 32 control subjects

^g Last HbA_{1c} in the medical file. Available in 34 patients with T2D and 5 control subjects

^h Available in 32 patients

ⁱ Available in 29 patients

^j Available in 32 patients

^k Available in 26 patients

Table 2 Abdominal computed tomography indications

	Patients with T2D N = 48	Control subjects N = 48	p
Gastro-intestinal or urinary symptoms n (%)	17 (35)	22 (46)	0.4
Diabetes characterization n (%)	11 (23)	NA	NA
Cancer extension work-up or cancer follow-up n (%)	3 (6)	14 (29)	0.02
Asthenia or loss of body weight n (%)	6 (13)	1 (2)	0.1
Back pain/aortic dissection suspicion n (%)	3 (6)	1 (2)	0.6
Abdominal mass characterization (non cancerous) n (%)	1 (2)	5 (10)	0.2
Unexplained fever n (%)	1 (2)	2 (4)	1
Abdominal surgery complication n (%)	2 (4)	2 (4)	0.6
Car accident n (%)	1 (2)	1 (2)	0.5
Anemia work-up n (%)	1 (2)	0	1
Resistant hypertension work-up n (%)	2 (4)	0	0.5

T2D Type 2 diabetes

often presented with a high calcification score of the splenic artery than the control subjects. Conversely, the splenic artery walls were less often free of calcifications in the patients with type 2 diabetes than in the control subjects (Table 3).

As for the abdominal aorta, the patients with type 2 diabetes more often presented with a high calcification score than the control subjects. Conversely, the abdominal aorta walls were less often free of calcifications in the patients with type 2 diabetes than in the control subjects (Table 3).

Pancreas-bound branches and their intrapancreatic divisions

The presence of the greater pancreatic artery, the dorsal pancreatic artery and the inferior pancreatic artery on CT images was assessed, and their total number (from 0 to 3) was noted. The mean number of these branches was lower in patients with T2D than in control subjects (1.1 vs 1.7, $p=0.003$). No pancreas-bound branch was seen in 40% of the patients with type 2 diabetes versus in 13% of the control subjects (Table 3).

Moreover, the intrapancreatic first- and second-order vessel divisions were assessed. The mean number of visible intrapancreatic arterial subdivisions (from 0 to 2) was lower in patients with T2D than in control subjects

(0.7 vs 1.3, $p=0.0017$). Subdivisions were not seen at all in 54% of patients with type 2 diabetes, versus in only 19% of control subjects (Table 3).

Diameters of the pancreas-bound arteries

No difference was found between the 2 groups concerning the splenic, hepatic, gastroduodenal, inferior pancreatic, dorsal pancreatic, and greater pancreatic arteries diameters (data not shown).

The mean splenic artery diameter was higher in male than in female subjects (6.8 vs 5.6 mm, $p<0.0001$). There was no correlation between splenic artery diameter and age, BMI, GFR, diabetes duration or HbA_{1c} (data not shown). However, in the patients with type 2 diabetes, the splenic artery diameter correlated with the pancreas volume (Spearman coefficient of correlation: 0.45, $p=0.0013$). This correlation was not seen in the control subjects (Spearman coefficient of correlation: 0.09, $p=0.5$). In the patients with type 2 diabetes but not in the control subjects, the splenic artery diameter also correlated with the hepatic artery diameter (Spearman coefficient of correlation 0.36 and 0.19, $p=0.01$ and 0.2, respectively).

Table 3 Pancreas and liver assessment

	Patients with T2D N=48	Control subjects N=48	p (univariate)	p (multivariate)
Splenic artery calcium score <i>n</i> (%)				
0	31 (65)	39 (81)	0.04	0.035
1	9 (19)	8 (17)		
2 or 3	8 (17)	1 (2)		
Abdominal aorta calcium score, <i>n</i> (%)				
0	4 (8)	15 (31)	0.019	0.009
1	23 (48)	17 (35)		
2 or 3	21 (44)	16 (33)		
Number of pancreas-bound branches, <i>n</i> (%)				
0	19 (40)	6 (12)	0.003	0.036
1	9 (19)	9 (19)		
2 or 3	20 (41)	33 (69)		
Number of intrapancreatic arterial subdivisions, <i>n</i> (%)				
0	26 (54)	9 (19)	0.001	0.008
1	10 (21)	14 (29)		
2	12 (25)	25 (52)		
Pancreas volume, cm ³ : mean (SD)	61.5 (32.8)	60.7 (26.0)	0.9	0.3
Pancreas density, Hounsfield units: median (IQR) ^a	27.5 (20.5–32.6)	34.3 (25.6–39.1)	0.026	0.5
Liver density, Hounsfield units: median (IQR)	46.5 (38.3–51.8)	53.0 (46.3–56)	0.0001	0.1

Multivariate logistic regression adjusted for age, gender, BMI and presence or absence of hypertension

T2D Type 2 diabetes, SD standard deviation, IQR interquartile range

^a Pancreas density defined as the mean of 3 ROIs from the head, body and tail of the pancreas

Pancreas characterization

Pancreas volume and density

The median pancreas volume was not different between the patients with type 2 diabetes and the control subjects. Of note, the median pancreas volume was higher in male than in female subjects (62.5 cm³ vs 47 cm³, $p=0.005$).

The median pancreas density was lower in the patients with type 2 diabetes than in the control subjects. As a comparison, the liver density was also lower in the patients with type 2 diabetes than in the control subjects (46.5 vs 53 HU, $p=0.0001$) (Table 3).

Multivariate analysis

We performed a multivariate logistic regression with adjustment for age, gender, BMI and the presence or absence of hypertension. After adjustment, the percentage of high calcium scores of the splenic artery and the abdominal aorta was still significantly higher in the patients with type 2 diabetes than in the control subjects, and the number of visible pancreas-bound branches and intrapancreatic arterial subdivisions was still significantly lower in the patients with type 2 diabetes than in the control subjects.

However, there was no statistically significant difference of pancreas density or liver density between the patients with type 2 diabetes and control subjects after adjustment.

Pancreas characteristics according to renal function

As renal function is closely associated to vascular calcifications, we studied the relationships between renal function and the different characteristics of the pancreas. Thus, we compared the patients with or without renal failure, independently from their diabetes or control status. The subjects with renal failure were older than the subjects without renal failure (72.7 vs 63.8 years, $p=0.005$). The subjects with renal failure tended to more often present with diabetes, but not significantly so. The splenic artery and abdominal aorta calcium scores, the number of pancreas-bound branches and intrapancreatic subdivisions, and the pancreas density did not differ significantly between subjects with or without renal failure (Additional file 1: Table S2). The pancreas volume tended to be lower in the subjects with renal failure than in the subjects without renal failure (43 cm³ vs 59 cm³, $p=0.05$).

We also studied eGFR as a continuous variable. Age and BMI correlated negatively with eGFR (Spearman coefficient of correlation -0.2 and -0.27 , $p=0.048$ and 0.016 , respectively).

The splenic artery and abdominal aorta calcium scores, the number of pancreas-bound branches and

intrapancreatic arterial subdivisions, the pancreas volume and density did not correlate with eGFR (Additional file 1: Table S3 and Figure S1).

Pancreas characteristics according to BMI

In control subjects, the pancreas volume was higher and the pancreas density was lower when the BMI was higher [Spearman coefficients of correlation: 0.6 ($p=0.0001$) and -0.37 ($p=0.03$), respectively]. However, this relationship was not observed in patients with type 2 diabetes [Spearman coefficients of correlation: 0.21 ($p=0.16$) and -0.13 ($p=0.4$), respectively].

As a comparison, the liver density was lower when the BMI was higher in control subjects and tended to be lower when the BMI was higher in patients with type 2 diabetes [Spearman coefficients of correlation: -0.38 ($p=0.03$) and -0.29 ($p=0.05$) respectively].

Duration of diabetes

The 32 patients in whom the duration of diabetes was known were divided into two subgroups: 17 patients had a duration of diabetes of 0 to 10 years, while 15 patients had a duration of diabetes of more than 10 years. The patients with a long duration of diabetes were more often treated with insulin than the other patients. We did not observe a relationship between the volume or density of the pancreas and the duration of diabetes. Neither did we observe a relationship between the splenic artery calcium score, the abdominal aorta calcium score, the number of pancreatic branches or the number of intrapancreatic arterial subdivisions and the duration of diabetes (Table 4).

When the duration of diabetes was analyzed as a continuous variable, insulin treatment was also the only variable that correlated with the duration of diabetes (Spearman coefficient of correlation: 0.47, $p=0.007$): no correlation was found between duration of diabetes and vascular or pancreatic parameters.

Discussion

To our knowledge, this is the first in vivo study to compare the specific vascularity and atherosclerosis of the pancreatic vessels between patients with type 2 diabetes and control subjects.

In the present study, patients with type 2 diabetes more often presented with calcifications of the splenic artery and with a less developed pancreatic arterial tree than control subjects matched for age and for gender. Pancreas volume was not different between the groups, and pancreas density was lower in patients with type 2 diabetes than in control subjects. Furthermore, the pancreas volume correlated with the splenic artery diameter. Correlation between pancreas volume and density and BMI

Table 4 Clinical characteristics of the patients according to diabetes duration

	0 to 10 years N = 17	> 10 years N = 15	p (univariate)	p (multivariate)
Diabetes duration, years: mean (SD)	5 (3.8)	20 (9.0)	< 0.0001	
Age, years: mean (SD)	63.2 (12.7)	62.3 (15.0)	0.85	
BMI, kg/m ² : mean (SD)	27.7 (5.2)	28.8 (6.4)	0.6	
Insulin-treated patient, n (%)	6 (35)	12 (75)	0.04	0.049
Neuropathy, n (%) ^a	4 (33)	9 (60)	0.3	0.1
Nephropathy, n (%) ^b	4 (33)	5 (36)	1	0.5
Retinopathy, n (%) ^c	3 (27)	6 (46)	0.4	0.4
HbA _{1c} , mmol/mol: median (IQR) ^d	56.0 (50–81)	70.0 (60–77)	0.3	0.6
HbA _{1c} %: median (IQR) ^d	7.3 (6.7–9.6)	8.6 (7.6–9.2)	0.3	0.6
Pancreas volume, cm ³ : mean (SD)	62.9 (39.6)	60.0 (27.7)	0.8	0.5
Pancreas density, Hounsfield units: median (IQR) ^e	29.6 (19.2–36.3)	27.7 (13.7–32.3)	0.9	0.6
Liver density, Hounsfield units: median (IQR)	50.0 (39.0–54.0)	48.0 (28.5–51.5)	0.3	0.2
Splenic artery calcium score n (%)				
0	13 (76)	7 (47)	0.2	0.2
1	2 (12)	4 (27)		
2 or 3	2 (12)	4 (27)		
Abdominal aorta calcium score, n (%)				
0	3 (18)	1 (7)	0.6	0.9
1	8 (47)	9 (60)		
2 or 3	6 (35)	5 (33)		
Number of pancreas-bound branches, n (%)				
0	6 (35)	5 (33)	1	0.9
1	4 (24)	4 (27)		
2 or 3	7 (41)	6 (40)		
Number of intrapancreatic arterial subdivisions, n (%)				
0	10 (59)	6 (40)	0.6	0.4
1	3 (18)	4 (27)		
2	4 (23)	5 (33)		

SD standard deviation. IQR interquartile range

^a Available in 12 patients with a duration of diabetes of up to 10 years and in 14 patients with a duration of diabetes of > 10 years

^b Available in 12 and 13 patients, respectively

^c Available in 11 and 13 patients, respectively

^d Available in 14 and 12 patients, respectively

^e Pancreas density defined as the mean of 3 ROIs from the head, body and tail of the pancreas

was different in patients with type 2 diabetes and in control subjects.

The high frequency of splenic artery atherosclerosis in patients with type 2 diabetes may simply reflect a more atherogenic environment in these patients, hinted at by the higher frequency of hypertension, hypercholesterolemia and coronaropathy, and by the high frequency of atherosclerosis in the abdominal aorta. It could also reflect the level of macrovascular complications induced by diabetes.

However, we did not show a relationship between the duration of diabetes and the presence of splenic artery calcifications. Yet, this study was not powered to

compare the clinical and pancreas characteristics according to diabetes duration, and this result could therefore be due to a lack of power of our study. It must also be noted that duration of diabetes was established according to patients and/or physician reports, and is known to be rather imprecise. Even in the UKPDS study [22], that studied newly-diagnosed patients with type 2 diabetes, more than 30% of patients already showed diabetic retinopathy. However, there is no other reliable way to know the real duration of diabetes in these patients, and even by using declarative duration of diabetes, studies have shown that global mortality, specific coronary heart disease mortality and microvascular complications are more

frequent in patients with a long duration of diabetes than in patients with a recent diagnosis of diabetes [23–26]. Anyhow, even if pancreatic atherosclerosis was initially a mere vascular consequence of diabetes, one could imagine that it could later exert degrading effects on the endocrine pancreas due to pancreatic ischemia, and be part of a vicious circle that would worsen an already failing endocrine function.

On another note, it could be argued that medial vascular calcification is a common feature in patients with type 2 diabetes [25, 27, 28], with active processes of vessels calcifications and remodeling [29, 30] and that we therefore cannot be sure that the calcifications found in the splenic artery are indeed atherosclerotic. However, different studies show that the presence of calcifications in the celiac trunk or in the superior mesenteric artery correlates with systemic calcified atherosclerosis, cardiovascular risk factors, all-cause mortality, and fatty liver. This could be in favor of an atherosclerotic process in these arteries [14, 31, 32].

We also showed that even after adjustment for age, gender, BMI and the presence of hypertension, the pancreatic arterial tree was less developed in patients with type 2 diabetes than in control subjects: the number of visible pancreas-bound branches and the number of intrapancreatic vessel divisions were lower in patients with type 2 diabetes than in control subjects. This is reminiscent of observations made about coronary epicardial vessels in patients with T2D [33] and concordant with the often-described aspect of “dead-tree” of arteries of lower limbs in diabetes, probably as a consequence of defective collateralization resulting from chronic hyperglycemia [34]. This also concurs with the many histopathological studies that show that lesions of the pancreatic vessels (from capillaries to little arteries) are more often seen in patients with type 2 diabetes than in control subjects [12, 13, 35–39]. This decreased vascularity in patients with type 2 diabetes could be associated with anomalies of pancreatic perfusion, in accordance with the study by Yu et al., that shows an increased endothelial permeability and a decreased plasma volume per unit of pancreas in patients with coronary disease and type 2 diabetes as compared to patients without type 2 diabetes [40]. Honka et al. also show that in obese patients, the pancreatic blood flow is inversely correlated with HbA_{1c} [41].

Besides, we compared the pancreas volume in patients with type 2 diabetes and in control subjects. The pancreas volume is known to be lower in patients with type 1 diabetes as compared to control subjects [42]. However, studies are discordant concerning the pancreas volume of patients with type 2 diabetes [43–48]. We did not find a difference in pancreas volume between the 2 groups.

The pancreas volume of patients with type 2 diabetes in our study was very similar to the one described in previous works (61.5 cm³ vs 61.2 cm³ in a meta-analysis of 8 studies [46]), but the pancreas volume of the control subjects in our study was lower (60.7 vs 68 cm³ in subjects of the same mean age [46]). This could be explained by a relatively low BMI in the control subjects of our study (23.8 kg/m² vs 27 kg/m² in a meta-analysis [47]), as it is known that the pancreas volume increases with BMI [44, 49].

Of note, the pancreas volume tended to be lower in the patients who presented with renal failure. To our knowledge, this association has never been described. Supposedly, a common vascular factor could be at stake, and it would be interesting to investigate this correlation further in a future study.

We also confirmed that the pancreas density was lower in patients with type 2 diabetes than in control subjects, in accordance with existing data [45, 50, 51]. Because a lower density is associated with a higher fat content, the pancreas of the patients with type 2 diabetes was probably fatter than the controls' [52]. Remarkably, pancreatic endocrine impairment seems to be associated with pancreatic fat both in patients with type 2 diabetes and without [53, 54], and pancreatic fat is associated with atherosclerosis and a higher cardiovascular risk in patients with type 2 diabetes [55, 56]. It must however be noted that there was no statistically significant difference of pancreas density between patients with type 2 diabetes and control subjects after adjustment for age, gender, BMI and presence of hypertension, and that this difference might thus be linked to confusion factors.

Similarly to what has been described in numerous studies, the pancreas volume and density [44, 49] correlated with BMI in control subjects. However, this relationship was lost for both parameters in patients with type 2 diabetes, which is discordant with the study by Saisho et al. [44]. In contrast, the association between liver steatosis and BMI was found both in patients with type 2 diabetes and in control subjects. We hypothesize that pancreatic atherosclerosis could have a specific impact on the pancreas of patients with type 2 diabetes. This idea is supported by the fact that, in the patients with type 2 diabetes but not in the control subjects, splenic artery diameter correlated positively with pancreas volume.

There are several weaknesses in this study. First, it is a retrospective study, and we only used the information available in the electronic records of the patients. Therefore, clinical data were often partially missing, leading to a lack of power for some of the analyses. For instance, BMI was not available for all of the patients and we were thus not able to match the patients and the

control subjects for BMI. However, the calcium scores, number of pancreas-bound arteries and number of visible intrapancreatic arteries did not correlate with BMI in our study, either in the patients with type 2 diabetes or in the control subjects (data not shown) and the absence of matching is thus not likely to be a problem for the interpretation of results.

Moreover, by construction, a substantial part of the control subjects were oncology patients, since cancer follow-up is a frequent indication for performing abdominal CT. Consequently, the control subjects of our study had a lower BMI than what is usually seen in the literature, and might have presented with particularities of the abdominal CT as compared to other populations, e.g a lower liver density [57].

Besides, 1,5-anhydro-D-glucitol (1,5-ag) concentration, the level of which correlates with the severity of artery calcifications and constitute an independent risk factor of cardiovascular disease [58, 59], has not been measured in this study, which can be a limitation.

We used CT to assess pancreatic vessels rather than magnetic resonance imaging (MRI) because of the availability of CT and because of its spatial resolution. MRI could be of interest to study pancreatic perfusion using dedicated sequences of Dynamic Contrast Enhancement and software of perfusion quantification: for instance, Taso et al. showed that pancreatic basal blood flow was lower in patients with type 1 diabetes than in control subjects [60]. In addition, pancreatic MRI could be of value to assess fatty infiltration of the pancreas using dedicated q-dixon sequences in order to measure the fat fraction. Positron emission tomography (PET) has also been used to assess pancreatic perfusion, and it was shown that pancreatic perfusion was lower in patients with type 1 diabetes than in healthy individuals [61]. Nonetheless, MRI and PET are not routinely performed as first line imaging modality to explore pancreatic disorders.

For all these reasons, a prospective large-scale population study using other imaging modalities to assess pancreatic perfusion and fatty infiltration in patients with type 2 diabetes would be of use to confirm our results.

Conclusions

Patients with type 2 diabetes presented with more calcifications of the splenic artery, and with a less dense pancreatic arterial tree than control subjects. Moreover, we showed that the relationship between BMI and pancreas characteristics seen in control subjects was not confirmed in patients with type 2 diabetes. We hypothesize that pancreatic atherosclerosis could have a specific impact on the pancreas of patients with T2D.

Supplementary information

Supplementary information accompanies this paper at <https://doi.org/10.1186/s12933-020-01098-1>.

Additional file 1: Table S1. Causes for non-inclusion (absence of CT images with or without contrast for patients with T2D) or exclusion in patients with T2D and in control subjects. **Table S2.** Clinical and pancreas characteristics of the subjects with or without renal failure. **Table S3.** Glomerular filtration rate according to clinical and pancreas characteristics. **Table S4.** Diabetes duration according to clinical characteristics of the patients. **Figure S1.** Estimated glomerular filtration rate (eGFR) according to clinical and pancreas characteristics. **Figure S2.** Diabetes duration according to clinical and pancreas characteristics.

Abbreviation

BMI: Body mass index.

Acknowledgements

This work was supported by the RHU QUID-NASH. Thank you to Dr. Samir Bouam (Unité d'Information Médicale, Hôpital Cochin, Paris), who extracted the list of patients from our electronic medical records system. Thank you to Benjamin Heymann, who helped in the interpretation and analysis of data.

Authors' contributions

LA-H contributed to the conception and design of the study, to the acquisition of data, analysed and interpreted the data and was a contributor in writing the manuscript; MB contributed to the design of the study, to the acquisition of data, interpreted the data, and was a contributor in writing the manuscript; AD contributed to the design of the study, interpreted the data and revised the article critically; EL contributed to the conception and design of the study, analysed and interpreted the data and was a contributor in writing the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Funding

This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial or not-for-profit sector.

Availability of data and materials

The datasets used and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Ethics approval and consent to participate

All the included subjects were informed of the study and could oppose to being included in the study, and all the medical data were anonymized, according to French law. CNIL (Commission Nationale Informatique et Liberté (CNIL)) Registration number: 2203351v0. The local ethics committee (CLEP) gave its Approval (AAA-2019-08028).

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Author details

¹ Service de Diabétologie, Hôpital Cochin, 123 Boulevard de Port Royal, 75014 Paris, France. ² Département Hospitalo Universitaire, INSERM U1016, Université Paris Descartes, Paris, France. ³ Service de Radiologie A, Hôpital Cochin, Paris, France. ⁴ Université de Paris, Paris, France.

Received: 20 March 2020 Accepted: 25 July 2020

Published online: 05 August 2020

References

- Emerging Risk Factors Collaboration, Sarwar N, Gao P, Seshasai SRK, Gobin R, Kaptoge S, et al. Diabetes mellitus, fasting blood glucose

- concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet*. 2010;375(9733):2215–22.
2. Muhammad IF, Borné Y, Östling G, Kennbäck C, Gottsäter M, Persson M, et al. Arterial stiffness and incidence of diabetes: a population-based cohort study. *Diabetes Care*. 2017;40(12):1739–45.
 3. Conen D, Ridker PM, Mora S, Buring JE, Glynn RJ. Blood pressure and risk of developing type 2 diabetes mellitus: the Women's Health Study. *Eur Heart J*. 2007;28(23):2937–43.
 4. Park CS, Chung WB, Choi YS, Kim PJ, Lee JM, Baek K-H, et al. Acute myocardial infarction is a risk factor for new onset diabetes in patients with coronary artery disease. *PLoS ONE*. 2015;10(8):e0136354.
 5. Wannamethee SG, Shaper AG, Perry IJ, British Regional Heart Study. Smoking as a modifiable risk factor for type 2 diabetes in middle-aged men. *Diabetes Care*. 2001;24(9):1590–5.
 6. Balkau B, Lange C, Fezeu L, Tichet J, de Lauzon-Guillain B, Czernichow S, et al. Predicting diabetes: clinical, biological, and genetic approaches: data from the epidemiological study on the insulin resistance syndrome (DESIR). *Diabetes Care*. 2008;31(10):2056–61.
 7. Andreozzi F, Gastaldelli A, Mannino GC, Sciacqua A, Succurro E, Arturi F, et al. Increased carotid intima-media thickness in the physiologic range is associated with impaired postprandial glucose metabolism, insulin resistance and beta cell dysfunction. *Atherosclerosis*. 2013;229(2):277–81.
 8. Uchida J, Machida Y, Iwai T, Kuwabara N, Kabei K, Naganuma T, et al. Glucose intolerance is associated with increased intimal-medial thickness of the carotid artery and increased pulse-wave velocity in renal transplant recipients. *Transplant Proc*. 2013;45(4):1535–9.
 9. NAVIGATOR Study Group, McMurray JJ, Holman RR, Haffner SM, Bethel MA, Holzhauser B, et al. Effect of valsartan on the incidence of diabetes and cardiovascular events. *N Engl J Med*. 2010;362(16):1477–90.
 10. Dionne KE, Colton CK, Yarmush ML. Effect of hypoxia on insulin secretion by isolated rat and canine islets of Langerhans. *Diabetes*. 1993;42(1):12–21.
 11. Puri S, Akiyama H, Hebok M. VHL-mediated disruption of Sox9 activity compromises β -cell identity and results in diabetes mellitus. *Genes Dev*. 2013;27(23):2563–75.
 12. Cecil RL. A study of the pathological anatomy of the pancreas in ninety cases of diabetes mellitus. *J Exp Med*. 1909;11(2):266–90.
 13. Funk HU. Veränderungen an Pankreaskapillaren bei Diabetikern. *Diabetologia*. 1966;1(3–4):228–32.
 14. Lin TC, Wright CM, Criqui MH, Allison MA. Superior mesenteric artery calcification is associated with cardiovascular risk factors, systemic calcified atherosclerosis, and increased mortality. *J Vasc Surg*. 2018;67(5):1484–90.
 15. Kauppila LI, Hekali P, Penttilä A. Postmortem pancreatic angiography in 45 subjects with non-insulin-dependent diabetes mellitus and 51 controls. *Pancreas*. 1998;16(1):60–5.
 16. El-Gohary Y, Gittes G. Structure of islets and vascular relationship to the exocrine pancreas. *pancreapedia: the exocrine pancreas knowledge base*. 2018. www.pancreapedia.org/reviews/structure-of-islets-and-vascular-relationship-to-exocrine-pancreas. Accessed 29 juill 2019.
 17. Covantev S, Mazuruc N, Belic O. The arterial supply of the distal part of the pancreas. *Surg Res Pract*. 2019;2019:5804047.
 18. Kulenović A, Sarač-Hadžihalilović A. Blood vessels distribution in body and tail of pancreas—a comparative study of age related variation. *Bosn J Basic Med Sci*. 2010;10(2):89–93.
 19. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med*. 1999;130(6):461–70.
 20. Unlu E, Unlu BS, Yildiz Y, Beker-Acay M, Kacar E, Turamanlar O, et al. Adrenal gland volume assessed by magnetic resonance imaging in women with polycystic ovary syndrome. *Diagn Interv Imaging*. 2016;97(1):57–63.
 21. Hammoud S, Tissier A-M, Elie C, Pousset M, Knebelman B, Joly D, et al. Ultrasonographic renal volume measurements in early autosomal dominant polycystic disease: comparison with CT-scan renal volume calculations. *Diagn Interv Imaging*. 2015;96(1):65–71.
 22. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet*. 1998;352(9131):837–53.
 23. Wannamethee SG, Shaper AG, Whincup PH, Lennon L, Sattar N. Impact of diabetes on cardiovascular disease risk and all-cause mortality in older men: influence of age at onset, diabetes duration, and established and novel risk factors. *Arch Intern Med*. 2011;171(5):404–10.
 24. Zoungas S, Woodward M, Li Q, Cooper ME, Hamet P, Harrap S, et al. Impact of age, age at diagnosis and duration of diabetes on the risk of macrovascular and microvascular complications and death in type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2014;57(12):2465–74.
 25. Kim J-J, Hwang B-H, Choi IJ, Choo E-H, Lim S, Kim J-K, et al. Impact of diabetes duration on the extent and severity of coronary atheroma burden and long-term clinical outcome in asymptomatic type 2 diabetic patients: evaluation by Coronary CT angiography. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2015;16(10):1065–73.
 26. Sheng Z, Zhou P, Liu C, Li J, Chen R, Zhou J, et al. Relationships of coronary culprit-plaque characteristics with duration of diabetes mellitus in acute myocardial infarction: an intravascular optical coherence tomography study. *Cardiovasc Diabetol*. 2019;18(1):136.
 27. Ho CY, Shanahan CM. Medial arterial calcification: an overlooked player in peripheral arterial disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2016;36(8):1475–82.
 28. Lanzer P, Boehm M, Sorribas V, Thiriet M, Janzen J, Zeller T, et al. Medial vascular calcification revisited: review and perspectives. *Eur Heart J*. 2014;35(23):1515–25.
 29. Stabley JN, Towler DA. Arterial calcification in diabetes mellitus: pre-clinical models and translational implications. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2017;37(2):205–17.
 30. Zwakenberg SR, van der Schouw YT, Schalkwijk CG, Spijkerman AMW, Beulens JWJ. Bone markers and cardiovascular risk in type 2 diabetes patients. *Cardiovasc Diabetol*. 2018;17(1):45.
 31. Sadat U, Mariam NGB, Usman A, Chowdhury MM, El Nakhil T, DaCosta OF, et al. Association between abdominal visceral artery calcification and all-cause mortality—a computerized tomography imaging-based longitudinal follow-up study. *Angiology*. 2018;70:237–43.
 32. Koo BK, Allison MA, Criqui MH, Denenberg JO, Wright CM. The association between liver fat and systemic calcified atherosclerosis. *J Vasc Surg*. 2020;71(1):204–11.
 33. Abaci A, Oğuzhan A, Kahraman S, Eryol NK, Unal S, Arinç H, et al. Effect of diabetes mellitus on formation of coronary collateral vessels. *Circulation*. 1999;99(17):2239–42.
 34. Silvestre J-S, Lévy BI. Molecular basis of angiopathy in diabetes mellitus. *Circ Res*. 2006;98(1):4–6.
 35. Lazarus SS, Volk BW. Pancreas in maturity-onset diabetes. Pathogenetic considerations. *Arch Pathol*. 1961;71:44–59.
 36. Gepts W. Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. *Diabetes*. 1965;14(10):619–33.
 37. Pollak OJ. Human pancreatic atherosclerosis. *Ann N Y Acad Sci*. 1968;149(2):928–39.
 38. Berns AW, Owens CT, Blumenthal HT. A histo- and immunopathologic study of the vessels and islets of langerhans of the pancreas in diabetes mellitus. *J Gerontol*. 1964;19:179–89.
 39. Stumpf HH. Microatheromas of very small arteries: unusual lesions involving primarily the pancreas. *Hum Pathol*. 1983;14(12):1039–43.
 40. Yu C-W, Shih TT-F, Hsu C-Y, Lin L-C, Wei S-Y, Lee C-M, et al. Correlation between pancreatic microcirculation and type 2 diabetes in patients with coronary artery disease: dynamic contrast-enhanced MR imaging. *Radiology*. 2009;252(3):704–11.
 41. Honka H, Hannukainen JC, Tarkia M, Karlsson H, Saunavaara V, Salminen P, et al. Pancreatic metabolism, blood flow, and β -cell function in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(6):E981–90.
 42. Alexandre-Heymann L, Mallone R, Boitard C, Scharfmann R, Larger E. Structure and function of the exocrine pancreas in patients with type 1 diabetes. *Rev Endocr Metab Disord*. 2019;20:129–49.
 43. Goda K, Sasaki E, Nagata K, Fukai M, Ohsawa N, Hahafusa T. Pancreatic volume in type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol*. 2001;38(3):145–9.
 44. Saisho Y. Pancreas volume and fat deposition in diabetes and normal physiology: consideration of the interplay between endocrine and exocrine pancreas. *Rev Diabet Stud*. 2016;13(2–3):132–47.
 45. Lim S, Bae JH, Chun EJ, Kim H, Kim SY, Kim KM, et al. Differences in pancreatic volume, fat content, and fat density measured by multidetector-row computed tomography according to the duration of diabetes. *Acta Diabetol*. 2014;51(5):739–48.

46. DeSouza SV, Singh RG, Yoon HD, Murphy R, Plank LD, Petrov MS. Pancreas volume in health and disease: a systematic review and meta-analysis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018;12(8):757–66.
47. Garcia TS, Rech TH, Leitão CB. Pancreatic size and fat content in diabetes: a systematic review and meta-analysis of imaging studies. *PLoS ONE*. 2017;12(7):e0180911.
48. Philippe M-F, Benabadji S, Barbot-Trystram L, Vadrot D, Boitard C, Larger E. Pancreatic volume and endocrine and exocrine functions in patients with diabetes. *Pancreas*. 2011;40(3):359–63.
49. Kou K, Saisho Y, Jinzaki M, Itoh H. Relationship between body mass index and pancreas volume in Japanese people. *JOP*. 2014;15(6):626–7.
50. Gilbeau JP, Poncelet V, Libon E, Derue G, Heller FR. The density, contour, and thickness of the pancreas in diabetics: cT findings in 57 patients. *AJR Am J Roentgenol*. 1992;159(3):527–31.
51. Walters MN. Adipose atrophy of the exocrine pancreas. *J Pathol Bacteriol*. 1966;92(2):547–57.
52. Catanzaro R, Cuffari B, Italia A, Marotta F. Exploring the metabolic syndrome: nonalcoholic fatty pancreas disease. *World J Gastroenterol*. 2016;22(34):7660–75.
53. Miyake H, Sakagami J, Yasuda H, Sogame Y, Kato R, Suwa K, et al. Association of fatty pancreas with pancreatic endocrine and exocrine function. *PLoS ONE*. 2018;13(12):e0209448.
54. Sakata N, Egawa S, Rikiyama T, Yoshimatsu G, Masuda K, Ohtsuka H, et al. Computed tomography reflected endocrine function of the pancreas. *J Gastrointest Surg*. 2011;15(3):525–32.
55. Kim MK, Chun HJ, Park JH, Yeo DM, Baek K-H, Song K-H, et al. The association between ectopic fat in the pancreas and subclinical atherosclerosis in type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2014;106(3):590–6.
56. Stamm BH. Incidence and diagnostic significance of minor pathologic changes in the adult pancreas at autopsy: a systematic study of 112 autopsies in patients without known pancreatic disease. *Hum Pathol*. 1984;15(7):677–83.
57. Aktas E, Uzman M, Yildirim O, Sahin B, Buyukcam F, Aktas B, et al. Assessment of hepatic steatosis on contrast enhanced computed tomography in patients with colorectal cancer. *Int J Clin Exp Med*. 2014;7(11):4342–6.
58. Ikeda N, Hara H, Hiroi Y. 1,5-Anhydro-D-glucitol predicts prevalence of coronary artery disease even in non-diabetic adults. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63(12, Supplement):A1331.
59. Wada H, Dohi T, Miyauchi K, Takahashi N, Endo H, Kato Y, et al. Impact of serum 1,5-anhydro-D-glucitol level on the prediction of severe coronary artery calcification: an intravascular ultrasound study. *Cardiovasc Diabetol*. 2019;18(1):69.
60. Taso M, Papadopoulou F, Smith MP, Tsai LL, Mortelet KJ, Alsop DC. Pancreatic perfusion modulation following glucose stimulation assessed by noninvasive arterial spin labeling (ASL) MRI. *J Magn Reson Imaging*. 2020;51(3):854–60.
61. Carlborn L, Espes D, Lubberink M, Eriksson O, Johansson L, Jansson L, et al. Pancreatic perfusion and subsequent response to glucose in healthy individuals and patients with type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2016;59(9):1968–72.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more biomedcentral.com/submissions



Chapitre 2 : Modèle murin : un modèle d'ischémie pancréatique par ligature de l'artère splénique

Après avoir montré que les artères irrigant le pancréas sont effectivement lésées, du moins dans le cas du DT2, nous avons voulu mieux comprendre les liens physiopathologiques entre anomalies vasculaires, ischémie pancréatique, diabète et anomalies du pancréas exocrine.

Pour cela, nous avons développé un modèle expérimental de ligature définitive de l'artère splénique chez la souris. L'artère splénique vascularisant la queue et une partie du corps du pancréas, cette ligature permet d'observer les effets directs de l'ischémie sur le tissu pancréatique (exocrine comme endocrine) irriguée par celle-ci, et de comparer le tissu atteint avec le tissu sain situé au niveau de la tête du pancréas, irrigué quant à lui par des branches d'autres artères. Nous avons également étudié les effets de cette ischémie partielle du pancréas sur la fonction pancréatique endocrine.

I Matériel et méthodes

1. Ligature de l'artère splénique

Pour élaborer ce modèle, nous avons travaillé avec des souris C57/Black 6 mâles âgées de 7 semaines au moment de la réalisation de la chirurgie. La technique opératoire, réalisée avec l'aide de Véronique Fauveau, était la suivante : après anesthésie à l'isoflurane et administration d'un antalgique (meloxicam), nous avons réalisé une laparotomie transversale large, puis avons exposé le pancréas sur sa face inférieure afin de visualiser l'artère splénique. Nous avons ensuite réalisé une dilacération du tissu immédiatement voisin de l'artère splénique afin de pouvoir passer un fil et réaliser la ligature de l'artère splénique le plus en amont de l'artère possible (c'est-à-dire au plus proche de sa naissance depuis le tronc coeliaque) avec du fil non résorbable. Nous avons ensuite laissé le nœud en place. Nous avons également cautérisé à l'aide d'un stylo à anse diathermique les artérioles de l'arcade située entre le pancréas et la rate, qui est une voie de revascularisation du pancréas et aurait empêché l'ischémie de la queue du pancréas si elle avait été laissée en place. Puis nous avons suturé les tissus plan par plan (**figure 14**).

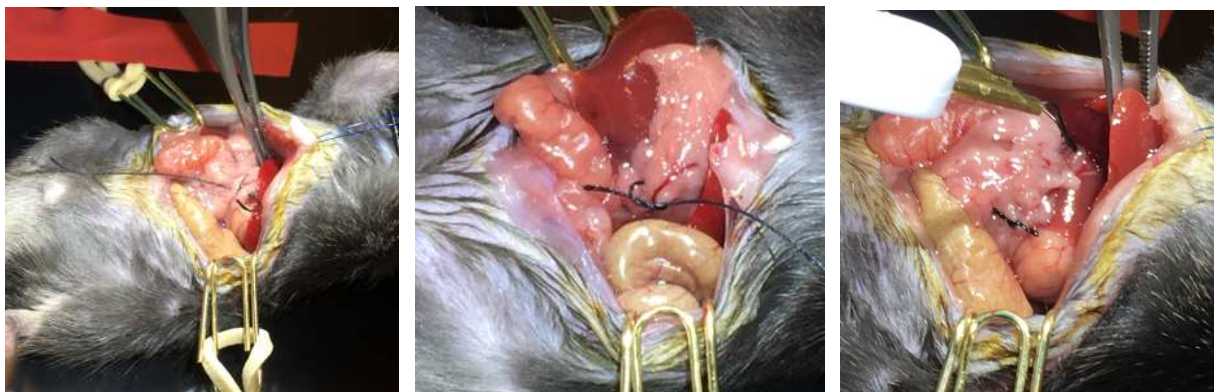
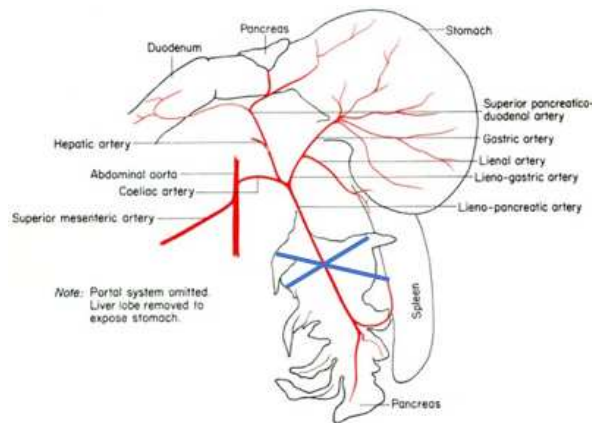


Figure 14. Ligature de l'artère splénique. En haut : rappels sur la vascularisation pancréatique de la souris. En bleu, position du nœud réalisé sur l'artère splénique. En bas : procédure chirurgicale. A gauche : passage du fil sous l'artère splénique. Milieu : réalisation de la ligature. A droite : nœud en place, cautérisation de l'arcade artériolaire située entre le pancréas et la rate.

Pour les souris témoins avec opération « sham », la procédure était identique jusqu'au passage du fil autour de l'artère, mais aucun nœud n'était réalisé et le fil était immédiatement retiré. La réalisation de cette procédure sham permet de comparer des souris opérées et des souris témoins ayant toutes eu une anesthésie, une incision abdominale, et pouvant développer une potentielle réaction inflammatoire au niveau du tissu pancréatique touché par les instruments, la seule différence entre les deux groupes restant la ligature de l'artère splénique et l'ischémie pancréatique qui en découle.

Après la chirurgie, les souris ayant eu une ligature et celles ayant eu une procédure sham ont été réparties dans les cages en proportions environ égales afin de s'affranchir d'un éventuel « effet cage » notamment au moment des tests fonctionnels. Elles ont eu une alimentation normale et ont été pesées à plusieurs reprises jusqu'au moment du sacrifice.

Nous avons réalisé 2 séries expérimentales afin d'observer les effets de l'ischémie après différentes durées : dans la première série, la moitié des souris ont été sacrifiées une semaine après la chirurgie (série « **J7** »), et l'autre moitié 3 semaines après la chirurgie (série « **J21** »). Dans la deuxième série, les souris ont été sacrifiées 6 semaines après la chirurgie (série « **J42** »). Dans chaque série, une partie des souris avaient une ligature de de l'artère splénique (groupe « **ischémie** »), et les autres une procédure sham (groupe « **sham** »).

2. Tests fonctionnels

2.1 Hyperglycémie provoquée par voie intrapéritonéale

Pour déterminer si les souris « ischémie » présentaient des anomalies de régulation glycémique, nous avons réalisé des tests d'hyperglycémie provoquée par voie intrapéritonéale (IntraPeritoneal Glucose Tolerance Test, ou IPGTT). Les souris étaient mises à jeun 4 à 6 heures avant le test. Elles étaient pesées, puis du glucose (2g/kg) était injecté par voie intrapéritonéale. La glycémie était alors mesurée par prise de sang à la queue avec lecture directe à l'aide d'un glucomètre OneTouch Vita à T0 (avant injection), puis à T15 (sauf pour la série à J7 où cette glycémie n'a pas pu être mesurée pour des raisons techniques), T30, T60 et T120.

2.2 Test de sécrétion d'insuline

Lors de l'IPGTT à J7 et J42, nous avons par ailleurs prélevé du sang à la queue sur capillaires de 18µL à T0 et T15. Le sang était conservé dans de la glace puis centrifugé pour récupérer le sérum, et enfin congelé à -20°C. Un test Elisa (Ultra Sensitive Mouse Insulin Elisa Kit, Crystalchem, réf 90080) a été réalisé sur des volumes de 5µL pour doser l'insulinémie.

3. Colorations et marquages

Le jour du prélèvement des organes, nous avons disséqué le pancréas des souris, en y laissant fixé une partie de la rate afin d'orienter les coupes. Les organes ont ensuite été fixés dans une solution de formaldéhyde à 3,7% (solution de formaldéhyde, Sigma Aldrich, réf F1268) pendant 72 heures (ou seulement 4 à 6 heures pour les souris ayant eu une injection de pimonidazole, cf plus bas), puis inclus en paraffine.

Des coupes de 5 µm (5 séries de 20 coupes consécutives par pancréas, à raison de 2 coupes par lame, chaque série étant séparée de 150 µm) ont été réalisées (228,229).

Après réalisation des colorations ou de l'immuno-marquage de l'insuline, les lames ont été numérisées avec le scanner de lames Lamina (Perkin Elmer), puis les images ont été traitées dans le logiciel Pannoramic Viewer, et enfin analysées à l'aide du logiciel ImageJ.

Les microscopes utilisés pour la réalisation des photographies de coupes étaient les Leica DM4000B et DM5000B.

3.1 Colorations « simples »

Nous avons tout d'abord réalisé des colorations simples afin d'observer l'aspect histologique global des coupes et de chercher des anomalies de structure qui seraient apparues à la suite de la ligature. Nous avons réalisé des colorations par bleu de toluidine, hématoxyline/éosine, et trichrome de Masson.

3.2 Marquage insuline « stable »

Pour tous les marquages décrits ci-dessous, les lames ont d'abord été déparaffinées et réhydratées suivant le protocole suivant : passage des lames dans des bains de xylène (3 * 5 minutes) puis dans des bains d'éthanol 100% (2*2minutes), 95% (3 minutes), et 70% (3 minutes).

Pour le marquage décrit ci-dessous, un dernier bain préparatoire dans de l'éthanol-H2O2 1% pendant 10 minutes a été réalisé pour bloquer les peroxydases endogènes.

Après déparaffinage, les lames ont été perméabilisées par TBS/Triton 0,1% (Triton X100, Sigma Aldrich, réf 9002-93-1), puis le blocking a été réalisé à l'aide de TBS/BSA 3%/Tween 0,1% (Bovine Serum Albumine, Sigma Aldrich, réf A7906 ; Tween 20, Biosolve, réf 204523) pendant 30 minutes. Les lames ont ensuite été incubées à 4°C pendant une nuit avec l'anticorps primaire (AC anti insuline de souris, Sigma Aldrich, réf I2018) dilué au 1/1000 dans du TBS/BSA 3%/Tween 0,1% ; puis à température ambiante pendant 1 heure avec l'anticorps secondaire (Ig anti souris produite chez le mouton, liée à HRP, Amersham Biosciences, réf NA931) dilué au 1/200. Enfin, le marquage a été révélé par diaminobenzidine (DAB, Vector Laboratories, réf SK-4100) et un contremarquage par hématoxyline a été réalisé.

3.3 Marquages en immunofluorescence

Après déparaffinage, le démasquage des antigènes a été réalisé dans la plupart des cas par chauffage au microondes (3 * 4 minutes à une puissance de 750 W) dans une solution de citrate

(18 mL d'acide citrique 0,1M, 82 mL de citrate de sodium 0,1M dilué dans de l'eau milliQ pour un volume total d'1L). Les lames étaient ensuite perméabilisées par TBS1X/Triton 0,1% puis bloquées dans du TBS 1X/ BSA 3%/ Tween 0,1%.

Les anticorps primaires étaient ensuite posés, dilués dans la solution de blocking, pour une nuit à 4°C. Les anticorps secondaires étaient ensuite déposés pour 2 heures à température ambiante.

En ce qui concerne le marquage du SMA, le démasquage était réalisé dans une solution de Tris 10mmol/L, pH8/EDTA 1 mmol/L, pH8, 4 minutes à 850 W puis 12 minutes sur décongélation.

Pour le marquage CD31, le démasquage était réalisé dans la solution de citrate en cocotte-minute pendant 10 minutes à 110°C. La perméabilisation était réalisée dans du TBS 1X/Triton 1%., le blocking dans du TBS/ BSA 3%/ Tween 0,1% / Triton 0,1%.

AC utilisés :

- AC primaires : Insuline mouse (cité plus haut) au 1/2000 ; AC anti insuline de lapin au 1/1000, Immunostar, réf 20056 ; AC anti Smooth Muscle Actin (SMA) de souris, Dako, réf M0851 au 1/100; AC anti CD31 de rat, Dianova, réf DIA310 au 1/50 ; AC anti périlipine-1 de lapin, abcam, réf ab3526 ; AC anti PDX1 de lapin (230).

- AC secondaires : AC anti lapin AF488 conjugué produit chez la chèvre, ThermoFisher, réf A 11034 ; AC anti souris AF594 conjugué produit chez la chèvre, Jackson ImmunoResearch, réf 115-585-003 ; AC anti rat AF488 conjugué produit chez la chèvre (Life Technologies, réf A11006), tous au 1/400.

3.4 Marquage pimonidazole

Chez 3 souris de la série J7, 2 de la série J21 et 5 de la série J42, un marquage par pimonidazole a été réalisé : une injection de pimonidazole (hypoxyprobe-1 Kit, réf NA-HP1-100KIT) 60mg/kg, soit environ 1,5mg par souris, était injecté en intrapéritonéal environ 1 heure avant le sacrifice. Les pancréas étaient ensuite disséqués de la même façon que chez les autres souris mais fixés seulement 4 à 6 heures avant d'être mis en paraffine et coupés comme les autres pancréas. Un lobe de foie était également prélevé chez ces souris pour avoir un tissu témoin positif (cf plus bas). Après déparaffinage et réhydratation, le démasquage était réalisé comme pour les immunofluorescences « classiques ».

AC primaire utilisé : AC anti-pimonidazole monoclonal de souris (hypoxyprobe 1 kit), dilué au 1/75, incubation à 4°C sur la nuit.

AC secondaire : AC anti souris AF594 cité ci-dessus.

Le pimonidazole se distribue à tous les tissus après injection, et forme des dépôts dans les tissus lorsque la pression partielle en oxygène y est inférieure ou égale à 10mmHg à 37°C. Ainsi, si le marquage apparaît, cela signe que la zone marquée est en hypoxie. Le foie présente naturellement des zones hypoxiques, ce qui permet d'avoir un témoin positif du marquage au pimonidazole.

4. Analyse

4.1 Analyse statistique des tests fonctionnels

- Pour les IPGTT, l'aire sous la courbe de l'IPGTT de chaque souris a été calculée, puis les aires sous la courbe des groupes ischémie et sham ont été comparées par le test de Mann-Whitney.
- Pour les insulínémies, les insulínémies à T0 et à T30 ont été comparées entre les groupes ischémie et sham par le test de Mann-Whitney.

4.2 Surface des cellules bêta

Pour calculer la surface de cellules bêta moyenne dans chaque pancréas, nous avons choisi 5 coupes par pancréas, avec un espace de 150 μ m entre chaque coupe pour permettre une meilleure représentativité. Sur chaque coupe, la surface de cellules bêta, exprimée en nombre de pixels, était estimée dans le logiciel ImageJ, puis rapportée à la surface totale de tissu pancréatique sur la même coupe, afin de normaliser cette surface à la taille du pancréas. Une moyenne des rapports de surface des 5 coupes par pancréas était alors réalisée. Dans certaines études de la littérature, cette moyenne est parfois multipliée par le poids du pancréas pour obtenir une évaluation de la « masse bêta ». Nous ne l'avons pas fait car, ayant laissé une partie de la rate en place, la pesée des pancréas était impossible.

Le rapport de surface bêta/pancréas a été comparé entre les groupes ischémie et sham à chaque temps post-opératoire par le test de Mann-Whitney, et entre les différents temps par le test de Kruskal-Wallis.

4.3 Atrophie acinaire

L'atrophie acinaire a été évaluée sur des coupes en coloration standard. Un score a été établi de la manière suivante :

0 = pas d'atrophie ; 1 = atrophie légère (en bordures de lobules, ou quelques cellules éparses) ;
2 = atrophie modérée (atrophie étendue sur 1 ou 2 lobules) ; 3 : atrophie sévère (atrophie étendue sur plus de 2 lobules).

4.4 Fibrose

Un score de fibrose a été établi et analysé sur les lames marquées par anti SMA (qui marque la paroi musculaire des artères et artérioles, mais aussi les péricytes activés et la fibrose intratissulaire qui en découle) et sur les lames colorées au trichrome de Masson.

Le score a été établi de la manière suivante :

0 = pas de fibrose ; 1 = fibrose légère (marquage rare) ; 2 = fibrose modérée (marquage plus étendu sur de petites zones) ; 3 = fibrose extensive (marquage sur une surface importante de la zone ischémique).

4.5 Involution graisseuse

Nous avons évalué la proportion de surface de tissu adipeux par rapport à la surface de pancréas total observée, avec la cotation suivante :

<10% de la surface totale ; 10 à 30 % de la surface ; > 30% de la surface totale de pancréas.

Pour les scores d'atrophie acinaire et de fibrose ainsi que pour l'involution graisseuse, nous n'avons pas réalisé de test statistique devant le petit nombre de souris évalué et les scores « visuels » réalisés.

II Résultats

1 Effets généraux de la ligature de l'artère splénique

1.1 Mortalité, état général, poids des souris

La première série d'expérimentations a porté sur 30 souris. Trois sont mortes dans les suites immédiates de la chirurgie (en raison d'hémorragies massives suite à une rupture de l'artère ligaturée).

- Quatorze ont été sacrifiées une semaine après la chirurgie (série « J7 »). Parmi celles-ci, 1 souris est morte au moment de la réalisation du test d'IPGTT probablement en raison d'une

injection de glucose intraviscérale. **Huit** souris analysables avaient eu une ligature de l'artère splénique et **5** une procédure **sham**.

- Treize ont été sacrifiées trois semaines après la chirurgie (série « **J21** »). Parmi celles-ci, **8** souris analysables étaient en « **ischémie** », et **5** en « **sham** ».

La deuxième série a porté sur 20 souris. Une souris est morte dans les suites immédiates de la chirurgie par hémorragie massive. Les 19 restantes ont été sacrifiées 6 semaines après la chirurgie (série « **J42** »). **Treize** souris analysables étaient en « **ischémie** » et **6** en « **sham** ».

Les souris « ischémie » n'ont pas présenté de signe particulier de souffrance par rapport aux souris « sham ». Le poids des souris a diminué de façon plus importante dans le groupe ischémie lors des premiers jours après la chirurgie, puis s'est rapidement égalisé entre les 2 groupes (**tableau 1**).

	Ischémie (% du poids initial)	Sham (% du poids initial)	p
J7	- 2,3	- 4,3	0,7
J21	+ 0,7	-5,1	0,2
J42	+7,6	+6,2	0,6

Tableau 1. Variation de poids entre le jour de la chirurgie (poids avant chirurgie, J0) et le jour du sacrifice (respectivement à J7, J21 ou J42) en pourcentage du poids initial. (Variation = ((poids au jour du sacrifice-poids J0)/ poids J0)*100).

1.2 Aspect macroscopique des pancréas

Les souris ayant eu une ligature de l'artère splénique présentaient des signes de réaction inflammatoire péritonéale globale à la dissection, avec de nombreuses adhérences digestives et des difficultés pour séparer les organes, non retrouvées chez les souris « sham ». Une zone nécrotique indurée était quasi systématiquement retrouvée dans la partie ischémisée du pancréas, formant un nodule pouvant atteindre 5 à 8 mm de diamètre. Cette zone était bien visible à l'histologie globale du pancréas, et avait tendance à régresser à J42 par rapport aux temps plus précoces (**figure 15**).

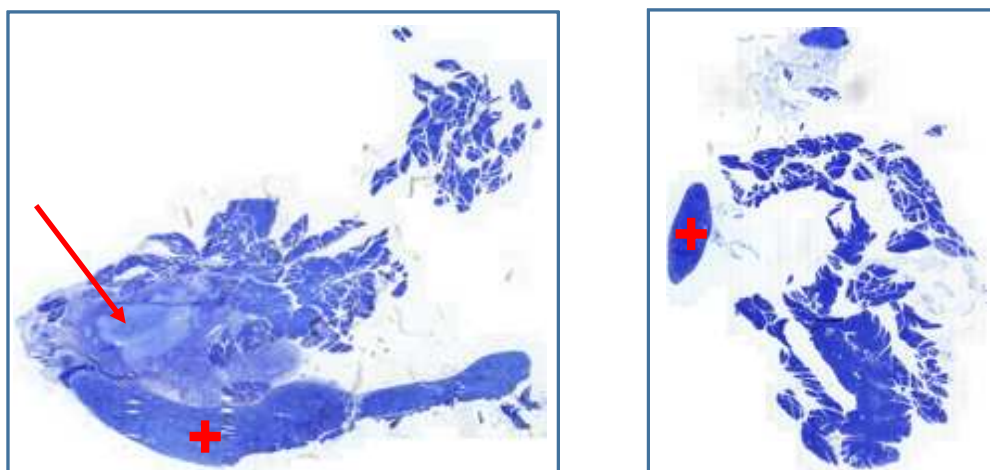


Figure 15. Coupes de pancréas entiers à J21. Marquage au bleu de toluidine. A gauche, pancréas de souris « ischémie » avec une zone nécrotique importante (flèche rouge). A droite, pancréas de souris « sham » ne présentant pas de zone nécrotique. Zones plus denses marquées par des croix : rate, permettant d'orienter la coupe.

1.3 Hypoxie

Le marquage au pimonidazole montre que la zone irriguée par l'artère splénique présente bien des signes d'hypoxie après ligature chez les souris à J7, alors qu'il n'y a aucune zone marquée chez les souris « sham ». Le marquage n'est plus visible chez les souris à J21 ni à J42, ce qui tend à montrer que les zones initialement en hypoxie sont à nouveau vascularisées normalement (ou en tout cas avec moins de conséquences) à distance de la ligature. Le marquage hépatique utilisé comme témoin positif est bien présent à tous les temps, montrant que l'absence de marquage pancréatique n'est pas lié à un défaut de distribution du pimonidazole (**figure 16**).

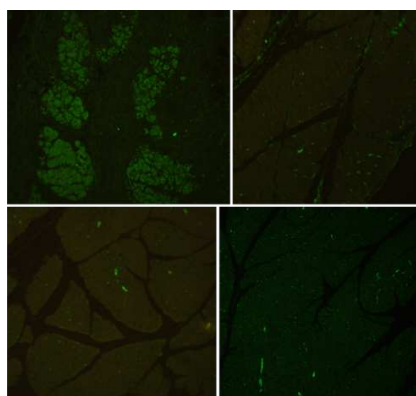


Figure 16. Marquage au pimonidazole (en vert). En haut à gauche : Zone irriguée par l'artère splénique chez une souris ayant subi une ligature, J7. En haut à droite : zone vascularisée par une autre arcade (non ligaturée), même souris. En bas à gauche : zone irriguée par l'artère splénique, souris « sham », J7. En bas à droite : zone irriguée par l'artère splénique, souris « ischémie », J42. Marquage de l'hypoxie clairement visible uniquement à J7 dans la zone d'ischémie. (Les vaisseaux sont marqués partout en raison de l'autofluorescence des globules rouges).

2. Pancréas endocrine

2.1 Régulation glycémique

La régulation glycémique n'est pas affectée par la ligature de l'artère splénique chez les souris « ischémie » par rapport aux souris « sham », quelle que soit la durée après la chirurgie (à J7, J21 ou J42). Ainsi, les réactions à l'IPGTT sont similaires entre les 2 groupes, avec des aires sous la courbe ne différant pas statistiquement (**figure 17**).

De façon similaire, les insulinémies ne sont pas différentes entre les groupes ischémie et sham, l'ischémie de la queue du pancréas ne semble donc pas influencer sur la sécrétion d'insuline. Ainsi, à J7, l'insulinémie médiane à T0 est de 0,23ng/mL dans le groupe « ischémie » et de 0,37 dans le groupe « sham » ($p = 0,5$). A T30, elle est de 0,98ng/mL et 0,93, respectivement ($p = 0,9$). A J42, l'insulinémie médiane à T0 est de 0,96ng/mL dans le groupe « ischémie » et de 0,56 dans le groupe « sham » ($p = 0,16$). A T30, elle est de 1,1ng/mL et 1,2, respectivement ($p = 1$).

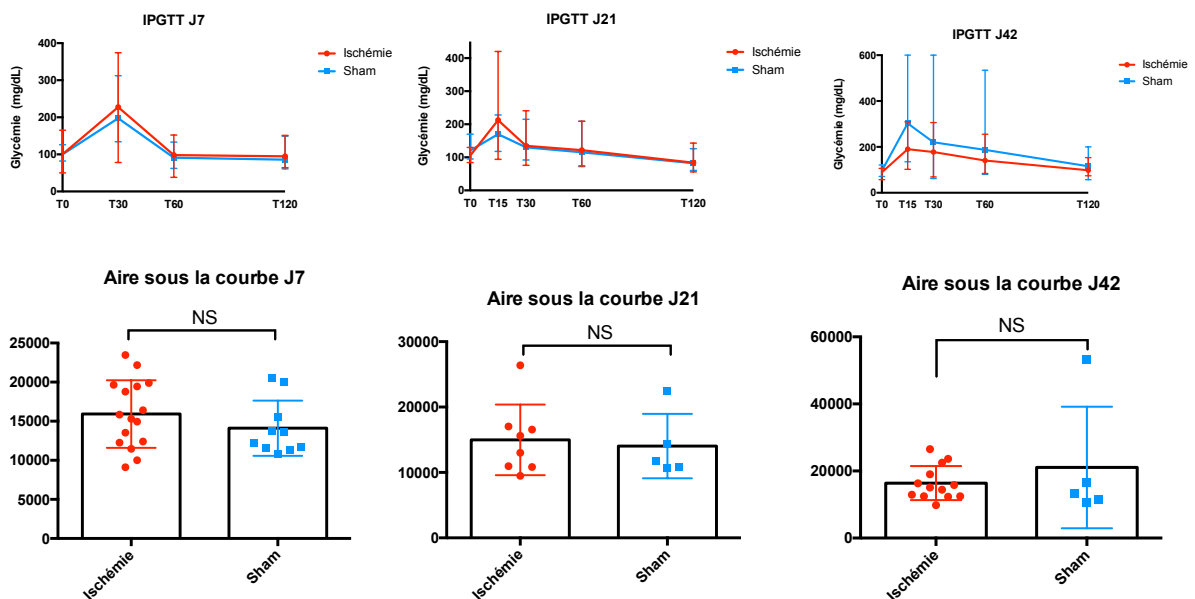


Figure 17. IPGTT. En haut : glycémies aux temps T0, T15, T30, T60 et T120 après injection de glucose par voie intrapéritonéale, à J7, J21 et J42. Rouge : ischémie, bleu : sham. En bas : aires sous la courbe des IPGTT à J7, J21, J42. Rouge : ischémie, bleu : sham.

2.2 Cellules bêta

Contrairement à la régulation glycémique et à la sécrétion d'insuline, qui ne semblent pas perturbées par l'ischémie de la queue du pancréas, la ligature de l'artère splénique a eu un effet sur les cellules bêta. Le pourcentage de cellules bêta par rapport à la surface totale de pancréas a été estimée chez 7 souris à J7 (4 « ischémie », 3 « sham »), 7 souris à J21 (4 « ischémie », 3 « sham ») et 14 souris à J42 (9 « ischémie », 5 « sham »).

Le pourcentage de cellules bêta tend à être inférieur chez les souris « ischémie » par rapport aux souris « sham » à J7 et J21 (médiane à 0,12 contre 0,26%, $p = 0,057$; et 0,12 contre 0,30%, $p = 0,057$, respectivement). En revanche, cette différence n'est plus présente à J42 (0,46 contre 0,32, $p = 0,23$).

On observe donc une différence importante entre les pourcentages de surface bêta aux différents temps post-opératoires chez les souris « ischémie » ($p < 0,0001$) mais pas chez les souris « sham » ($p = 0,23$) (**figure 18**).

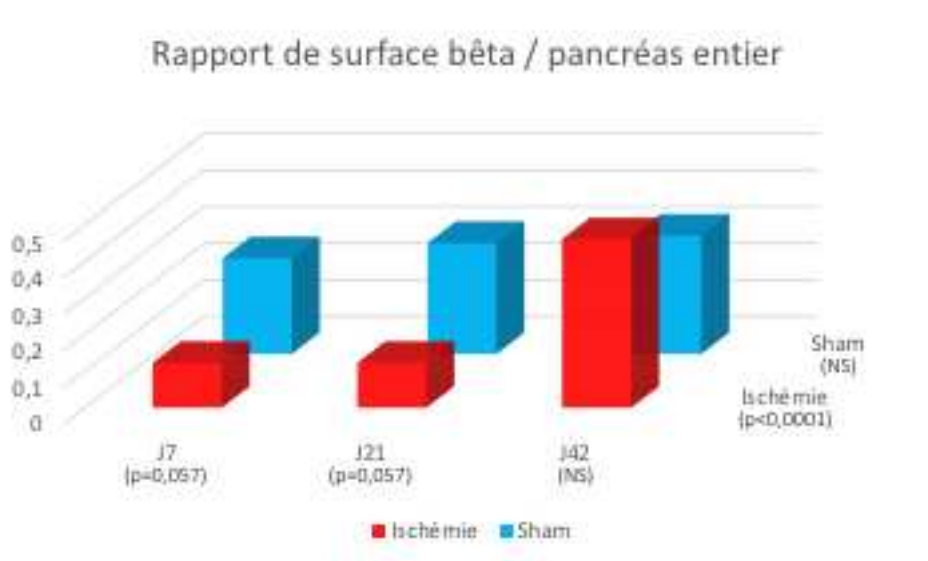


Figure 18. Médiane des rapports de surface des cellules bêta / surface du pancréas entier en pourcent. En rouge, souris « ischémie », en bleu, souris « sham ». Gauche série J7, milieu série J21, droite série J42.

Nous avons également réalisé des co-marquages PDX1/insuline en immunofluorescence. Le facteur de transcription PDX1 est exprimé dans tous les progéniteurs pancréatiques lors de l'embryogenèse, mais n'est plus exprimé que dans les cellules bêta et delta dans le pancréas adulte. Les résultats n'étaient pas assez homogènes pour réaliser une analyse statistique en raison de difficultés techniques (marquage nécessitant des lames coupées très fraîchement, plus efficace sur des organes ayant eu une durée de fixation courte...).

Cependant, nous avons pu montrer que chez les souris chez qui le marquage fonctionne, PDX1 comarque bien avec l'insuline. Sur certaines coupes, on observe des cellules insuline + / PDX1- mais le sens de ce marquage est difficile à interpréter car il est observé à tous les temps après la chirurgie, et y compris chez des souris « sham », et peut être simplement un effet des difficultés de marquage. A l'inverse, des cellules PDX1+/ insuline – n'ont été observées que chez des souris « ischémie » à J42 (**figure 19**), associées à un marquage insuline moins intense que pour d'autres îlots.

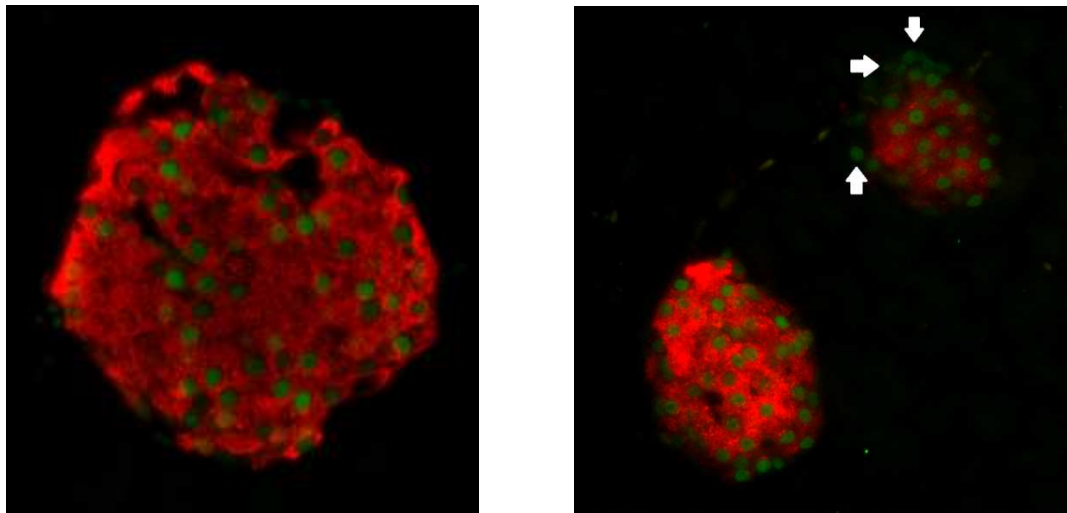


Figure 19. Comarquage insuline / PDX1. Insuline : rouge, PDX1 : vert. Grossissement x400. A gauche : souris « sham » J42. A droite, souris « ischémie » J42. Plusieurs cellules sont PDX1 +/ insuline – (flèches blanches).

3. Pancréas exocrine

Tous les pancréas de souris « ischémie » à J7 et J21 présentent une zone avec centre nécrotique. Cette zone est entièrement dépourvue de vaisseaux, atone (**figure 20**), avec à l'inverse une réaction inflammatoire à sa périphérie, avec de nombreux petits vaisseaux et un halo inflammatoire avec de nombreux leucocytes CD45+.

A J42, seulement 33% des souris ont encore un véritable centre nécrotique visible, de plus petite taille. Il semble avoir complètement régressé chez les autres.

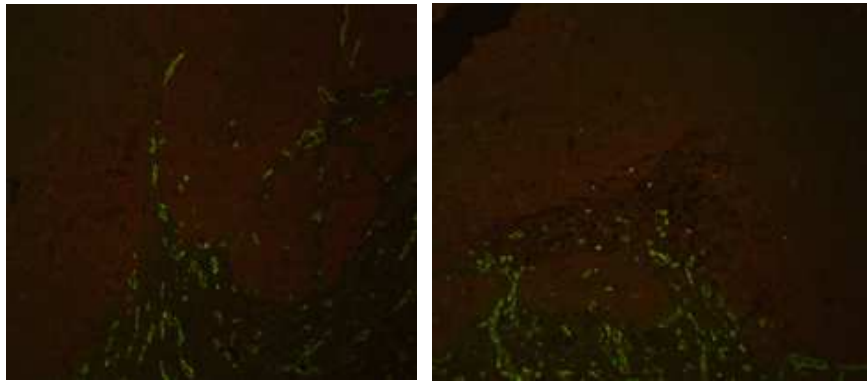


Figure 20. Marquage CD31. CD31 en vert, insuline en rouge. Souris « ischémie » à J7. La zone nécrotique ne présente plus aucun vaisseau marqué, n'a plus de structure histologique reconnaissable, et aucun îlot n'y est identifiable. En périphérie, on observe des travées très vascularisées.

Autour de cette zone purement nécrotique, on observe une zone de pancréas intermédiaire, qui n'est pas détruite mais qui a probablement reçu un flux sanguin intermédiaire entre la zone purement en ischémie et les zones irriguées normalement. Cette zone d'hypoxie modérée présente des signes qu'on observe habituellement dans les pancréatites chroniques, mais également dans le pancréas exocrine des patients présentant un diabète. Ainsi, on observe une atrophie acinaire, des marques de fibrose intra et interlobulaires, et une involution graisseuse du pancréas exocrine. Toutes ces anomalies sont évidentes à J7 et J21, et régressent en partie à J42, témoignant de capacités de régénération du pancréas exocrine chez les souris après revascularisation. Les anomalies en question ont été évaluées sur les pancréas des mêmes souris que pour l'évaluation de la surface de cellules marquées pour l'insuline (**tableau 2**).

3.1 Atrophie acinaire

Sur un score allant de 0 (aucune atrophie acinaire) à 3 (atrophie étendue sur plus de 2 lobules), les scores moyens d'atrophie sont respectivement de 2, 1,75, et 0,67 chez les souris « ischémie » à J7, J21 et J42. Chez les souris « sham », les scores moyens sont inférieurs, évalués à 0,33, 0,67 et 0,2 à J7, J21 et J42, respectivement.

3.2 Fibrose

Sur un score allant de 0 (pas de fibrose) à 3 (fibrose extensive), les scores moyens de fibrose sont de 1,25, 1,40, et 0,88 à J7, J21 et J42 chez les souris « ischémie ». Chez les souris « sham », les scores moyens sont de 0, 1 et 0 à J7, J21 et J42.

Un score de 0 (aucun signe de fibrose) est observé chez 100% des souris à J7 et J42 et dans 67% des cas à J21 chez les souris « sham ». Chez les souris « ischémie », le score 0 n'est observé que dans 25, 20 et 44% des cas à J7, J21 et J42, respectivement.

3.3 Involution graisseuse

En ce qui concerne l'involution graisseuse, on observe que les souris ayant subi une ligature de l'artère splénique présentent des zones graisseuses plus étendues que les souris « sham », surtout à J21 (**tableau 2**) : les souris « sham » et les souris « ischémie » à J7 ont quasi toutes une surface graisseuse représentant moins de 10% de la surface de pancréas total (sauf les souris « sham » à J21, sans explication retrouvée), alors que plusieurs souris « ischémie » à J21 ont plus de 30% de surface de tissu adipeux, et que la plupart des souris « ischémie » à J42 ont entre 10 et 30% de surface de tissu adipeux. De façon intéressante, on observe des zones de tissu paraissant mixtes (tissu adipeux et tissu exocrine semblant faire partie d'une même structure histologique). Par ailleurs, des cellules marquées à l'insuline sont parfois notées dans ces zones de tissu adipeux, et à J42, on observe même quelques îlots au sein du tissu adipeux (**figure 21**).

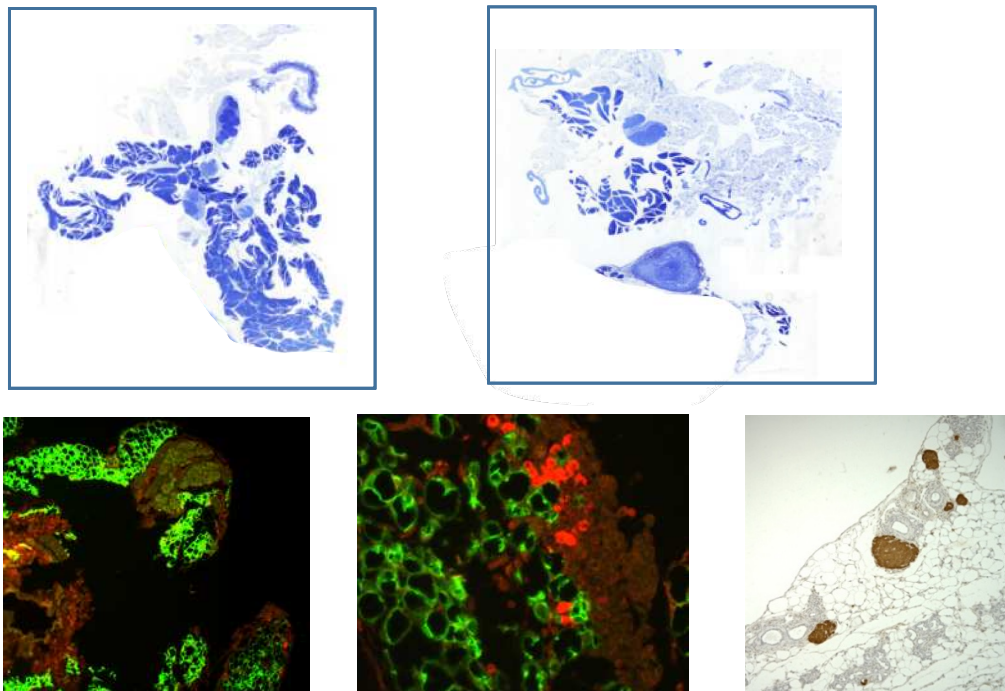


Figure 21. Involution graisseuse. Ligne du haut : coupes de pancréas complet, images au scanner de lame, coloration bleu de toluidine. A gauche : J21 « sham », à droite : J21 « ischémie ». La zone de tissu adipeux est plus importante chez la souris « ischémie ». A noter, zone de nécrose en bas au centre de l'image de droite. Ligne du bas : A gauche et au milieu, marquage périlipine-1 (cellules adipeuses) en vert et insuline en rouge, chez une souris « ischémie » à J21, x200 à gauche, x400 au milieu. Présence de zones mixte de tissu adipeux et exocrine, et de cellules insuline + au contact du tissu adipeux. A droite : marquage insuline (marron), x100. Présence d'îlots au sein d'un tissu quasi exclusivement adipeux.

	Surface de cellules bêta / surface de pancréas total (en %)	Atrophie acinaire (score)	Fibrose (score)	Involution graisseuse (% de la surface totale de pancréas)
Groupe « ischémie »				
J7 1	0,17	1	2	<10
J7 2	0,06	2	2	10-30
J7 3	0,18	2	1	<10
J7 4	0,07	3	0	<10
J21 1	0,11	2	2	<10
J21 2	0,13	3	2	10-30
J21 3	0,14	0	1	>30
J21 4	0,05	2	0	>30
J42 1	0,30	1	1	10-30
J42 2	0,35	0	0	< 10
J42 3	0,48	1	0	10-30
J42 4	0,36	3	3	10-30
J42 5	0,47	0	2	10-30
J42 6	0,47	0	0	< 10
J42 7	0,46	0	1	< 10
J 42 8	0,67	0	0	10-30
J42 9	0,50	1	1	10-30

Groupe « sham »	Surface de cellules bêta / surface de pancréas total (en %)	Atrophie acinaire	Fibrose	Involution graisseuse (en %)
SJ7 1	0,26	1	0	10-30
SJ7 2	0,48	0	0	<10
SJ7 3	0,21	0	0	<10
SJ21 1	0,50	0	3	10-30
SJ21 2	0,25	1	0	10-30
SJ21 3	0,30	1	0	10-30
SJ42 1	0,40	0	0	< 10
SJ42 2	0,26	0	0	< 10
SJ42 3	0,55	1	0	< 10
SJ42 4	0,32	0	0	< 10
SJ42 5	0,32	0	0	< 10

Tableau 2. Résumé des observations histologiques sur les pancréas de souris « ischémie » et « sham » à J7, J21 et J42. Rapport de surface de cellules bêta / pancréas total exprimé en %. Score d'atrophie acinaire : 0 = pas d'atrophie ; 1 = atrophie légère (en bordures de lobules, ou quelques cellules éparses) ; 2 = atrophie modérée (atrophie étendue sur 1 ou 2 lobules) ; 3 : atrophie sévère (atrophie étendue sur plus de 2 lobules). Score de fibrose : 0 = pas de fibrose ; 1 = fibrose légère (marquage rare) ; 2 = fibrose modérée (marquage plus étendu sur de petites zones) ; 3 = fibrose extensive (marquage sur une surface importante de la zone ischémique). Involition graisseuse exprimée en pourcentage de tissu adipeux / tissu pancréatique total (<10% de la surface totale, entre 10 et 30 %, ou > 30%).

III Discussion

Avec ce modèle de ligature de l'artère splénique chez des souris de 7 semaines, nous avons donc cherché à connaître les effets d'une ischémie pancréatique tant sur le pancréas endocrine que sur le pancréas exocrine. Cette ligature a effectivement eu pour conséquence un infarctus d'une partie de la queue du pancréas, avec une partie complètement nécrosée et une réaction inflammatoire en périphérie.

L'une des limites de ce modèle est bien sûr qu'il est trop « radical » pour se rapprocher d'hypoxies plus modérées qu'on observe probablement de façon beaucoup plus fréquente, par exemple en raison du rétrécissement de diamètre artériel dans un contexte d'athérosclérose. Cependant, la partie du pancréas qui nous intéresse le plus n'est finalement pas la zone de nécrose, mais celle située à sa périphérie : un tissu pancréatique lui aussi en partie vascularisé par l'artère splénique, mais qui reçoit probablement une petite part de vascularisation d'autres artères, ceci menant certainement à une ischémie seulement modérée. Cette zone du pancréas présente des anomalies qui, de façon intéressante, sont similaires aux lésions observées dans le pancréas exocrine des patients présentant un diabète.

Le même type de modèle avait été étudié seulement à 2 reprises à notre connaissance. Chez le chien, d'abord, dans l'idée de construire un modèle de pancréatite chronique, en associant une obstruction incomplète du canal pancréatique principal et une ischémie chronique par ligature de branches de l'artère splénique. Chez les chiens qui avaient seulement la ligature vasculaire (sans obstruction canalaire) étaient observés des lésions acinaires, un infiltrat inflammatoire, une fibrose inter et intralobulaire, et une transformation graisseuse d'une partie du pancréas (231). L'autre modèle est celui des lapins Watanabe heritable hyper-lipidemic (WHHL). Ces lapins présentant une hypercholestérolémie ont souvent des épaississements de parois, voire des thromboses d'artères pancréatiques. Dans ces cas, sont fréquemment observés une fibrose, des anomalies acinaires, des zones de nécrose, et une dégénérescence graisseuse plus ou moins prononcée (232).

La régulation glycémique n'a pas été étudiée dans ces 2 études.

1. Pancréas endocrine

Sur le plan endocrinien, on observe chez les souris qui ont eu une ligature de l'artère une réduction du rapport de surfaces de cellules marquées par l'anticorps anti-insuline par rapport au pancréas total en comparaison aux souris ayant eu une procédure sham à J7 et à J21 après la

chirurgie. La différence entre les 2 groupes n'est pas significative avec des p à 0,057, mais probablement par manque de puissance, le nombre de souris par groupe étant faible.

Cette probable réduction de quantité des cellules bêta peut être expliquée par le fait que des îlots se sont nécrosés en même temps que le reste du pancréas dans la zone de nécrose observée chez les souris opérées, avec une perte du nombre total d'îlots. Il est également possible qu'une partie des îlots dans les zones « intermédiaires » ont également souffert de l'hypoxie.

De façon intéressante, à J42, on n'observe plus de différence dans les rapports de surface entre souris « ischémie » et souris « sham », et on voit que le rapport de surface augmente de façon franche chez les souris opérées entre J21 et J42. Ainsi, on peut penser que la première phase d'ischémie laisse ensuite la place à une phase de régénération des tissus, et que des îlots se « reconstituent ». Ceci est corroboré par la présence d'îlots dans des zones de pancréas clairement en souffrance, par exemple en partie adipeuses, souvent à proximité de canaux pancréatiques. Par ailleurs, la présence de cellules PDX1+/insuline- chez les souris « ischémie » à J42 pourrait également être en faveur de cette hypothèse : en effet, certaines études montrent que les cellules marquées par PDX1 sans marquage d'insuline pourraient être un marqueur de néogenèse de cellules bêta ou de régénération après destruction de celles-ci. Cette régénération aurait souvent lieu à proximité des canaux pancréatiques (233,234).

La régénération du pancréas endocrine est un sujet controversé. Les souris utilisés dans les présentes expérimentations sont encore jeunes, ce qui pourrait expliquer les capacités préservées de régénération des îlots, car les études tendent à montrer que ces capacités diminuent fortement avec l'âge (235–237), voire disparaissent complètement chez l'humain adulte (238), bien qu'une étude récente ait montré des possibilités de régénération pancréatique chez l'Homme dans certaines conditions (239). On sait également que dans certaines conditions (grossesse, obésité, insulino-résistance), même chez les animaux adultes, on peut observer une augmentation importante de la masse des cellules bêta (240). Les mécanismes de cette augmentation de masse bêta (ou de régénération de cellules bêta dans les cas faisant suite à une destruction) sont encore en cours d'exploration. Les différentes hypothèses proposées sont la réplication de cellules bêta existantes (241), la transdifférentiation de cellules alpha ou delta en cellules bêta (242), et la néogenèse de cellules bêta à partir de progéniteurs qui pourraient être situés surtout au niveau des canaux pancréatiques, cette dernière hypothèse étant encore discutée (243,244).

Contrastant avec ces observations histologiques, nous n'avons observé aucune différence de régulation glycémique ou de sécrétion d'insuline entre les souris « ischémie » et les souris « sham », quelle que soit la durée après la chirurgie. Bien que différents mécanismes (destruction des îlots, diminution du passage de l'insuline dans la circulation générale en raison des lésions vasculaires par exemple) auraient pu induire une hyperglycémie, ces lésions sont probablement insuffisantes pour aboutir à véritable dysrégulation des glycémies.

En effet, différentes études ont montré qu'un pourcentage de destruction des îlots important est nécessaire pour déclencher un diabète : chez la souris, on estime qu'une destruction de 75 à 90% des îlots est requise (245–249). De façon intéressante, on a longtemps estimé également qu'une destruction d'environ 80% des îlots était nécessaire à l'apparition du DT1 chez l'Homme. En réalité, cette proportion pourrait décroître avec l'âge : la destruction de seulement 40 à 50% des îlots pourrait « suffire » lorsque le DT1 est découvert à l'âge de 20 ans, probablement en raison de l'apparition d'autres facteurs (insulinorésistance par exemple) (250). Dans le cas des souris de la présente étude, la diminution de 40 à 50% de la surface de cellules bêta ne se manifeste donc pas par une hyperglycémie.

2. Pancréas exocrine

Le pancréas exocrine des souris « ischémie » présente des lésions que l'on retrouve dans le pancréas des patients présentant une pancréatite chronique, mais aussi un DT1 ou un DT2. Ainsi, la zone ischémique non nécrosée présente les signes suivants : atrophie acinaire, fibrose inter et intralobulaire, dégénérescence graisseuse.

Comme ce qui est observé pour le pancréas endocrine, on note que les lésions d'atrophie acinaire et de fibrose sont marquées chez les souris « ischémie » par rapport aux souris « sham » à J7 et J21 après la chirurgie. Ces lésions régressent en partie à J42. La notion de régénération du pancréas exocrine, notamment chez la souris, est plus communément acceptée que pour le pancréas endocrine (240,251). Les mécanismes de régénération évoqués sont la prolifération de cellules acinaires préexistantes et la transdifférentiation (ou redifférentiation) à partir de cellules canalaire (252,253).

La régénération pancréatique exocrine chez l'humain est moins bien connue. La prolifération cellulaire et des phénomènes de trans / redifférentiation sont décrits après des épisodes de pancréatite aiguë non sévère (254,255), mais il n'est pas certain qu'une régénération complète soit possible après ce type d'événement. Dans le cas des lésions du pancréas exocrine liées au

diabète, il est donc possible que les lésions apparues à un moment de l'histoire naturelle soient fixées et n'évoluent plus, ou que des facteurs d'agression persistent au long cours (hypoxie modérée en raison de lésions vasculaires diffuses par exemple).

En ce qui concerne la dégénérescence grasseuse, on observe un phénomène intéressant : la surface de tissu adipeux augmente entre J7 et J21, puis rediminue à J42. On peut donc imaginer soit un remplacement des tissus lésés par de la graisse environnante, qui est ensuite « repoussée » par le tissu exocrine lors de sa régénération, soit une transformation du tissu exocrine en souffrance en tissu adipeux, puis une redifférentiation en tissu pancréatique dans un deuxième temps. En faveur de cette 2^{ème} hypothèse, on peut noter que le tissu adipeux est par endroits organisé en lobules, évoquant un fantôme du tissu exocrine préexistant. La présence de zones mixtes (tissu adipeux/ tissu exocrine) et d'îlots au sein du tissu adipeux à J42 sont également en faveur de cette hypothèse.

Dans la littérature, cette question reste débattue. De nombreux modèles animaux résultant en une souffrance du tissu pancréatique exocrine (inactivation de facteurs de croissance, modèles de pancréatite, carence en cuivre, anomalies ciliaires, anomalies de la voie hypoxia inducible factor (HIF)) s'accompagnent de l'apparition de graisse pancréatique (188,256–261). Dans la plupart des cas, l'hypothèse du remplacement des tissus nécrosés par du tissu adipeux est évoquée.

Cependant, certaines études sont en faveur d'une possible transformation du tissu exocrine en tissu adipeux : ainsi, dans certains cas, de façon similaire à ce que nous avons constaté chez nos souris à J42, les auteurs notent la persistance de petits amas de cellules exocrines, de petits canaux pancréatique, ou d'îlots au sein du tissu adipeux (256,262–264).

Par ailleurs, une étude ayant analysé l'effet de l'inactivation du facteur de transcription GATA6 dans le pancréas a montré une involution grasseuse pancréatique importante. Des marquages par immuno-histo-chimie et par immuno-fluorescence montrent des gouttelettes lipidiques au sein de cellules positives pour E-cadhérine ou pour l'amylase (marqueurs des cellules acinaires dans le pancréas) ; et la réalisation d'un « lineage tracing » a montré que des cellules de souris mutées coexpriment la périlipine (marqueur du tissu adipeux) et le traceur des cellules épithéliales, alors que le tissu adipeux blanc « classique » de ces souris, ou que le tissu adipeux des souris témoins ne présente jamais ce comarquage. Ces constatations sont aussi en faveur d'une transdifférentiation du tissu épithélial pancréatique en tissu adipeux (265).

Un autre modèle a étudié l'inactivation du facteur de transcription c-Myc, qui a eu pour effet de détruire progressivement les cellules acinaires, remplacées par du tissu adipeux. Ici, les auteurs ont montré des cellules acinaires (amylase +) contenant des gouttelettes lipidiques, et des cellules ressemblant à des cellules adipeuses mais contenant des granules zymogènes. Après « lineage tracing », des cellules adipeuses intrapancréatiques exprimaient le traceur des cellules dérivées des progéniteurs exprimant Pdx1. Les auteurs ont alors utilisé cette technique de tracing sur des pancréas de souris âgées ou après pancréatite induite par la céruléine, et ont également observé des cellules adipeuses marquées par le traceur, ce qui est donc en faveur d'une possible transdifférentiation du tissu acinaire vers le tissu adipeux même dans les cas d'involution graisseuse « classiques » (257).

Chez l'humain, la dégénérescence graisseuse du pancréas, ou stéatose pancréatique, est une entité décrite dès la fin du XIXème siècle (266). En 1978, Olsen a montré que le contenu en graisse du pancréas était corrélé à l'âge et à l'obésité (267). Une stéatose complète ou quasi complète du pancréas, préservant parfois les îlots, peut être observée dans certaines pathologies, associées ou non à un diabète : mucoviscidose (268), syndrome de Shwachman-Diamond (269), autres maladies génétiques rares. Des stéatoses plus modérées n'impliquant qu'une partie du pancréas peuvent compliquer les pancréatites aiguës ou chroniques ou la consommation d'alcool excessive (270,271). L'association avec la stéatose hépatique est fréquemment retrouvée, probablement parce que les 2 pathologies partagent les mêmes facteurs de risque (syndrome métabolique, obésité, âge) (272,273). Bien sûr, comme nous le disions plus haut, les patients présentant un diabète présentent souvent une infiltration graisseuse au sein du pancréas (274).

Les mécanismes physiopathologiques de la stéatose pancréatique liée à l'obésité sont encore mal compris. La libération d'acides gras libres à partir du tissu adipeux dans le contexte d'insulino-résistance, la dérégulation de certaines adipokines ou d'enzymes hépatiques produites en excès dans les cas de stéatose hépatique pourraient tous favoriser le stockage des graisses dans le pancréas (275). Certains auteurs estiment en outre que la graisse intrapancréatique peut avoir un effet délétère sur la sécrétion d'insuline, voire sur la survie des cellules bêta (276). Toutes ces hypothèses sont encore discutées et la stéatose pancréatique est un champ encore peu exploré. Notre étude laisse à penser que la recherche d'un lien entre hypoxie pancréatique modérée et stéatose pancréatique semble une piste intéressante.

IV Conclusion

Pour étudier les effets de l'hypoxie sur le pancréas, nous avons mis en place un modèle d'ischémie de la queue du pancréas par ligature définitive de l'artère splénique chez la souris.

Nous avons constaté l'apparition d'une zone de nécrose du pancréas, entourée d'une zone de réaction inflammatoire.

Nous avons également observé une tendance à la réduction de la surface de cellules bêta à J7 et J21 après la chirurgie, mais pas d'anomalie de régulation glycémique, les anomalies des îlots étant probablement insuffisantes pour induire un effet fonctionnel.

Les régions en probable hypoxie partielle sont le siège de lésions du pancréas exocrine que l'on retrouve dans les pancréatites chroniques, mais également chez les patients présentant un DT1 ou un DT2 : atrophie acinaire, fibrose, involution graisseuse.

A J42, la surface de cellules bêta est similaire entre les souris ayant eu une ligature et celles ayant eu une procédure « sham », évoquant une possible régénération du tissu endocrine. De même, on constate une amélioration franche des lésions du pancréas exocrine.

Ce modèle nous permet donc de reproduire certaines lésions du pancréas exocrine observées dans les diabètes. Il induit également une involution graisseuse en partie réversible, ce qui ouvre des perspectives sur l'étude de la stéatose pancréatique dans les contextes d'obésité et de diabète.

Perspectives

Conclusions générales

Dans ce travail, nous avons rappelé que des anomalies du pancréas exocrine sont observées de façon très fréquente dans le DT1 comme dans le DT2. Ces anomalies sont autant structurelles que fonctionnelles : des lésions de type fibrose, infiltration graisseuse, épaissement d'artérioles pancréatiques ou atrophie acinaire sont fréquemment notées, et les patients souffrent parfois d'authentique insuffisance pancréatique exocrine. Ces constatations ne sont pas anodines car la découverte d'une insuffisance pancréatique exocrine peut permettre de proposer un traitement substitutif et d'améliorer la qualité de vie des patients, surtout en cas d'hypoglycémies fréquentes ou de troubles digestifs.

Réciproquement, de nombreuses pathologies du pancréas exocrine (pancréatite chronique, cancer du pancréas, mucoviscidose) se compliquent fréquemment de diabète, qu'on appelle diabète pancréatique. Encore une fois, ceci a des conséquences cliniques importantes car le dépistage et la prise en charge précoces du diabète dans ces contextes peut améliorer le pronostic de certains patients.

Enfin, nous avons rappelé que les anomalies des vaisseaux à destinée pancréatique ou des vaisseaux intrapancréatiques sont également communes dans les diabètes, avec de possibles anomalies de perfusion pancréatique. Ce domaine est encore peu étudié, et nous proposons un lien possible entre anomalies de vascularisation pancréatique et lésions du pancréas exocrine liées au diabète.

Nous avons ensuite apporté de nouvelles contributions à ces différents sujets :

- Concernant les liens entre diabète et anomalies pancréatique exocrines, nous avons ainsi montré (article en annexe) que les patients présentant un DT1 ou un DT2 associé à une IPE présentent des carences nutritionnelles peu sévères, avec un IMC plus bas que les patients n'ayant pas d'IPE, des carences en vitamine A et E, et des carences en vitamine D plus profondes que les patients sans IPE. Toutes ces carences sont moins profondes que chez les patients porteurs d'un diabète pancréatique.

- Concernant le diabète associé aux maladies pancréatiques, nous avons réalisé une étude comparant l'imagerie pancréatique des patients présentant un diabète de la mucoviscidose et celles de patients présentant une mucoviscidose sans diabète. Nous avons montré que les patients avec DM ont plus souvent une involution graisseuse complète du pancréas que ceux sans DM, mais que cette fréquence plus haute est en réalité liée au fait que les patients avec DM ont plus régulièrement des mutations de CFTR sévères que ceux sans DM. Nous avons également montré que les calcifications pancréatiques sont observées dans quasiment 25% des cas chez les patients avec DM, alors que nous n'en avons pas observé chez ceux n'ayant pas de DM. Cette corrélation pourrait également être liée à la sévérité de l'atteinte exocrine chez ces patients, mais fait écho au fait que les patients présentant un diabète lié à une pancréatite chronique ont plus souvent des calcifications pancréatiques que ceux n'ayant pas de diabète (60).

- Concernant les liens entre vascularisation pancréatique, diabète et lésions du pancréas exocrine, nous avons réalisé 2 études :

* Dans la première étude, nous avons comparé les scanners pancréatiques de patients présentant un DT2 et de témoins appariés sur l'âge et le genre. Nous avons montré que les patients présentant un DT2 ont plus de calcifications de l'artère splénique, un diamètre de l'artère splénique plus réduit, et un réseau artériel pancréatique moins dense que les témoins. Nous avons également montré que la relation entre volume de pancréas et IMC qui existe chez les témoins n'est plus retrouvée chez les patients avec DT2, d'autres facteurs pouvant influencer sur le volume pancréatique. Ainsi, une corrélation entre diamètre de l'artère splénique et volume pancréatique est observée chez les patients, mais pas chez les témoins. Chez les patients présentant un DT2, les anomalies de vascularisation pourraient donc effectivement jouer un rôle dans la trophicité du pancréas exocrine.

* Dans la 2^{ème} étude, nous avons établi un modèle d'ischémie pancréatique par ligature définitive de l'artère splénique chez la souris. Cette ligature n'a pas de conséquence sur la régulation glycémique, mais a pour effets de diminuer la quantité de cellules marquées pour l'insuline et d'induire des lésions du pancréas exocrine (atrophie acinaire, fibrose, involution graisseuse). Les lésions endocrines et exocrines ont tendance à régresser 6 semaines après la chirurgie, des branches collatérales ayant probablement revascularisé les tissus. Cette étude ouvre des pistes intéressantes sur les lésions du pancréas exocrine dans un contexte d'hypoxie, et notamment sur un possible lien avec la stéatose pancréatique.

Perspectives futures

Ce travail permet d'évoquer différentes pistes pour le futur.

I Modèles murins

Notre modèle de ligature de l'artère splénique a pour intérêt de montrer les effets d'une hypoxie sévère sur le pancréas. Cependant, ce type d'ischémie brutale et complète est peu souvent retrouvé en pathologie courante et est possiblement trop drastique pour refléter la réalité clinique. D'autres modèles murins d'hypoxie pancréatique plus douce pourraient être utilisés afin de déterminer si les lésions endocrine et exocrine observées dans notre modèle sont reproductibles. Ainsi, pourraient être étudiés :

- Les modèles d'hypoxie intermittente chronique : les souris ou les rats sont placés dans des cages dont la concentration en oxygène est contrôlée. Des cycles d'hypoxie/réoxygénation sont alors programmés à différentes fractions d'oxygène, en général 8 heures par jour pendant plusieurs semaines, ce qui simule les effets d'un syndrome d'apnées obstructives du sommeil (SAOS). Des études ont montré un effet de ce modèle sur la régulation glycémique (277,278). Une première étude a montré des lésions d'atrophie acinaire, mais peu d'auteurs se sont penchés sur les effets de l'hypoxie intermittente sur le pancréas (279).
- Les modèles d'hypertension artérielle, notamment par perfusion chronique et continue d'angiotensine 2. Ceux-ci ont déjà été utilisés pour analyser les effets de l'hypertension artérielle sur la régulation glycémique (280). Nous avons utilisé ce modèle dans des études préliminaires au cours de mon Master 2 et avons montré une intolérance au glucose lors de l'IPGTT, mais qui pouvait être liée à une inflammation ou une vasoconstriction induites par l'angiotensine 2. La masse bêta n'était pas modifiée chez les souris hypertendues par rapport aux souris témoins. Cependant, nous n'avons pas étudié les effets de l'HTA sur le pancréas exocrine, et il pourrait être intéressant de rechercher des lésions ou une dégénérescence graisseuse chez ces souris après différentes durées d'HTA.
- Les modèles de souris hypercholestérolémiques, par exemple par mutation de l'apolipoprotéine E. Ces souris développent un diabète lorsqu'elles reçoivent un régime riche en sucres et en graisses, et développent des lésions d'athérosclérose qui peuvent se rapprocher de celles observées chez les patients présentant des dyslipidémies (281). Le pancréas exocrine

de ces souris n'a jamais été étudié à notre connaissance, et il serait intéressant de savoir si celui-ci est le siège d'une infiltration graisseuse.

Dans tous ces modèles, des analyses poussées de la transformation graisseuse pourraient être réalisés : comarquage périlipine / amylase ou périlipine / cadhérine E, lineage tracing... afin de confirmer ou non l'hypothèse d'une transdifférentiation du tissu acinaire vers le tissu adipeux dans ces contextes d'hypoxie modérée du pancréas. A l'inverse, il serait également intéressant de savoir si la suspension du facteur de stress (reprise d'une oxygénation normale pendant plusieurs jours pour le modèle d'hypoxie intermittente, arrêt de la perfusion d'angiotensine pour le modèle d'HTA) résulterait en une amélioration des éventuelles lésions pancréatiques.

II Chez l'Homme

Notre étude sur le diabète de la mucoviscidose est intéressante en ceci qu'elle montre des caractéristiques d'imagerie assez spécifiques par rapport aux patients présentant une mucoviscidose sans diabète. Les recommandations sur le dépistage du DM ne sont pas toutes identiques selon les pays. En France, il est recommandé de réaliser une glycémie à jeun et une HbA1c une à deux fois par an et à l'occasion d'événements intercurrents, et une HGPO une fois tous les 1 à 2 ans. Cependant, ces tests étant fastidieux, et dans un contexte de multiples explorations chez des patients déjà très suivis, il a été montré que ce dépistage n'est pas toujours réalisé de façon aussi régulière que dans les recommandations (282). L'existence d'un signe comme les calcifications pancréatiques, que l'on peut observer sur les coupes basses de scanner thoraciques réalisés de façon fréquente chez les patients présentant une mucoviscidose, même si elles ne sont pas systématiquement présentes, pourrait permettre d'attirer l'attention et d'encourager les praticiens à réaliser un dépistage du diabète de manière plus systématique chez ces patients.

Par ailleurs, même si la présence de ces calcifications pourrait être un simple marqueur de sévérité de l'atteinte pancréatique, faisant suite à l'apparition de « plugs » protéiques (283), des recherches plus poussées sur le mécanisme de développement des calcifications et de leurs liens avec l'apparition d'un diabète (dans le cas de la mucoviscidose ou de la pancréatite chronique) seraient intéressantes, et pourraient permettre de mieux comprendre les interrelations entre les différents tissus pancréatiques.

En ce qui concerne les anomalies de vascularisation pancréatique, nous avons montré une corrélation entre le DT2 et les anomalies vasculaires pancréatiques, sans pouvoir établir de relation causale. Ces observations soulèvent néanmoins de nombreuses questions à la fois sur la perfusion pancréatique, et sur les conséquences d'anomalie de perfusion sur le pancréas exocrine et endocrine.

Plusieurs protocoles pourraient ainsi être proposés pour mieux comprendre ces liens :

- Le SAOS induit des cycles alternant des phases d'hypoxie globale (et donc également au niveau pancréatique) avec des phases de réoxygénation. Une association entre SAOS et DT2 a souvent été évoquée, des hypothèses physiopathologiques proposant que cette hypoxie intermittente et la fragmentation du sommeil induisent une insulino-résistance et des anomalies d'insulinosécrétion. L'intérêt du traitement par pression positive continue (CPAP) sur la régulation glycémique reste discutée (284,285). En revanche, l'état du pancréas exocrine chez ces patients n'a jamais été analysé à notre connaissance, en dehors du lien possible avec les cancers pancréatiques (286). Divers paramètres pourraient être analysés à l'aide d'une imagerie pancréatique, en comparant ces patients à des témoins ne présentant pas de SAOS, appariés sur l'âge, le genre et l'IMC : volume du pancréas, perfusion pancréatique, infiltration adipeuse, et la corrélation ou non de ces paramètres avec la présence d'un diabète. Par ailleurs, des imageries pourraient être proposées au diagnostic puis après traitement bien conduit par CPAP. On pourrait ainsi déterminer si l'amélioration de l'oxygénation globale a un effet sur le pancréas.

- La perfusion pancréatique avant et après stimulation par une ingestion ou injection de glucose, évaluée par imagerie fonctionnelle (par IRM, scanner ou imagerie nucléaire par exemple) pourrait être comparée entre des patients présentant des pathologies différentes : DT1, DT2, avec sécrétion d'insuline persistante ou non... et permettre ainsi d'établir des corrélations entre certains facteurs et d'éventuelles variations de la perfusion pancréatique. On pourrait également rechercher des liens entre volume pancréatique, quantité de graisse pancréatique, et ces variations de perfusion pancréatique, pour déterminer si des anomalies de perfusion pourraient être liées aux anomalies du pancréas exocrine.

Pour avoir une idée plus précise à ce sujet, il serait également possible de réaliser ces études de perfusion chez des patients devant être opérés de tumeurs pancréatiques, bénignes ou malignes, présentant un diabète préexistant, un diabète en lien avec la pathologie pancréatique, ou pas de diabète. Cela permettrait de rechercher l'existence d'un lien entre la perfusion du pancréas en imagerie, les caractéristiques cliniques et paracliniques, et les caractéristiques histologiques du pancréas au niveau des marges saines réséquées au moment de la chirurgie.

Annexes

Marqueurs nutritionnels chez les patients présentant un diabète et une insuffisance pancréatique exocrine

Article publié dans *Acta Diabetologica* en janvier 2019 sous le titre *Nutritional markers in patients with diabetes and pancreatic exocrine failure*.

Auteurs : Laure Alexandre-Heymann, Amal Y. Lemoine, Samir Nakib, Nathalie Kapel, Séverine Ledoux, Etienne Larger.



Nutritional markers in patients with diabetes and pancreatic exocrine failure

Laure Alexandre-Heymann^{1,2} · Amal Y. Lemoine^{1,2} · Samir Nakib³ · Nathalie Kapel^{4,5} · Séverine Ledoux^{6,7} · Etienne Larger^{1,2}

Received: 1 November 2018 / Accepted: 31 January 2019
© Springer-Verlag Italia S.r.l., part of Springer Nature 2019

Abstract

Aims Altered pancreatic exocrine function can be observed in patients with type 1 or type 2 diabetes. In the present study, we evaluated the potential nutritional consequences of this dysfunction.

Methods Serum concentrations of nutritional markers, including albumin, cholesterol, triacylglycerol, vitamins A, D, and E, were assessed in a cohort of 468 patients (137 with type 1 diabetes and 331 with type 2 diabetes), after exclusion of the patients with a CRP > 10 mg/l. These patients were compared with 47 patients with diseases of the exocrine pancreas and diabetes (type 3c diabetes or pancreatogenic diabetes). Fecal elastase-1 and chymotrypsin concentrations were measured and patients with type 1 and type 2 diabetes were divided into three groups according to whether zero (group NN), one (group LN), or both (group LL) concentrations were decreased.

Results Several markers differed significantly between the groups of patients, including BMI, albumin, phosphorus, and fat-soluble vitamins. Patients with pancreatogenic diabetes had markedly more profound alterations than patients with type 1 or type 2 diabetes and altered exocrine function. However, patients with type 1 or type 2 diabetes and decreased concentrations of both elastase-1 and chymotrypsin had lower albumin, phosphorus, and vitamin A than patients with normal pancreatic exocrine function.

Conclusions Modest nutritional alterations were found in patients with type 1 or type 2 diabetes and altered exocrine function. Patients with type 1 or type 2 diabetes and altered exocrine function may thus deserve to be screened for nutritional deficiencies.

Keywords Diabetes · Nutrition · Pancreatic exocrine dysfunction · Fat-soluble vitamins · Fecal elastase

Managed By Massimo Porta.

Electronic supplementary material The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s00592-019-01294-w>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Etienne Larger
etienne.larger@cch.aphp.fr

¹ Service de Diabétologie, Hôpital Cochin, 123 Boulevard de Port-Royal, 75014 Paris, France

² INSERM U 1016, Département Hospitalo Universitaire «AUTHORS», Université Paris Descartes, Paris, France

³ Laboratoire de Biochimie, Hôpital Cochin, Paris, France

Introduction

Pancreatic exocrine function can be altered in patients with diabetes [1–6]: it has been recently rediscovered that the size of the pancreas is decreased in patients with T1D [7–12], including in patients with recent-onset diabetes [8, 11, 12]. This seems to indicate that the exocrine pancreas could be damaged early on in T1D natural history [13], given that the

⁴ Laboratoire de Coprologie Fonctionnelle, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

⁵ Université Paris Descartes, Paris, France

⁶ Service des Explorations Fonctionnelles, Hôpital Louis Mourier, Colombes, France

⁷ Université Denis Diderot, Paris, France

exocrine pancreas represents more than 95% of the pancreatic mass. Moreover, it has recently been shown that a leucocytic infiltration can be observed in the exocrine pancreas of patients with T1D [14–16], suggesting that the exocrine dysfunction can also be a consequence of an immune-mediated destruction of the exocrine pancreas. Likewise, T2D is associated with low-grade inflammation: macrophages can be observed in islets [17] and chronic pancreatitis has been frequently observed at autopsy since the seminal work of R. Cecil [18].

In patients with type 1 diabetes (T1D), pancreatic exocrine failure is associated with diabetes of long duration [1, 19–21], whereas in patients with type 2 diabetes (T2D), we showed that it is also associated with vascular diseases [1].

Malabsorption of fat-soluble vitamins is a well-established consequence of chronic pancreatitis and other diabetes-associated diseases of the pancreas. However, outside the context of chronic pancreatitis, pancreatectomy and other well defined diseases of the exocrine pancreas, nutritional consequences of pancreatic exocrine failure have seldom been described [22, 23], in part, because the exocrine deficiency is deemed to be mild in the context of T1D or T2D, and often occurs without steatorrhea [5, 24–27]. However, we and others [1, 21, 25] have shown that the BMI of patients with pancreatic exocrine dysfunction in the context of T2D is lower than that of patients with normal pancreatic exocrine function, and this observation raises the question of the nutritional consequences of this pancreatic exocrine failure. In the present study, we investigated several nutritional markers, including the serum concentrations of vitamins A, D, and E in relation with pancreatic exocrine status in patients with diabetes. The results were compared with those of patients with overt exocrine diseases of the pancreas and pancreatogenic diabetes (PD).

Materials and methods

Patients

From our cohort of 667 patients [1] who had an investigation of pancreatic exocrine function, 537 patients were assessed for vitamins A, D, and E, in addition to serum albumin. These patients were compared to 55 patients with PD. From this new cohort, we excluded all patients with a C-reactive protein > 10 mg/l, because inflammation can alter the serum concentration of several markers such as vitamin A [28], thus leaving 515 patients: 137 with T1D, 331 with T2D and 47 with PD. Among the 137 patients with T1D, plain abdominal radiography or CT scan was normal in all of the 101 patients in whom they were performed. Among the 331 patients with T2D, plain abdominal radiography or CT scan

was normal in all of the 289 patients in whom they were performed.

The PD group included 37 patients with alcohol-induced pancreatitis, three with total or subtotal pancreatectomy (1 nesidioblastosis, 1 intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas, and 1 unknown), three with genetic chronic pancreatitis including 1 fibro calculous diabetes, and four with idiopathic chronic pancreatitis. Diabetes was confirmed in all patients. All of the patients with alcohol-induced chronic pancreatitis had pancreatic calcifications on CT scan.

Pancreatic function assessment

Exocrine function of the pancreas was assessed by the measurement of fecal elastase-1 concentration and chymotrypsin activity performed on a sample of feces obtained in non-diarrheic patients. Samples were stored at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ until analysis. Pancreatic fecal elastase-1 concentration was determined using a “sandwich”-type enzyme immunoassay (Schebo-Biotech, Germany) and results were expressed as $\mu\text{g/g}$ of stool. The normal cut-off value was defined as $>200\text{ }\mu\text{g/g}$. Fecal chymotrypsin activity was measured using a colorimetric method using Succ-Ala-Ala-Pro-Phe-*p*-nitroanilin as substrate (Immundiagnostik, Germany). Results were expressed as U/g of stool at $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ and activity values $>6\text{ U/g}$ were considered normal.

Nutritional assessment included measurements of serum vitamin 25OH-D2 + D3, vitamin A and vitamin E, albumin, calcium, phosphorus, and serum lipids.

Vitamin A (retinol) and vitamin E (alpha-tocopherol) were assayed by HPLC as previously described in [29], with excellent intra and inter-assay reproducibility at all levels of retinol and for higher levels of alpha-tocopherol, but with lower precision when alpha-tocopherol was $<7.5\text{ }\mu\text{mol/l}$. As this low level of alpha-tocopherol was only found in four patients in our whole cohort, we consider our method to be satisfactory.

Vitamin A deficiency was defined as a vitamin A concentration $<0.7\text{ }\mu\text{mol/l}$ and vitamin E deficiency was defined as a vitamin E concentration $<12\text{ }\mu\text{mol/l}$. Vitamin D concentration was assayed as the sum of 25-hydroxy vitamin (D2 + D3) (Immunodiagnostiksystems, Paris, France). Vitamin D deficiency was defined as a vitamin D concentration $<75\text{ nmol/l}$, severe vitamin D deficiency was defined as a vitamin D concentration $<25\text{ nmol/l}$ [30].

Statistical analysis

We classified the patients into three groups as previously described [1]:

- Group LL: patients with a fecal elastase-1 < 200 µg/g AND a fecal chymotrypsin activity < 6 U/g (both parameters decreased).
- Group LN: patients with a fecal elastase-1 < 200 µg/g OR a fecal chymotrypsin activity < 6 U/g (only one decreased parameter).
- Group NN: patients with NORMAL fecal elastase-1 AND fecal chymotrypsin activity.

We have previously shown that the patients of the LL group display more severe decreases in both fecal elastase-1 concentration and fecal chymotrypsin activity than those of the LN group [1]. Comparisons of groups were performed using non-parametric tests, i.e., ANOVA using the Kruskal–Wallis test. When the test was significant, three pairs of data, PD vs LL, LN vs LL, and NN vs LL were compared using the Tukey post-hoc test. Categorical parameters were compared using the Pearson’s Chi-square test. Correlations between continuous parameters were assessed with the non-parametric Pearson’s test. Independent parameters that correlated significantly with serum concentration of fat-soluble vitamins were analyzed in a multivariate analysis with adjustment for gender, age, BMI, duration of diabetes,

HbA1c, serum cholesterol concentration, serum triacylglycerol concentration, eGFR, and either fecal elastase-1 or fecal chymotrypsin concentrations.

Statistical analyses were performed using Sigmapstat version 3.5. Results are expressed as median and interquartile range. *P* values were considered significant if < 0.05.

Results

Clinical characteristics of the patients

The clinical characteristics of the patients are presented in Table 1. Patients of the different groups were of similar age. The patients included in the present study are a subpart of those described in a previous publication [1]. As previously reported in this former publication, the patients were divided with regard to the results of fecal elastase-1 and chymotrypsin into LL (78 patients), LN (94 patients), and NN (296 patients) groups, as described in “Methods”.

As shown before in this cohort, altered pancreatic exocrine function was more frequent in patients with T1D than in patients with T2D (24% of patients with T1D belonged to

Table 1 Clinical characteristics of the patients

	PD (<i>n</i> = 47)	Type 1 or 2 diabetes (<i>n</i> = 468)	LL (<i>n</i> = 78)	LN (<i>n</i> = 94)	NN (<i>n</i> = 296)	Name of test, <i>P</i> value
Age (years, median [IQR])	55 [46–63]	58 [49–66]	57 [45–68]	58 [50–65]	57 [51–65]	Kruskal, <i>P</i> = 0.62
Males (<i>n</i> , %)	42 (89%)	272 (58%)	48 (61%)	51 (54%)	173 (58%)	Pearson, <i>P</i> = 0.0003
Type 1 Diabetes (<i>n</i> , %) ^a	–	137 (29%)	33 (42%)	40 (42%)	64 (22%)	Pearson, <i>P</i> < 10 ^{−6b}
Known duration of diabetes (years, median [IQR])	6 [1–14]	12 [6–20]	15 [5–25]	12 [7–21]	11 [6–19]	Kruskal, <i>P</i> = 0.0021 Post-hoc: PD vs LL**
Known duration of diabetes in patients with T1D (years, median [IQR])	–	15 [6–27]	19 [8–35]	18 [9–30]	13 [2–22]	Kruskal, <i>P</i> = 0.042
Known duration of diabetes in patients with T2D (years, median [IQR])	–	11 [6–19]	14 [4–22]	9 [5–19]	11 [6–19]	Kruskal, <i>P</i> = 0.52
HbA1c (% , median [IQR])	8.2 [7.2–10]	8.8 [7.7–10.2]	8.8 [7.9–10.3]	8.9 [7.6–9.9]	8.9 [7.6–10.3]	Kruskal, <i>P</i> = 0.62
HbA1c (mmol/mmol)	66	73	73	74	74	
BMI (kg/m ² , median [IQR])	22.6 [20.1–25.4]	27.7 [24.5–32.4]	26.0 [23.8–28.6]	27.2 [24.4–32.1]	28.7 [24.8–33.7]	Kruskal <i>P</i> < 10 ^{−6} Post-hoc: PD vs LL and NN vs LL**
BMI in patients with T1D (kg/m ² , median [IQR])	–	24.9 [22.6–27.9]	24.7 [23.1–26.4]	25.8 [22.7–28.5]	24.8 [21.9–28.3]	Kruskal, <i>P</i> = 0.64 ^b
BMI in patients with T2D (kg/m ² , median [IQR])	–	29.1 [25.9–33.9]	27.1 [24.6–29.7]	29.2 [24.5–33.7]	30.1 [26.0–34.2]	Kruskal, <i>P</i> = 0.0064 ^b Post-hoc: NN vs LL**
Insulin use (<i>n</i> , %) ^c	42 (89%)	196 (59%)	35 (78%)	25 (46%)	136 (58%)	Pearson, <i>P</i> = 0.0061

The *P* values indicated in the last column are the overall *P* values of the Kruskal–Wallis or Pearson Chi-square tests performed for each parameter. For the Kruskal–Wallis tests, if the *P* value was < 0.05, LL was compared to PD, LN and NN groups: **P* < 0.05, ***P* < 0.01

^aOnly in patients with T1D or T2D

^bComparison of LL, LN and NN only

^cOnly in patients with PD and T2D

the LL group, vs only 13% of patients with T2D). In patients with T1D, pancreatic exocrine dysfunction was associated with a longer median duration of diabetes (19 years in the LL group vs 13 years in the NN group), this was not observed in patients with T2D. In patients with T2D, altered pancreatic exocrine function was associated with insulin use, as we already described [1].

Nutritional markers in patients with diabetes

BMI was significantly lower in the PD group than in the LL group, and in the LL group than in the NN group. Lower BMI in the LL subjects as compared to NN subjects was, however, only observed in patients with T2D, not in those with T1D (Table 1). Mean serum albumin and phosphorus concentrations were lower in the LL group (36.4 g/l and 1.15 mmol/l, respectively) as compared to the NN group (38 g/l and 1.22 mmol/l, respectively) (Fig. 1).

Although cholesterol and calcium concentrations differed significantly under ANOVA analysis, no significant

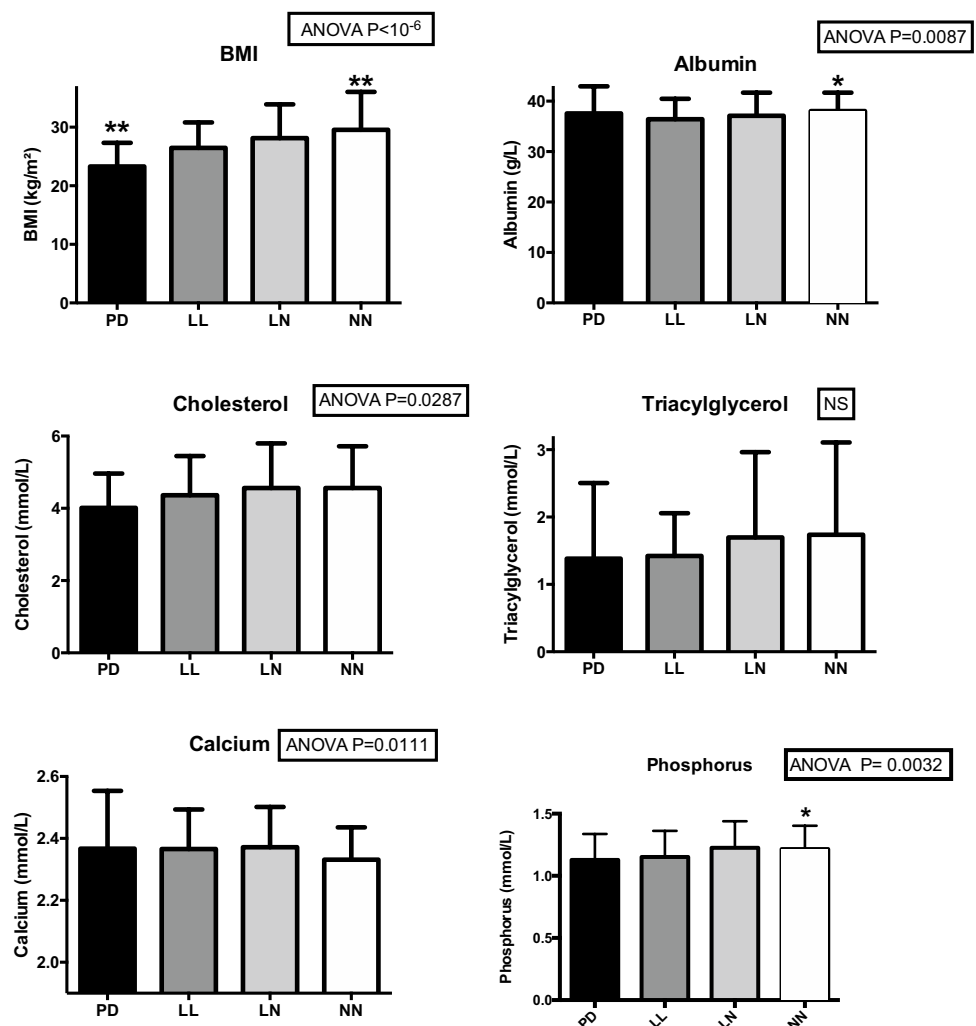
difference was found between the LL group and the LN and NN groups.

Serum concentration of fat-soluble vitamins in patients with diabetes

As shown in Fig. 2, the serum concentrations of vitamins A, D, and E differed significantly between groups. Post-hoc analyses showed that vitamin D and vitamin E were lower in the PD group as compared to the LL group. Vitamin A was lower in the LL group than in the LN and NN groups.

The prevalence of vitamin D deficiency was extremely high in the whole study cohort: vitamin D concentration was <75 nmol/l in 94% of the patients and was <25 nmol/l (severe vitamin D deficiency) in 20% of the patients. In contrast, the prevalence of vitamin A and E deficiencies, defined, respectively, as a value below 0.7 $\mu\text{mol/l}$ and 12 $\mu\text{mol/l}$, were very low, 1.2% and 4.4%, respectively. However, vitamins A and E deficiencies and severe vitamin D deficiency were more common in patients of the PD group

Fig. 1 BMI, albumin, cholesterol, triacylglycerol, calcium, and phosphorus concentrations in the PD, LL, LN, and NN groups. If the P value of ANOVA was <0.05 , LL group was compared to PD, LN, and NN groups: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$



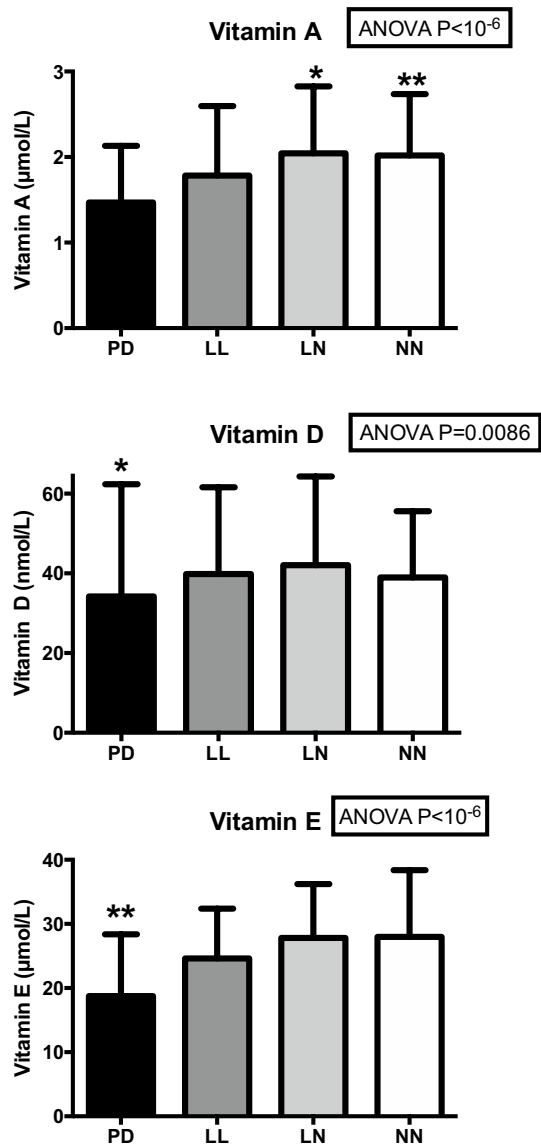


Fig. 2 Vitamins A, D, and E concentrations in the PD, LL, LN, and NN groups. If the P value of ANOVA was < 0.05 , LL group was compared to PD, LN, and NN groups: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

(6.7%, 22%, and 38.8%, respectively) and in patients of the LL group (2.6%, 9.2%, and 24.7%, respectively), than in patients of the LN (0%, 2.2%, and 20.2%, respectively) and NN groups (0.3%, 1.4%, and 16.6%, respectively) (Table 2).

Serum concentrations of fat-soluble vitamins were affected by several parameters, as listed in Supplementary Table 1. Multivariate analysis with adjustment for gender, age, BMI, duration of diabetes, HbA1c, serum cholesterol concentration, serum triacylglycerol concentration, Egfr, and either fecal elastase-1 or fecal chymotrypsin concentrations showed that serum lipids concentrations and BMI were independently associated with serum concentrations of vitamins A and E, whereas only serum cholesterol concentration was

associated with vitamin D concentration. When the analysis was performed after exclusion of the PD patients, fecal elastase-1 concentration remained a significant independent determinant of vitamin E concentration, but not of vitamin A (data not shown).

Discussion

In the present study, we have investigated the nutritional consequences of impaired exocrine function in patients with diabetes. Patients with varying degrees of impairment of exocrine function tests and either T1D or T2D were compared with patients with PD. In patients with PD, nutritional defects were quite mild, with a median BMI of 22.6 kg/m² and a serum albumin concentration of 37.6 g/l, owing to the fact that 27 patients out of 47 (60%) already received pancreatic enzyme therapy at the time of study. In the patients with type 1 and type 2 diabetes, the patients in whom both fecal elastase concentration and fecal chymotrypsin activity were decreased (LL group) had an intermediate nutritional status between that of patients with PD and patients with normal exocrine function. BMI, phosphorus, and vitamin A were lower in patients of the LL group as compared to patients of the NN group. Fecal elastase concentration was positively associated with serum vitamin A and serum vitamin E in a multivariate analysis that also revealed a correlation between the serum concentration of vitamins A and E on one hand and BMI, GFR, and serum lipids concentration on the other hand. With regard to vitamin D concentration, the deficit was quasi-universal in all groups of patients, but severe deficiency was more frequent in patients of the LL group as compared to patients of the NN group. In patients with T1D or T2D and altered exocrine function, serum phosphorus concentration was lower in the LL group, suggesting that these patients might have lower phosphate intestinal absorption and secondary hyperparathyroidism as a consequence of more severe vitamin D deficiency, but serum PTH concentration was not measured in this study. However, it must be noted that patients with severe vitamin D deficiency did not have a significantly lower serum phosphorus concentration than the other subjects, even though diabetes is known to alter the parathormone increase in face of vitamin deficiency due to decreased magnesium concentration in patients with diabetes [31].

The patients with T2D and altered exocrine function tests had a lower BMI than the patients with normal exocrine function tests. It has already been observed that the weight of the patients with low fecal elastase is lower than that of patients with normal exocrine function tests [2, 20, 21]. We have shown that the weight gain after initiation of insulin was similar in patients with or without exocrine failure, suggesting that weight loss in these patients was mostly

Table 2 Prevalence of fat-soluble vitamins deficiencies in patients with diabetes

	PD	LL	LN	NN	<i>P</i> value
Vitamin D deficiency ^a (<i>n</i> , %)	42 (95.5%) <i>N</i> =44	71 (92.2%) <i>N</i> =77	79 (88.8%) <i>N</i> =89	276 (95.2%) <i>N</i> =290	0.16
Severe vitamin D deficiency ^b (<i>n</i> , %)	17 (38.6%) <i>N</i> =44	19 (24.7%) <i>N</i> =77	18 (20.2%) <i>N</i> =89	48 (16.6%) <i>N</i> =290	0.0058
Vitamin A deficiency ^c (<i>n</i> , %)	3 (6.7%) <i>N</i> =45	2 (2.6%) <i>N</i> =78	0 (0%) <i>N</i> =94	1 (0.33%) <i>N</i> =295	N/A
Vitamin E deficiency ^d (<i>n</i> , %)	9 (22%) <i>N</i> =41	7 (9.2%) <i>N</i> =76	2 (2.2%) <i>N</i> =92	4 (1.4%) <i>N</i> =291	0.0001

The *P* values indicated in the last column are the overall *P* values of the Chi-square tests. The test was not applicable for vitamin A deficiency, because the number of patients with deficiency was too small

^aAs defined by a vitamin D concentration < 75 nmol/l

^bAs defined by a vitamin D concentration < 25 nmol/l

^cAs defined by a vitamin A concentration < 0.7 μmol/l

^dAs defined by a vitamin E concentration < 12 μmol/l

due to more severe insulin deficiency, not to malabsorption secondary to exocrine failure [1]. We have, however, also shown that pancreatic exocrine deficiency is associated with lower insulin secretion [13]. This concurs with the higher prevalence of insulin use observed in patients with T2D and altered exocrine function.

In this study, only serum concentration of vitamin A was assessed, not the concentrations of retinol-binding protein (RBP) or transthyretin (TTR). We verified in a subset of this cohort that vitamin A was highly correlated with RBP and TTR ($n = 65$, correlation coefficient > 0.95, $P < 10^{-6}$, data not shown) and we confirmed that in patients with diabetes the relation of serum retinol, RBP and TTR are unchanged and occur in a 1:1:1 complex, as already described [32, 33]. Thus, in these patients, assessment of RBP and TTR gives no further information than that of retinol alone. Serum retinol reflects an individual's vitamin A status, particularly when the body's reserves are limited [34]. Serum retinol < 0.7 μmol/l is considered diagnostic of vitamin A deficiency [35]. In the present study, serum concentration of vitamin A correlated with multiple parameters, including gender, BMI, serum lipid concentration, and eGFR. Except for lipids [36], these parameters were not yet known to be associated with vitamin A concentration in patients with diabetes. Inflammation is known to influence serum concentration of vitamin A as is malnutrition. We excluded patients with a CRP > 10 mg/l from the present study.

To our knowledge, only a few studies have analyzed the nutritional consequences of altered exocrine function in patients with diabetes [22, 27]. In the study by Ewald et al., 80 patients with fecal elastase-1 concentration < 100 μg/g were randomized to either 40,000 U pancreatin per meal or to placebo for 16 weeks. At baseline, serum concentration of vitamins A, D, and E was normal in both groups and remained unchanged during the trial. However, the serum concentration of vitamins in these patients was not compared

to reference values [22]. On the other hand, Lindkvist et al. showed that in patients with T2D, fecal elastase-1 concentration positively correlated with 25-hydroxy vitamin D [27]. Finally, one important point of discussion relates to the threshold of fecal elastase-1 concentration that defines pancreatic exocrine insufficiency. Traditionally, a concentration < 100 μg/g is said to be diagnostic of exocrine failure and values > 200 μg/g are considered normal [37, 38]. More recently, due to the lack of sensitivity and specificity of the test in certain conditions [39–41], the American guidelines have suggested that a concentration < 50 μg/g should be considered diagnostic of exocrine insufficiency [42], and a threshold of < 15 μg/g has even been suggested [43]. If these different thresholds were applied to our population, between 0.2 and 25% would be considered to have exocrine insufficiency, as compared to 67–93% of the patients with PD (Table 3). This may explain the relatively mild pattern of nutritional deficits in the patients with T1D or T2D and low elastase concentration. If a criterion of Elastase-1 < 50 μg/g is applied, about 10% of patients with diabetes would be considered to have exocrine insufficiency. This may be important to consider not only in the context of fat-soluble vitamin deficiency, but also with regard to hypoglycaemia [22].

Table 3 Percentage of patients with fecal elastase-1 concentration below several thresholds

	Pancreatogenic diabetes (<i>n</i> =27) (%)	Type 1 or -2 diabetes (<i>n</i> =467) (%)
Elastase-1 concentration		
< 200 μg/g	93	25
< 100 μg/g	81	15
< 50 μg/g	74	9
< 15 μg/g	67	0.2

Conclusion

In patients with type 1 or type 2 diabetes and exocrine dysfunction, modest nutritional alterations can be observed. Indeed, BMI was lower in patients presenting with type 2 diabetes, low fecal elastase-1 concentration, and low fecal chymotrypsin activity than in patients with type 1 diabetes and normal pancreatic exocrine function. Moreover, patients with diabetes and exocrine dysfunction presented more frequent vitamin A and E deficiencies and severe vitamin D deficiency than patients without pancreatic exocrine dysfunction. Hence, patients with type 1 or type 2 diabetes and altered pancreatic exocrine function should be screened for nutritional deficiencies.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest. All investigations were performed in the context of routine patient's care.

Ethical standard statement All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

Informed consent Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

References

- Larger E, Philippe MF, Barbot-Trystram L et al (2012) Pancreatic exocrine function in patients with diabetes: pancreatic function in patients with diabetes. *Diabet Med* 29:1047–1054. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2012.03597.x>
- Shivaprasad C, Pulikkal AA, Kumar KMP (2015) Pancreatic exocrine insufficiency in type 1 and type 2 diabetics of Indian origin. *Pancreatol* 15:616–619. <https://doi.org/10.1016/j.pan.2015.09.018>
- Pollard HM, Miller L, Brewer WA (1943) The external secretion of the pancreas and diabetes mellitus. *Am J Dig Dis* 10:20–23. <https://doi.org/10.1007/BF02997405>
- Chey WY, Shay H, Shuman CR (1963) External pancreatic secretion in diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 59:812–821
- Vacca JB (1964) The exocrine pancreas in diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 61:242. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-61-2-242>
- Mohan V, Snehathatha C, Ahmed MR et al (1989) Exocrine pancreatic function in tropical fibrocalculous pancreatic diabetes. *Diabetes Care* 12:145–147
- Goda K, Sasaki E, Nagata K et al (2001) Pancreatic volume in type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol* 38:145–149
- Gaglia JL, Guimaraes AR, Harisinghani M et al (2011) Noninvasive imaging of pancreatic islet inflammation in type 1A diabetes patients. *J Clin Invest* 121:442–445. <https://doi.org/10.1172/JCI44339>
- Virostko J, Hilmes M, Eitel K et al (2016) Use of the electronic medical record to assess pancreas size in type 1 diabetes. *PLoS ONE* 11:e0158825. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158825>
- Campbell-Thompson M, Rodriguez-Calvo T, Battaglia M (2015) Abnormalities of the exocrine pancreas in type 1 diabetes. *Curr Diabetes Rep* 15:79. <https://doi.org/10.1007/s11892-015-0653-y>
- Williams AJK, Thrower SL, Sequeiros IM et al (2012) Pancreatic volume is reduced in adult patients with recently diagnosed type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 97:E2109–E2113. <https://doi.org/10.1210/jc.2012-1815>
- Sasamori H, Fukui T, Hayashi T et al (2018) Analysis of pancreatic volume in acute-onset, slowly-progressive and fulminant type 1 diabetes in a Japanese population. *J Diabetes Investig*. <https://doi.org/10.1111/jdi.12816>
- Philippe M-F, Benabadi S, Barbot-Trystram L et al (2011) Pancreatic volume and endocrine and exocrine functions in patients with diabetes. *Pancreas* 40:359–363. <https://doi.org/10.1097/MPA.0b013e3182072032>
- Gepts W (1965) Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. *Diabetes* 14:619–633. <https://doi.org/10.2337/diab.14.10.619>
- Coppieters KT, Dotta F, Amirian N et al (2012) Demonstration of islet-autoreactive CD8 T cells in insulinitic lesions from recent onset and long-term type 1 diabetes patients. *J Exp Med* 209:51–60. <https://doi.org/10.1084/jem.20111187>
- Rodriguez-Calvo T, Ekwall O, Amirian N et al (2014) Increased immune cell infiltration of the exocrine pancreas: a possible contribution to the pathogenesis of type 1 diabetes. *Diabetes* 63:3880–3890. <https://doi.org/10.2337/db14-0549>
- Ehse JA, Perren A, Eppler E et al (2007) Increased number of islet-associated macrophages in type 2 diabetes. *Diabetes* 56:2356–2370. <https://doi.org/10.2337/db06-1650>
- Cecil RL (1909) A study of the pathological anatomy of the pancreas in ninety cases of diabetes mellitus. *J Exp Med* 11:266–290
- Icks A, Haastert B, Giani G, Rathmann W (2001) Low fecal elastase-1 in type I diabetes mellitus. *Z Gastroenterol* 39:823–830. <https://doi.org/10.1055/s-2001-17867>
- Ewald N, Raspe A, Kaufmann C et al (2009) Determinants of exocrine pancreatic function as measured by fecal elastase-1 concentrations (FEC) in patients with diabetes mellitus. *Eur J Med Res* 14:118–122
- Hardt PD, Hauenschild A, Nalop J et al (2003) High prevalence of exocrine pancreatic insufficiency in diabetes mellitus. A multicenter study screening fecal elastase 1 concentrations in 1,021 diabetic patients. *Pancreatol* 3:395–402. <https://doi.org/10.1159/000073655>
- Ewald N, Bretzel RG, Fantus IG et al (2007) Pancreatin therapy in patients with insulin-treated diabetes mellitus and exocrine pancreatic insufficiency according to low fecal elastase 1 concentrations. Results of a prospective multi-centre trial. *Diabetes Metab Res Rev* 23:386–391. <https://doi.org/10.1002/dmrr.708>
- Vujasinovic M, Zaletel J, Tepes B et al (2013) Low prevalence of exocrine pancreatic insufficiency in patients with diabetes mellitus. *Pancreatol* 13:343–346. <https://doi.org/10.1016/j.pan.2013.05.010>
- Creutzfeldt W, Gleichmann D, Otto J et al (2005) Follow-up of exocrine pancreatic function in type-1 diabetes mellitus. *Digestion* 72:71–75. <https://doi.org/10.1159/000087660>
- Hahn J-U, Kerner W, Maisonneuve P et al (2008) Low fecal elastase 1 levels do not indicate exocrine pancreatic insufficiency in type-1 diabetes mellitus. *Pancreas* 36:274–278. <https://doi.org/10.1097/MPA.0b013e3181656f8>
- Canaway S, Phillips I, Betts P (2000) Pancreatic exocrine insufficiency and type 1 diabetes mellitus. *Br J Nurs* 9:2030–2032. <https://doi.org/10.12968/bjon.2000.9.18.12461>

27. Lindkvist B, Nilsson C, Kvarnström M, Oscarsson J (2018) Importance of pancreatic exocrine dysfunction in patients with type 2 diabetes: a randomized crossover study. *Pancreatology*. <https://doi.org/10.1016/j.pan.2018.05.483>
28. Duncan A, Talwar D, McMillan DC et al (2012) Quantitative data on the magnitude of the systemic inflammatory response and its effect on micronutrient status based on plasma measurements. *Am J Clin Nutr* 95:64–71. <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.023812>
29. Kuhn M, Nakib S, De Bandt JP et al (2008) Simultaneous determination of retinol and alpha-tocopherol in polymeric diets for enteral nutrition. *J Chromatogr A* 1205:186–190. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.07.076>
30. Cashman KD, Dowling KG, Škrabáková Z et al (2016) Vitamin D deficiency in Europe: pandemic? *Am J Clin Nutr* 103:1033–1044. <https://doi.org/10.3945/ajcn.115.120873>
31. Navarro JF, Mora C, Jiménez A et al (1999) Relationship between serum magnesium and parathyroid hormone levels in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 34:43–48. <https://doi.org/10.1053/AJKD03400043>
32. Krempf M, Ranganathan S, Ritz P et al (1991) Plasma vitamin A and E in type 1 (insulin-dependent) and type 2 (non-insulin-dependent) adult diabetic patients. *Int J Vitam Nutr Res* 61:38–42
33. Basu TK, Tze WJ, Leichter J (1989) Serum vitamin A and retinol-binding protein in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr* 50:329–331. <https://doi.org/10.1093/ajcn/50.2.329>
34. Tanumihardjo SA, Russell RM, Stephensen CB et al (2016) Biomarkers of nutrition for development (BOND)—vitamin a review 1, 2, 3, 4. *J Nutr* 146:1816S–1848S. <https://doi.org/10.3945/jn.115.229708>
35. West KP (2003) Vitamin A deficiency disorders in children and women. *Food Nutr Bull* 24:S78–S90. <https://doi.org/10.1177/15648265030244S204>
36. Wako Y, Suzuki K, Goto Y, Kimura S (1986) Vitamin A transport in plasma of diabetic patients. *Tohoku J Exp Med* 149:133–143
37. Löser C, Möllgaard A, Fölsch UR (1996) Faecal elastase 1: a novel, highly sensitive, and specific tubeless pancreatic function test. *Gut* 39:580–586
38. Leeds JS, Oppong K, Sanders DS (2011) The role of fecal elastase-1 in detecting exocrine pancreatic disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 8:405–415. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2011.91>
39. Brydon WG, Kingstone K, Ghosh S (2004) Limitations of faecal elastase-1 and chymotrypsin as tests of exocrine pancreatic disease in adults. *Ann Clin Biochem* 41:78–81. <https://doi.org/10.1258/000456304322664753>
40. Siegmund E, Löhr JM, Schuff-Werner P (2004) The diagnostic validity of non-invasive pancreatic function tests—a meta-analysis. *Z Gastroenterol* 42:1117–1128. <https://doi.org/10.1055/s-2004-813604>
41. Vanga RR, Tansel A, Sidiq S et al (2018) Diagnostic performance of measurement of fecal elastase-1 in detection of exocrine pancreatic insufficiency: systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 16:1220–1228.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.01.027>
42. Conwell DL, Lee LS, Yadav D et al (2014) American Pancreatic Association practice guidelines in chronic pancreatitis: evidence-based report on diagnostic guidelines. *Pancreas* 43:1143–1162. <https://doi.org/10.1097/MPA.0000000000000237>
43. Lindkvist B (2013) Diagnosis and treatment of pancreatic exocrine insufficiency. *World J Gastroenterol* 19:7258–7266. <https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i42.7258>

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Suppléments de l'article

Patients with type 2 diabetes present with multiple anomalies of the pancreatic arterial tree on abdominal computed tomography: comparison between patients with type 2 diabetes and a matched control group

	Patients with T2D	Control subjects
Type 1 diabetes	4	1
Other types of diabetes (MODY, cystic fibrosis)	3	2
Acute pancreatitis in the 6 months prior to the scan	2	3
Chronic pancreatitis	4	2
Pancreatic adenocarcinoma/ history of pancreatic surgery (without precisions)	11	10
Other pancreatic anomalies (intraductal papillary mucinous tumors of the pancreas, pancreatic metastases of other cancers...)	3	20
Liver or biliary disease (Hepatocellular carcinoma, advanced cirrhosis, cholangiocarcinoma, biliary prosthesis)	8	79
Cardiorespiratory arrest or multi-visceral failure in the month prior or in the week following the CT scan	4	4
Absence of recent medical record	2	39
CT scan: performed without injection of contrast media or performed only after injection of contrast media	9	NA
Type 2 Diabetes	NA	17

Table S1. Causes for non-inclusion (absence of CT images with or without contrast for patients with T2D) or exclusion in patients with T2D and in control subjects.

	Subjects with renal failure (12)	Subjects without renal failure (82)	p
General characteristics			
Male, <i>n</i> (%)	7 (58)	53 (65)	0.7
Age, years: mean (SD)	72.7 (13.2)	63.8 (12.3)	0.005
BMI, kg/m ² : mean (SD) ^a	27.9 (6.1)	25.7 (5.8)	0.2
Glomerular filtration rate : mL/min: mean (SD)	47.2 (13.5)	94.8 (25.4)	<0.0001
Patients with T2D, <i>n</i> (%)	9 (75)	39 (48)	0.08
Diabetes characteristics (only in patients with T2D)			
HbA _{1c} , mmol/mol: median (IQR) ^b	60 (45-86)	58 (51-76)	0.4
HbA _{1c} , %: median (IQR) ^b	7.6 (6.3-10.5)	7.5 (6.8-9.1)	0.4
Diabetes duration, years: median (IQR) ^c	9 (3-11)	12 (6-20.5)	0.3
Insulin use, <i>n</i> (%)	5 (56)	14 (36)	0.5
Pancreas and vessels characteristics			
Pancreas volume, cm ³ : mean (SD)	45.8 (22.7)	62.9 (29.6)	0.05
Pancreas density, Hounsfield units : median (IQR)	21.8 (8.7-35.1)	30.5 (23.9-38)	0.1
Liver density, Hounsfield units : median (IQR)	48.5 (41-53.5)	49.5 (42-53.3)	0.7
Splenic artery calcium score, <i>n</i> (%)			
0	6 (50)	62 (76)	0.09
1	3 (25)	14 (17)	
2 or 3	3 (25)	6 (7)	
Abdominal aorta calcium score, <i>n</i> (%)			
0	0 (0)	17 (21)	0.2
1	6 (50)	34 (42)	
2 or 3	6 (50)	31 (38)	
Number of pancreas- bound arteries, <i>n</i> (%)			
0	6 (50)	19 (32)	0.1
1	2 (17)	15 (18)	
2 or 3	4 (33)	48 (59)	
Number of intrapancreatic arterial subdivisions, <i>n</i> (%)			
0	6 (50)	29 (35)	0.6
1	3 (25)	21 (26)	
2	3 (25)	32 (39)	

Table S2. Clinical and pancreas characteristics of the subjects with or without renal failure.

Renal failure (RF) defined as a eGFR <60mL/min/1.73m². T2D : Type 2 Diabetes. BMI : Body Mass Index. SD : Standard Deviation. IQR : Interquartile Range.

^aAvailable in 12 subjects with RF and 64 subjects without RF. ^bLast HbA_{1c} in the medical file. Only the HbA_{1c} from the patients with T2D were used so as to compare homogenous groups. Available in 8 patients with RF and 26 patients without RF. ^cAvailable in 7 patients with RF and 25 patients without RF.

	Estimated glomerular filtration rate (mean, SD)	p
Gender		
Male	85.2 (24.4)	0.2
Female	93.1 (28.9)	
Type 2 diabetes^a		
Yes	85.9 (30.3)	0.1
No	94.9 (23.6)	
Insulin use^b		
Yes	81.7 (34.7)	0.4
No	88.6 (27.3)	
Pancreas and vessels characteristics		
Splenic artery calcium score^c		
0	90.0 (23.1)	0.3
1	97.3 (35.2)	
2 or 3	78.9 (39.4)	
Abdominal aorta calcium score^d		
0	99.2 (17.1)	0.3
1	86.3 (29.0)	
2 or 3	90.5 (29.2)	
Number of pancreas- bound arteries^e		
0	81.5 (27.4)	0.1
1	89.5 (19.2)	
2 or 3	94.7 (29.1)	
Number of intrapancreatic arterial subdivisions^f		
0	85.6 (25)	0.4
1	91.5 (32.2)	
2	94.1 (26.4)	

Table S3. Glomerular filtration rate according to clinical and pancreas characteristics

^aAvailable in 48 patients with T2D and 46 control subjects. ^b Available in 29 patients taking insulin and 19 patients not taking insulin. ^cAvailable in 68, 17 and 9 patients, respectively. ^dAvailable in 17, 40 and 37 patients, respectively. ^eAvailable in 25, 17 and 52 patients, respectively. ^fAvailable in 35, 24 and 35 patients, respectively.

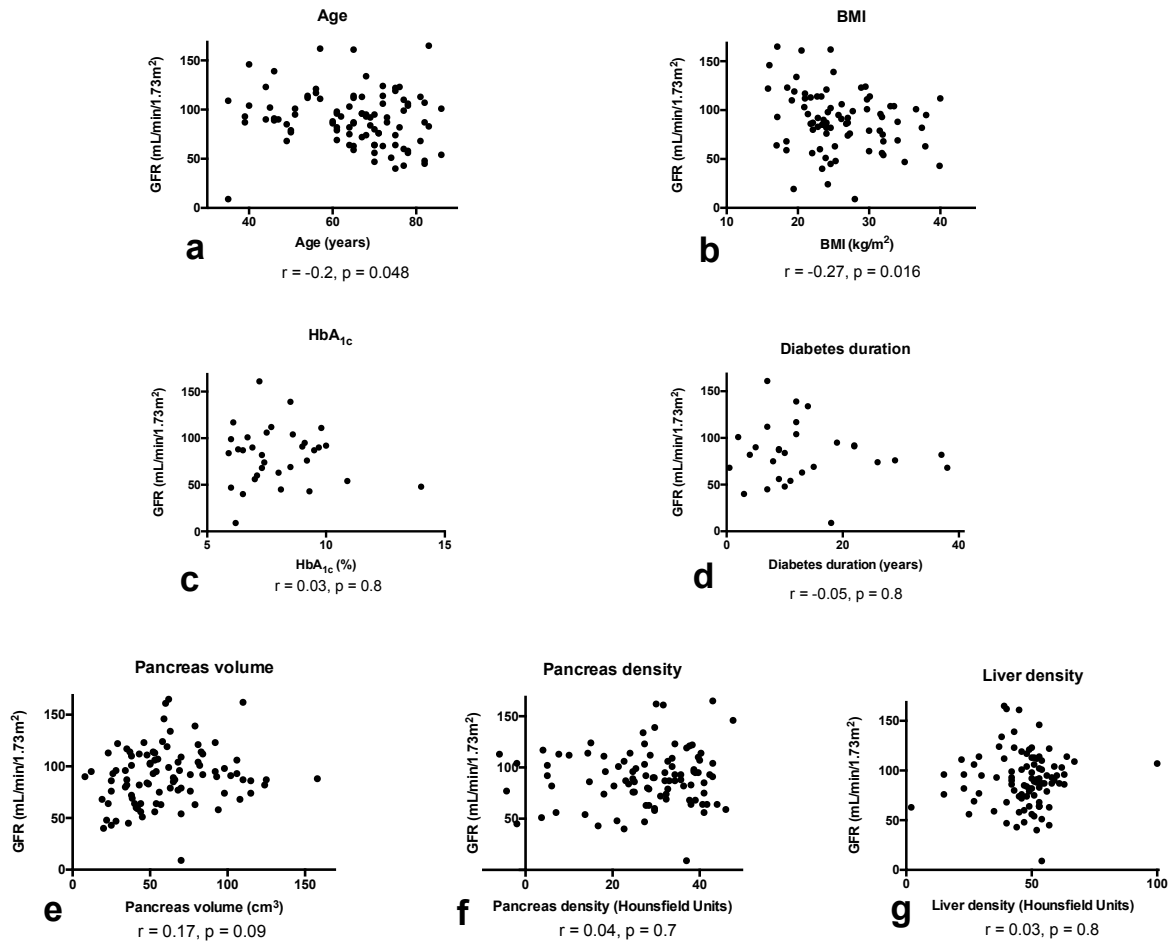


Figure S1. Estimated glomerular filtration rate (eGFR) according to clinical and pancreas characteristics.

eGFR (MDRD formula) in mL/min/1.73m². For all figures, a Spearman coefficient of correlation (r) and p-value (p) were calculated. BMI : body mass index.

a.eGFR according to age in years. b.eGFR according to body mass index in kg/m². c.eGFR according to HbA_{1c} (in %) in patients with type 2 diabetes. d.eGFR according to diabetes duration (in years) in patients with type 2 diabetes. e.eGFR according to pancreas volume in cm³. f.eGFR according to mean pancreas density as measured on images without contrast, in Hounsfield Units. g.eGFR according to liver density as measured on images without contrast, in Hounsfield Units.

	Diabetes duration (median, IQR)	p
Insulin use ^a		
Yes	12 (9.5-20.5)	0.0085
No	7 (0.5-12)	
Neuropathy ^b		
Yes	12 (8-24)	0.098
No	9 (0.25-16)	
Nephropathy ^c		
Yes	11 (5.5-15)	0.9
No	10.5 (2.75-21.25)	
Retinopathy ^d		
Yes	13 (8.5-22)	0.2
No	9 (2-15)	
Splenic artery calcium score ^e		
0	9 (4.25-12.75)	0.5
1	13 (5.25-23.75)	
2 or 3	15 (5.25-28.75)	
Abdominal aorta calcium score ^f		
0	9 (8.25-11.25)	0.8
1	12 (3-18.5)	
2 or 3	10 (7-26)	
Number of pancreas-bound branches ^g		
0	10 (3-19)	0.8
1	10 (7.5-24.75)	
2 or 3	10 (2.75-16.5)	
Number of intrapancreatic arterial subdivisions ^h		
0	8.5 (2.25-17.75)	0.3
1	13 (9-7)	
2	11 (7-13.5)	

Table S4. Diabetes duration according to clinical characteristics of the patients

IQR : Interquartile Range

^aAvailable in 15 and 17 patients, respectively. ^bAvailable in 13 and 13 patients, respectively. ^cAvailable in 9 and 16 patients, respectively. ^dAvailable in 9 and 15 patients, respectively. ^eAvailable in 20, 6 and 6 patients, respectively. ^fAvailable in 4, 17 and 11 patients, respectively. ^gAvailable in 11, 8 and 13 patients, respectively.

^hAvailable in 16, 7 and 9 patients, respectively.

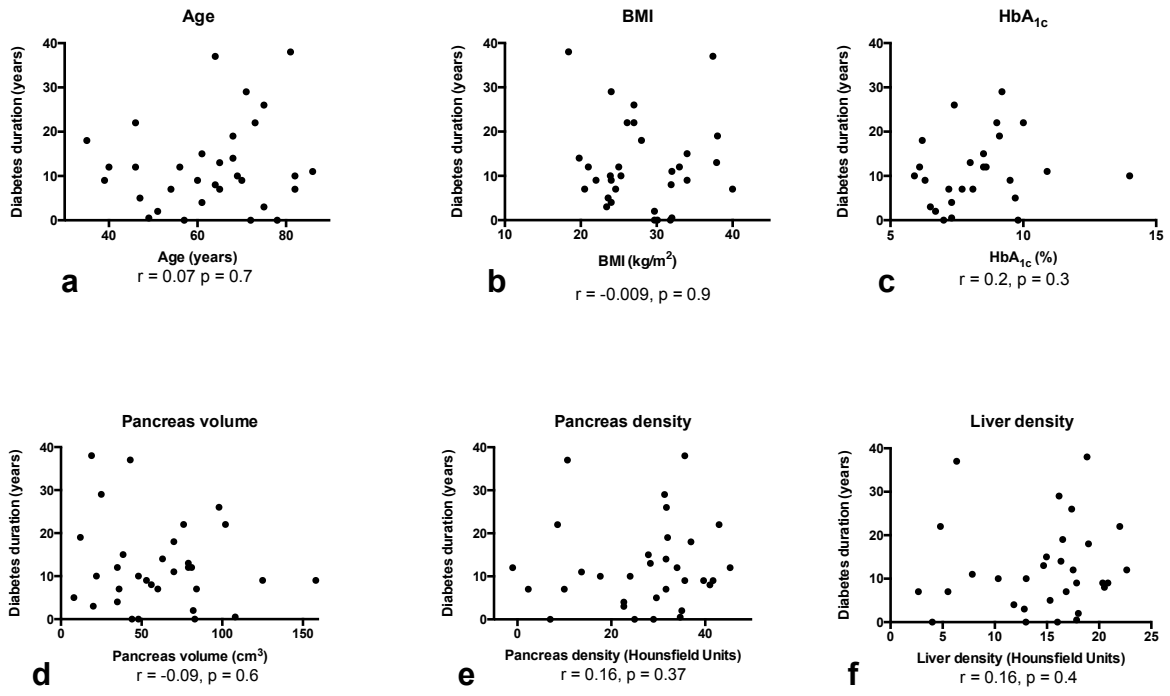


Figure S2. Diabetes duration according to clinical and pancreas characteristics.
 r = Spearman coefficient of correlation, p = p value of correlation.

Bibliographie

1. Levy BI, Schiffrin EL, Mourad J-J, Agostini D, Vicaut E, Safar ME, et al. Impaired tissue perfusion: a pathology common to hypertension, obesity, and diabetes mellitus. *Circulation*. 26 août 2008;118(9):968-76.
2. Sanders LJ. From Thebes to Toronto and the 21st Century: An Incredible Journey. *Diabetes Spectrum*. 1 janv 2002;15(1):56-60.
3. v. Mering J, Minkowski O. Diabetes mellitus nach Pankreasexstirpation. *Archiv f experiment Pathol u Pharmakol*. 1 janv 1890;26(5):371-87.
4. Hédon ECE. Titres et travaux scientifiques. Montpellier, typ Charles Boehm. 1894;
5. Opie EL. PATHOLOGICAL CHANGES AFFECTING THE ISLANDS OF LANGERHANS OF THE PANCREAS. *J Boston Soc Med Sci*. 12 juin 1900;4(10):251-60.
6. Opie EL. THE RELATION OE DIABETES MELLITUS TO LESIONS OF THE PANCREAS. HYALINE DEGENERATION OF THE ISLANDS OE LANGERHANS. *J Exp Med*. 25 mars 1901;5(5):527-40.
7. Banting FG, Best CH, Collip JB, Campbell WR, Fletcher AA, Macleod JJR, et al. The effect produced on diabetes by extracts of pancreas. *Transactions of the Association of American Physicians*. 1922;
8. Himsworth HP. Diabetes mellitus: its differentiation into insulin-sensitive and insulin-insensitive types. 1936. *Int J Epidemiol*. déc 2013;42(6):1594-8.
9. Hugh-Jones P, Camb MD. DIABETES IN JAMAICA. *The Lancet*. 29 oct 1955;266(6896):891-7.
10. Atkinson MA, Campbell-Thompson M, Kusmartseva I, Kaestner KH. Organisation of the human pancreas in health and in diabetes. *Diabetologia*. oct 2020;63(10):1966-73.
11. Longnecker DS. Anatomy and Histology of the Pancreas. *Pancreapedia: The Exocrine Pancreas Knowledge Base [Internet]*. 20 mars 2014 [cité 21 août 2018]; Disponible sur: /reviews/anatomy-and-histology-of-pancreas
12. Stefan Y, Orci L, Malaisse-Lagae F, Perrelet A, Patel Y, Unger RH. Quantitation of endocrine cell content in the pancreas of nondiabetic and diabetic humans. *Diabetes*. août 1982;31(8 Pt 1):694-700.
13. Classification of diabetes mellitus [Internet]. [cité 23 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.who.int/publications/i/item/classification-of-diabetes-mellitus>
14. Zhang IX, Raghavan M, Satin LS. The Endoplasmic Reticulum and Calcium Homeostasis in Pancreatic Beta Cells. *Endocrinology*. 1 févr 2020;161(2):bqz028.
15. Galicia-Garcia U, Benito-Vicente A, Jebari S, Larrea-Sebal A, Siddiqi H, Uribe KB, et al. Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci*. 30 août 2020;21(17):E6275.
16. Dali-Youcef N, Mecili M, Ricci R, Andrès E. Metabolic inflammation: connecting obesity and insulin resistance. *Ann Med*. mai 2013;45(3):242-53.
17. Eguchi N, Vaziri ND, Dafoe DC, Ichii H. The Role of Oxidative Stress in Pancreatic β Cell Dysfunction in Diabetes. *Int J Mol Sci*. 3 févr 2021;22(4):1509.
18. Wu H, Ballantyne CM. Skeletal muscle inflammation and insulin resistance in obesity. *J Clin Invest*. 3 janv 2017;127(1):43-54.
19. Abdul-Ghani MA, DeFronzo RA. Pathogenesis of insulin resistance in skeletal muscle. *J Biomed Biotechnol*. 2010;2010:476279.
20. Roden M, Shulman GI. The integrative biology of type 2 diabetes. *Nature*. déc 2019;576(7785):51-60.
21. Scherer PE. The many secret lives of adipocytes: implications for diabetes. *Diabetologia*. févr 2019;62(2):223-32.

22. Leclercq IA, Da Silva Morais A, Schroyen B, Van Hul N, Geerts A. Insulin resistance in hepatocytes and sinusoidal liver cells: mechanisms and consequences. *J Hepatol.* juill 2007;47(1):142-56.
23. Kim J-A, Wei Y, Sowers JR. Role of mitochondrial dysfunction in insulin resistance. *Circ Res.* 29 févr 2008;102(4):401-14.
24. Poulton J, Luan J, Macaulay V, Hennings S, Mitchell J, Wareham NJ. Type 2 diabetes is associated with a common mitochondrial variant: evidence from a population-based case-control study. *Hum Mol Genet.* 15 juin 2002;11(13):1581-3.
25. Sircana A, Framarin L, Leone N, Berrutti M, Castellino F, Parente R, et al. Altered Gut Microbiota in Type 2 Diabetes: Just a Coincidence? *Curr Diab Rep.* 13 sept 2018;18(10):98.
26. Holder M, Schwitzgebel V. Early Onset Diabetes in Two Children due to Progeria, a Monogenic Disease of DNA Repair. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2 sept 2020;12(3):315-8.
27. Jensen ET, Stafford JM, Saydah S, D'Agostino RB, Dolan LM, Lawrence JM, et al. Increase in Prevalence of Diabetic Ketoacidosis at Diagnosis Among Youth With Type 1 Diabetes: The SEARCH for Diabetes in Youth Study. *Diabetes Care.* 1 juill 2021;44(7):1573-8.
28. Atkinson MA, Eisenbarth GS, Michels AW. Type 1 diabetes. *Lancet.* 4 janv 2014;383(9911):69-82.
29. Redondo MJ, Jeffrey J, Fain PR, Eisenbarth GS, Orban T. Concordance for islet autoimmunity among monozygotic twins. *N Engl J Med.* 25 déc 2008;359(26):2849-50.
30. Pociot F, Lernmark Å. Genetic risk factors for type 1 diabetes. *Lancet.* 4 juin 2016;387(10035):2331-9.
31. DiMeglio LA, Evans-Molina C, Oram RA. Type 1 diabetes. *Lancet.* 16 juin 2018;391(10138):2449-62.
32. Noble JA. Immunogenetics of type 1 diabetes: A comprehensive review. *Journal of Autoimmunity.* nov 2015;64:101-12.
33. Kondrashova A, Reunanen A, Romanov A, Karvonen A, Viskari H, Vesikari T, et al. A six-fold gradient in the incidence of type 1 diabetes at the eastern border of Finland. *Ann Med.* 2005;37(1):67-72.
34. Rewers M, Ludvigsson J. Environmental risk factors for type 1 diabetes. *Lancet.* 4 juin 2016;387(10035):2340-8.
35. Dahlquist GG, Ivarsson S, Lindberg B, Forsgren M. Maternal enteroviral infection during pregnancy as a risk factor for childhood IDDM. A population-based case-control study. *Diabetes.* avr 1995;44(4):408-13.
36. Wen L, Ley RE, Volchkov PY, Stranges PB, Avanesyan L, Stonebraker AC, et al. Innate immunity and intestinal microbiota in the development of Type 1 diabetes. *Nature.* 23 oct 2008;455(7216):1109-13.
37. Chmiel R, Beyerlein A, Knopff A, Hummel S, Ziegler A-G, Winkler C. Early infant feeding and risk of developing islet autoimmunity and type 1 diabetes. *Acta Diabetol.* juin 2015;52(3):621-4.
38. Frederiksen B, Kroehl M, Lamb MM, Seifert J, Barriga K, Eisenbarth GS, et al. Infant exposures and development of type 1 diabetes mellitus: The Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *JAMA Pediatr.* sept 2013;167(9):808-15.
39. Ludvigsson J. Why diabetes incidence increases--a unifying theory. *Ann N Y Acad Sci.* oct 2006;1079:374-82.
40. Ziegler A-G, Bonifacio E, BABYDIAB-BABYDIET Study Group. Age-related islet autoantibody incidence in offspring of patients with type 1 diabetes. *Diabetologia.* juill 2012;55(7):1937-43.
41. Steck AK, Johnson K, Barriga KJ, Miao D, Yu L, Hutton JC, et al. Age of islet

- autoantibody appearance and mean levels of insulin, but not GAD or IA-2 autoantibodies, predict age of diagnosis of type 1 diabetes: diabetes autoimmunity study in the young. *Diabetes Care*. juin 2011;34(6):1397-9.
42. Parikka V, Näntö-Salonen K, Saarinen M, Simell T, Ilonen J, Hyöty H, et al. Early seroconversion and rapidly increasing autoantibody concentrations predict prepubertal manifestation of type 1 diabetes in children at genetic risk. *Diabetologia*. juill 2012;55(7):1926-36.
 43. Mathieu C, Lahesmaa R, Bonifacio E, Achenbach P, Tree T. Immunological biomarkers for the development and progression of type 1 diabetes. *Diabetologia*. nov 2018;61(11):2252-8.
 44. Keenan HA, Sun JK, Levine J, Doria A, Aiello LP, Eisenbarth G, et al. Residual insulin production and pancreatic β -cell turnover after 50 years of diabetes: Joslin Medalist Study. *Diabetes*. nov 2010;59(11):2846-53.
 45. Foulis AK, Stewart JA. The pancreas in recent-onset Type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: insulin content of islets, insulinitis and associated changes in the exocrine acinar tissue. *Diabetologia*. 1 juin 1984;26(6):456-61.
 46. Willcox A, Richardson SJ, Bone AJ, Foulis AK, Morgan NG. Analysis of islet inflammation in human type 1 diabetes. *Clin Exp Immunol*. févr 2009;155(2):173-81.
 47. Steffes MW, Sibley S, Jackson M, Thomas W. Beta-cell function and the development of diabetes-related complications in the diabetes control and complications trial. *Diabetes Care*. mars 2003;26(3):832-6.
 48. Akirav EM, Baquero M-T, Opare-Addo LW, Akirav M, Galvan E, Kushner JA, et al. Glucose and inflammation control islet vascular density and beta-cell function in NOD mice: control of islet vasculature and vascular endothelial growth factor by glucose. *Diabetes*. mars 2011;60(3):876-83.
 49. Taborsky GJ, Mei Q, Hackney DJ, Mundinger TO. The search for the mechanism of early sympathetic islet neuropathy in autoimmune diabetes. *Diabetes Obes Metab*. sept 2014;16 Suppl 1:96-101.
 50. Staels W, Heremans Y, Heimberg H, De Leu N. VEGF-A and blood vessels: a beta cell perspective. *Diabetologia*. nov 2019;62(11):1961-8.
 51. Fortin JS, Santamaria-Bouvier A, Lair S, Dallaire AD, Benoit-Biancamano M-O. Anatomic and molecular characterization of the endocrine pancreas of a teleostean fish: Atlantic wolffish (*Anarhichas lupus*). *Zoological Studies*. 21 janv 2015;54(1):21.
 52. Cawley T. A Singular Case of Diabetes, Consisting Entirely in the Quality of the Urine; with an Inquiry into the Different Theories of That Disease. *Lond Med J*. 1788;9(Pt 3):286-308.
 53. Bouchardat A. De la Glycosurie ou diabète sucré, son traitement hygiénique, avec notes et documents sur la nature et le traitement de la goutte. In 1883.
 54. Hoppe-Seyler. *Deutsches archiv fuer klinische medizin* [Internet]. 1904 [cité 31 mai 2018]. 689 p. Disponible sur: <http://archive.org/details/deutschesarchiv68unkngoog>
 55. Cecil RL. A STUDY OF THE PATHOLOGICAL ANATOMY OF THE PANCREAS IN NINETY CASES OF DIABETES MELLITUS. *J Exp Med*. 1 mars 1909;11(2):266-90.
 56. Wynne K, Devereaux B, Dornhorst A. Diabetes of the exocrine pancreas. *J Gastroenterol Hepatol*. févr 2019;34(2):346-54.
 57. Ewald N, Kaufmann C, Raspe A, Kloer HU, Bretzel RG, Hardt PD. Prevalence of diabetes mellitus secondary to pancreatic diseases (type 3c). *Diabetes Metab Res Rev*. mai 2012;28(4):338-42.
 58. Woodmansey C, McGovern AP, McCullough KA, Whyte MB, Munro NM, Correa AC, et al. Incidence, Demographics, and Clinical Characteristics of Diabetes of the Exocrine Pancreas (Type 3c): A Retrospective Cohort Study. *Diabetes Care*. nov 2017;40(11):1486-93.

59. Ewald N, Bretzel RG. Diabetes mellitus secondary to pancreatic diseases (Type 3c)--are we neglecting an important disease? *Eur J Intern Med.* avr 2013;24(3):203-6.
60. Malka D, Hammel P, Sauvanet A, Rufat P, O'Toole D, Bardet P, et al. Risk factors for diabetes mellitus in chronic pancreatitis. *Gastroenterology.* nov 2000;119(5):1324-32.
61. Rebours V, Boutron-Ruault M-C, Schnee M, Férec C, Le Maréchal C, Hentic O, et al. The natural history of hereditary pancreatitis: a national series. *Gut.* janv 2009;58(1):97-103.
62. Hart PA, Bellin MD, Andersen DK, Bradley D, Cruz-Monserrate Z, Forsmark CE, et al. Type 3c (pancreatogenic) diabetes mellitus secondary to chronic pancreatitis and pancreatic cancer. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* nov 2016;1(3):226-37.
63. Lundberg R, Beilman GJ, Dunn TB, Pruett TL, Freeman ML, Ptacek PE, et al. Early Alterations in Glycemic Control and Pancreatic Endocrine Function in Nondiabetic Patients With Chronic Pancreatitis. *Pancreas.* avr 2016;45(4):565-71.
64. Sasikala M, Talukdar R, Pavan kumar P, Radhika G, Rao GV, Pradeep R, et al. β -Cell dysfunction in chronic pancreatitis. *Dig Dis Sci.* juill 2012;57(7):1764-72.
65. Schrader H, Menge BA, Schneider S, Belyaev O, Tannapfel A, Uhl W, et al. Reduced pancreatic volume and beta-cell area in patients with chronic pancreatitis. *Gastroenterology.* févr 2009;136(2):513-22.
66. Rabiee A, Galiatsatos P, Salas-Carrillo R, Thompson MJ, Andersen DK, Elahi D. Pancreatic polypeptide administration enhances insulin sensitivity and reduces the insulin requirement of patients on insulin pump therapy. *J Diabetes Sci Technol.* 1 nov 2011;5(6):1521-8.
67. Cai D, Yuan M, Frantz DF, Melendez PA, Hansen L, Lee J, et al. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB. *Nat Med.* févr 2005;11(2):183-90.
68. Permert J, Ihse I, Jorfeldt L, von Schenck H, Arnqvist HJ, Larsson J. Pancreatic cancer is associated with impaired glucose metabolism. *Eur J Surg.* févr 1993;159(2):101-7.
69. Aggarwal G, Kamada P, Chari ST. Prevalence of diabetes mellitus in pancreatic cancer compared to common cancers. *Pancreas.* mars 2013;42(2):198-201.
70. Sah RP, Nagpal SJS, Mukhopadhyay D, Chari ST. New insights into pancreatic cancer-induced paraneoplastic diabetes. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* juill 2013;10(7):423-33.
71. Gardner TB, Hessami N, Smith KD, Ripple GH, Barth RJ, Klibansky DA, et al. The effect of neoadjuvant chemoradiation on pancreatic cancer-associated diabetes mellitus. *Pancreas.* oct 2014;43(7):1018-21.
72. Aggarwal G, Ramachandran V, Javeed N, Arumugam T, Dutta S, Klee GG, et al. Adrenomedullin is up-regulated in patients with pancreatic cancer and causes insulin resistance in β cells and mice. *Gastroenterology.* déc 2012;143(6):1510-1517.e1.
73. Valerio A, Basso D, Brigato L, Ceolotto G, Baldo G, Tiengo A, et al. Glucose metabolic alterations in isolated and perfused rat hepatocytes induced by pancreatic cancer conditioned medium: a low molecular weight factor possibly involved. *Biochem Biophys Res Commun.* 13 avr 1999;257(2):622-8.
74. Korc M. Pancreatic cancer-associated diabetes is an « exosomopathy ». *Clin Cancer Res.* 1 avr 2015;21(7):1508-10.
75. Moran A, Dunitz J, Nathan B, Saeed A, Holme B, Thomas W. Cystic fibrosis-related diabetes: current trends in prevalence, incidence, and mortality. *Diabetes Care.* sept 2009;32(9):1626-31.
76. Granados A, Chan CL, Ode KL, Moheet A, Moran A, Holl R. Cystic fibrosis related diabetes: Pathophysiology, screening and diagnosis. *J Cyst Fibros.* oct 2019;18 Suppl 2:S3-9.
77. Hart NJ, Aramandla R, Poffenberger G, Fayolle C, Thames AH, Bautista A, et al. Cystic fibrosis-related diabetes is caused by islet loss and inflammation. *JCI Insight.* 19 avr

2018;3(8).

78. Ntimbane T, Mailhot G, Spahis S, Rabasa-Lhoret R, Kleme M-L, Melloul D, et al. CFTR silencing in pancreatic β -cells reveals a functional impact on glucose-stimulated insulin secretion and oxidative stress response. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 1 févr 2016;310(3):E200-212.
79. Kuo P, Stevens JE, Russo A, Maddox A, Wishart JM, Jones KL, et al. Gastric emptying, incretin hormone secretion, and postprandial glycemia in cystic fibrosis--effects of pancreatic enzyme supplementation. *J Clin Endocrinol Metab.* mai 2011;96(5):E851-855.
80. Ross JJ, Wasserfall CH, Bacher R, Perry DJ, McGrail K, Posgai AL, et al. Exocrine Pancreatic Enzymes Are a Serological Biomarker for Type 1 Diabetes Staging and Pancreas Size. *Diabetes.* avr 2021;70(4):944-54.
81. Alexandre-Heymann L, Mallone R, Boitard C, Scharfmann R, Larger E. Structure and function of the exocrine pancreas in patients with type 1 diabetes. *Rev Endocr Metab Disord.* 11 mai 2019;1-21.
82. Alzaid A, Aideyan O, Nawaz S. The size of the pancreas in diabetes mellitus. *Diabet Med.* oct 1993;10(8):759-63.
83. Gilbeau JP, Poncelet V, Libon E, Derue G, Heller FR. The density, contour, and thickness of the pancreas in diabetics: CT findings in 57 patients. *AJR Am J Roentgenol.* sept 1992;159(3):527-31.
84. Philippe M-F, Benabadi S, Barbot-Trystram L, Vadrot D, Boitard C, Larger E. Pancreatic volume and endocrine and exocrine functions in patients with diabetes. *Pancreas.* avr 2011;40(3):359-63.
85. Burute N, Nisenbaum R, Jenkins DJ, Mirrahimi A, Anthwal S, Colak E, et al. Pancreas volume measurement in patients with Type 2 diabetes using magnetic resonance imaging-based planimetry. *Pancreatol.* août 2014;14(4):268-74.
86. Silva ME, Vezozzo DP, Ursich MJ, Rocha DM, Cerri GG, Wajchenberg BL. Ultrasonographic abnormalities of the pancreas in IDDM and NIDDM patients. *Diabetes Care.* sept 1993;16(9):1296-7.
87. Goda K, Sasaki E, Nagata K, Fukai M, Ohsawa N, Hahafusa T. Pancreatic volume in type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol.* 2001;38(3):145-9.
88. Saisho Y. Pancreas Volume and Fat Deposition in Diabetes and Normal Physiology: Consideration of the Interplay Between Endocrine and Exocrine Pancreas. *Rev Diabet Stud.* 2016;13(2-3):132-47.
89. Hayden MR, Patel K, Habibi J, Gupta D, Tekwani SS, Whaley-Connell A, et al. Attenuation of endocrine-exocrine pancreatic communication in type 2 diabetes: pancreatic extracellular matrix ultrastructural abnormalities. *J Cardiometab Syndr.* 2008;3(4):234-43.
90. Tushuizen ME, Bunck MC, Pouwels PJ, Bontemps S, van Waesberghe JHT, Schindhelm RK, et al. Pancreatic fat content and beta-cell function in men with and without type 2 diabetes. *Diabetes Care.* nov 2007;30(11):2916-21.
91. Begovatz P, Koliaki C, Weber K, Strassburger K, Nowotny B, Nowotny P, et al. Pancreatic adipose tissue infiltration, parenchymal steatosis and beta cell function in humans. *Diabetologia.* juill 2015;58(7):1646-55.
92. Lingvay I, Esser V, Legendre JL, Price AL, Wertz KM, Adams-Huet B, et al. Noninvasive quantification of pancreatic fat in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* oct 2009;94(10):4070-6.
93. Ou H-Y, Wang C-Y, Yang Y-C, Chen M-F, Chang C-J. The association between nonalcoholic fatty pancreas disease and diabetes. *PLoS One.* 2013;8(5):e62561.
94. Ma J, Song Z, Yan F. Detection of hepatic and pancreatic fat infiltration in type II diabetes mellitus patients with IDEAL-Quant using 3.0T MR: comparison with single-voxel proton spectroscopy. *Chin Med J (Engl).* 2014;127(20):3548-52.

95. Lee JS, Kim SH, Jun DW, Han JH, Jang EC, Park JY, et al. Clinical implications of fatty pancreas: correlations between fatty pancreas and metabolic syndrome. *World J Gastroenterol.* 21 avr 2009;15(15):1869-75.
96. Søfteland E, Poulsen JL, Starup-Linde J, Christensen TT, Olesen SS, Singh S, et al. Pancreatic exocrine insufficiency in diabetes mellitus - prevalence and characteristics. *Eur J Intern Med.* oct 2019;68:18-22.
97. Hardt PD, Krauss A, Bretz L, Porsch-Ozcürümez M, Schnell-Kretschmer H, Mäser E, et al. Pancreatic exocrine function in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol.* 2000;37(3):105-10.
98. Hardt PD, Hauenschild A, Nalop J, Marzeion AM, Jaeger C, Teichmann J, et al. High prevalence of exocrine pancreatic insufficiency in diabetes mellitus. A multicenter study screening fecal elastase 1 concentrations in 1,021 diabetic patients. *Pancreatology.* 2003;3(5):395-402.
99. Larger E, Philippe MF, Barbot-Trystram L, Radu A, Rotariu M, Nobécourt E, et al. Pancreatic exocrine function in patients with diabetes: Pancreatic function in patients with diabetes. *Diabetic Medicine.* août 2012;29(8):1047-54.
100. Shivaprasad C, Pulikkal AA, Kumar KMP. Pancreatic exocrine insufficiency in type 1 and type 2 diabetics of Indian origin. *Pancreatology.* déc 2015;15(6):616-9.
101. Prasanna Kumar HR, Gowdappa HB, Hosmani T, Urs T. Exocrine Dysfunction Correlates with Endocrinal Impairment of Pancreas in Type 2 Diabetes Mellitus. *Indian J Endocrinol Metab.* févr 2018;22(1):121-5.
102. Radlinger B, Ramoser G, Kaser S. Exocrine Pancreatic Insufficiency in Type 1 and Type 2 Diabetes. *Curr Diab Rep.* 1 avr 2020;20(6):18.
103. Dybala MP, Kuznetsov A, Motobu M, Hendren-Santiago BK, Philipson LH, Chervonsky AV, et al. Integrated Pancreatic Blood Flow: Bidirectional Microcirculation Between Endocrine and Exocrine Pancreas. *Diabetes.* juill 2020;69(7):1439-50.
104. Woodburne RT, Olsen LL. The arteries of the pancreas. *Anat Rec.* oct 1951;111(2):255-70.
105. El-Gohary Y, Tulachan S, Branca M, Sims-Lucas S, Guo P, Prasad K, et al. Whole-mount imaging demonstrates hypervascularity of the pancreatic ducts and other pancreatic structures. *Anat Rec (Hoboken).* mars 2012;295(3):465-73.
106. El-Gohary1 Y, Gittes2 G. Structure of Islets and Vascular Relationship to the Exocrine Pancreas. *Pancreapedia: The Exocrine Pancreas Knowledge Base [Internet].* 16 janv 2018 [cité 29 juill 2019]; Disponible sur: /reviews/structure-of-islets-and-vascular-relationship-to-exocrine-pancreas
107. Brissova M, Shostak A, Fligner CL, Revetta FL, Washington MK, Powers AC, et al. Human Islets Have Fewer Blood Vessels than Mouse Islets and the Density of Islet Vascular Structures Is Increased in Type 2 Diabetes. *J Histochem Cytochem.* août 2015;63(8):637-45.
108. El-Gohary Y, Sims-Lucas S, Lath N, Tulachan S, Guo P, Xiao X, et al. Three-dimensional analysis of the islet vasculature. *Anat Rec (Hoboken).* sept 2012;295(9):1473-81.
109. Nyman LR, Wells KS, Head WS, McCaughey M, Ford E, Brissova M, et al. Real-time, multidimensional in vivo imaging used to investigate blood flow in mouse pancreatic islets. *The Journal of Clinical Investigation.* 3 nov 2008;118(11):3790.
110. Virtanen I, Banerjee M, Palgi J, Korsgren O, Lukinius A, Thornell L-E, et al. Blood vessels of human islets of Langerhans are surrounded by a double basement membrane. *Diabetologia.* juill 2008;51(7):1181-91.
111. Lammert E, Gu G, McLaughlin M, Brown D, Brekken R, Murtaugh LC, et al. Role of VEGF-A in vascularization of pancreatic islets. *Curr Biol.* 17 juin 2003;13(12):1070-4.
112. Lammert E, Cleaver O, Melton D. Induction of pancreatic differentiation by signals from blood vessels. *Science.* 19 oct 2001;294(5542):564-7.

113. Johansson M, Mattsson G, Andersson A, Jansson L, Carlsson P-O. Islet endothelial cells and pancreatic beta-cell proliferation: studies in vitro and during pregnancy in adult rats. *Endocrinology*. mai 2006;147(5):2315-24.
114. Zanone MM, Favaro E, Camussi G. From endothelial to beta cells: insights into pancreatic islet microendothelium. *Curr Diabetes Rev*. févr 2008;4(1):1-9.
115. Peiris H, Bonder CS, Coates PTH, Keating DJ, Jessup CF. The β -cell/EC axis: how do islet cells talk to each other? *Diabetes*. janv 2014;63(1):3-11.
116. Olerud J, Mokhtari D, Johansson M, Christoffersson G, Lawler J, Welsh N, et al. Thrombospondin-1: An Islet Endothelial Cell Signal of Importance for β -Cell Function. *Diabetes*. 1 juill 2011;60(7):1946-54.
117. Agudo J, Ayuso E, Jimenez V, Casellas A, Mallol C, Salavert A, et al. Vascular endothelial growth factor-mediated islet hypervascularization and inflammation contribute to progressive reduction of β -cell mass. *Diabetes*. nov 2012;61(11):2851-61.
118. Brissova M, Shostak A, Shiota M, Wiebe PO, Poffenberger G, Kantz J, et al. Pancreatic islet production of vascular endothelial growth factor--a is essential for islet vascularization, revascularization, and function. *Diabetes*. nov 2006;55(11):2974-85.
119. Mateus Gonçalves L, Almaça J. Functional Characterization of the Human Islet Microvasculature Using Living Pancreas Slices. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11:602519.
120. Preiss D, Zetterstrand S, McMurray JJV, Ostergren J, Michelson EL, Granger CB, et al. Predictors of Development of Diabetes in Patients With Chronic Heart Failure in the Candesartan in Heart Failure Assessment of Reduction in Mortality and Morbidity (CHARM) Program. *Diabetes Care*. 1 mai 2009;32(5):915-20.
121. Mozaffarian D, Marfisi R, Levantesi G, Silletta MG, Tavazzi L, Tognoni G, et al. Incidence of new-onset diabetes and impaired fasting glucose in patients with recent myocardial infarction and the effect of clinical and lifestyle risk factors. *Lancet*. 25 août 2007;370(9588):667-75.
122. Park CS, Chung WB, Choi YS, Kim PJ, Lee JM, Baek K-H, et al. Acute Myocardial Infarction Is a Risk Factor for New Onset Diabetes in Patients with Coronary Artery Disease. Schirmer SH, éditeur. *PLOS ONE*. 21 août 2015;10(8):e0136354.
123. Conen D, Ridker PM, Mora S, Buring JE, Glynn RJ. Blood pressure and risk of developing type 2 diabetes mellitus: the Women's Health Study. *Eur Heart J*. déc 2007;28(23):2937-43.
124. Qin X, Li J, Zhang Y, Ma W, Fan F, Wang B, et al. Prevalence and associated factors of diabetes and impaired fasting glucose in Chinese hypertensive adults aged 45 to 75 years. *PLoS One*. 2012;7(8):e42538.
125. Yang K, Chasens ER, Sereika SM, Burke LE. Revisiting the association between cardiovascular risk factors and diabetes: data from a large population-based study. *Diabetes Educ*. oct 2009;35(5):770-7.
126. Wu Y, Hu H, Cai J, Chen R, Zuo X, Cheng H, et al. Association of hypertension and incident diabetes in Chinese adults: a retrospective cohort study using propensity-score matching. *BMC Endocr Disord*. 29 avr 2021;21(1):87.
127. Zhang Y, Nie J, Zhang Y, Li J, Liang M, Wang G, et al. Degree of Blood Pressure Control and Incident Diabetes Mellitus in Chinese Adults With Hypertension. *J Am Heart Assoc*. 18 août 2020;9(16):e017015.
128. Zatońska K, Basiak-Rasała A, Różańska D, Karczewski M, Wołyniec M, Szuba A, et al. Changes in diabetes prevalence and corresponding risk factors - findings from 3- and 6-year follow-up of PURE Poland cohort study. *BMC Public Health*. 3 juin 2020;20(1):843.
129. Khosravi A, Emamian MH, Hashemi H, Fotouhi A. Pre-hypertension and the risk of diabetes mellitus incidence using a marginal structural model in an Iranian prospective cohort

study. *Epidemiol Health*. 2018;40:e2018026.

130. Emdin CA, Anderson SG, Woodward M, Rahimi K. Usual Blood Pressure and Risk of New-Onset Diabetes: Evidence From 4.1 Million Adults and a Meta-Analysis of Prospective Studies. *J Am Coll Cardiol*. 6 oct 2015;66(14):1552-62.

131. Guo F, Garvey WT. Development of a Weighted Cardiometabolic Disease Staging (CMDS) System for the Prediction of Future Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. oct 2015;100(10):3871-7.

132. Kim M-J, Lim N-K, Choi S-J, Park H-Y. Hypertension is an independent risk factor for type 2 diabetes: the Korean genome and epidemiology study. *Hypertens Res*. nov 2015;38(11):783-9.

133. Ta MTT, Nguyen KT, Nguyen ND, Campbell LV, Nguyen TV. Identification of undiagnosed type 2 diabetes by systolic blood pressure and waist-to-hip ratio. *Diabetologia*. oct 2010;53(10):2139-46.

134. Izzo R, Simone G de, Chinali M, Iaccarino G, Trimarco V, Rozza F, et al. Insufficient Control of Blood Pressure and Incident Diabetes. *Diabetes Care*. 1 mai 2009;32(5):845-50.

135. Balkau B, Lange C, Fezeu L, Tichet J, de Lauzon-Guillain B, Czernichow S, et al. Predicting Diabetes: Clinical, Biological, and Genetic Approaches: Data from the Epidemiological Study on the Insulin Resistance Syndrome (DESIR). *Diabetes Care*. 1 oct 2008;31(10):2056-61.

136. Wei GS, Coady SA, Goff DC, Brancati FL, Levy D, Selvin E, et al. Blood pressure and the risk of developing diabetes in african americans and whites: ARIC, CARDIA, and the framingham heart study. *Diabetes Care*. avr 2011;34(4):873-9.

137. Ismail L, Materwala H, Al Kaabi J. Association of risk factors with type 2 diabetes: A systematic review. *Comput Struct Biotechnol J*. 2021;19:1759-85.

138. Mancusi C, Izzo R, di Gioia G, Losi MA, Barbato E, Morisco C. Insulin Resistance the Hinge Between Hypertension and Type 2 Diabetes. *High Blood Press Cardiovasc Prev*. déc 2020;27(6):515-26.

139. Grunfeld B, Balzaretto M, Romo M, Gimenez M, Gutman R. Hyperinsulinemia in normotensive offspring of hypertensive parents. *Hypertension*. janv 1994;23(1 Suppl):I12-15.

140. Wasserman DH, Wang TJ, Brown NJ. The Vasculature in Prediabetes. *Circ Res*. 13 avr 2018;122(8):1135-50.

141. Xu X, Mishra GD, Dobson AJ, Jones M. Progression of diabetes, heart disease, and stroke multimorbidity in middle-aged women: A 20-year cohort study. *PLoS Med*. mars 2018;15(3):e1002516.

142. Wannamethee SG, Shaper AG, Perry IJ, British Regional Heart Study. Smoking as a modifiable risk factor for type 2 diabetes in middle-aged men. *Diabetes Care*. sept 2001;24(9):1590-5.

143. Kim JH, Seo DC, Kim BJ, Kang JG, Lee SJ, Lee SH, et al. Association between Cigarette Smoking and New-Onset Diabetes Mellitus in 78,212 Koreans Using Self-Reported Questionnaire and Urine Cotinine. *Diabetes Metab J*. juin 2020;44(3):426-35.

144. Akter S, Okazaki H, Kuwahara K, Miyamoto T, Murakami T, Shimizu C, et al. Smoking, Smoking Cessation, and the Risk of Type 2 Diabetes among Japanese Adults: Japan Epidemiology Collaboration on Occupational Health Study. *PLoS One*. 2015;10(7):e0132166.

145. Al-Zahrani JM, Aldiab A, Aldossari KK, Al-Ghamdi S, Batais MA, Javad S, et al. Prevalence of Prediabetes, Diabetes and Its Predictors among Females in Alkharj, Saudi Arabia: A Cross-Sectional Study. *Ann Glob Health*. 85(1):109.

146. Kowall B, Rathmann W, Strassburger K, Heier M, Holle R, Thorand B, et al. Association of passive and active smoking with incident type 2 diabetes mellitus in the elderly population: the KORA S4/F4 cohort study. *Eur J Epidemiol*. juin 2010;25(6):393-402.

147. Jiang L, Chang J, Ziogas A, Deapen D, Reynolds P, Bernstein L, et al. Secondhand smoke, obesity, and risk of type II diabetes among California teachers. *Ann Epidemiol.* avr 2019;32:35-42.
148. Luo J, Rossouw J, Tong E, Giovino GA, Lee CC, Chen C, et al. Smoking and diabetes: does the increased risk ever go away? *Am J Epidemiol.* 15 sept 2013;178(6):937-45.
149. Zhang L, Curhan GC, Hu FB, Rimm EB, Forman JP. Association between passive and active smoking and incident type 2 diabetes in women. *Diabetes Care.* avr 2011;34(4):892-7.
150. Stein JH, Asthana A, Smith SS, Piper ME, Loh W-Y, Fiore MC, et al. Smoking cessation and the risk of diabetes mellitus and impaired fasting glucose: three-year outcomes after a quit attempt. *PLoS One.* 2014;9(6):e98278.
151. Oba S, Noda M, Waki K, Nanri A, Kato M, Takahashi Y, et al. Smoking Cessation Increases Short-Term Risk of Type 2 Diabetes Irrespective of Weight Gain: The Japan Public Health Center-Based Prospective Study. *PLoS One.* 13 févr 2012;7(2):e17061.
152. Yeh H-C, Duncan BB, Schmidt MI, Wang N-Y, Brancati FL. Smoking, smoking cessation, and risk for type 2 diabetes mellitus: a cohort study. *Ann Intern Med.* 5 janv 2010;152(1):10-7.
153. Naicker K, Manuel D, Øverland S, Skogen JC, Johnson JA, Sivertsen B, et al. Population attributable fractions for Type 2 diabetes: an examination of multiple risk factors including symptoms of depression and anxiety. *Diabetology & Metabolic Syndrome.* 22 nov 2018;10(1):84.
154. Kim SJ, Jee SH, Nam JM, Cho WH, Kim J-H, Park E-C. Do early onset and pack-years of smoking increase risk of type II diabetes? *BMC Public Health.* 19 févr 2014;14:178.
155. Meisinger C, Döring A, Thorand B, Löwel H. Association of cigarette smoking and tar and nicotine intake with development of type 2 diabetes mellitus in men and women from the general population: the MONICA/KORA Augsburg Cohort Study. *Diabetologia.* août 2006;49(8):1770-6.
156. Houston TK, Person SD, Pletcher MJ, Liu K, Iribarren C, Kiefe CI. Active and passive smoking and development of glucose intolerance among young adults in a prospective cohort: CARDIA study. *BMJ.* 6 mai 2006;332(7549):1064-9.
157. Tong X, Chaudhry Z, Lee C-C, Bone RN, Kanojia S, Maddatu J, et al. Cigarette smoke exposure impairs β -cell function through activation of oxidative stress and ceramide accumulation. *Molecular Metabolism.* 1 juill 2020;37:100975.
158. Xu H, Wang Q, Sun Q, Qin Y, Han A, Cao Y, et al. In type 2 diabetes induced by cigarette smoking, activation of p38 MAPK is involved in pancreatic β -cell apoptosis. *Environ Sci Pollut Res Int.* 1 avr 2018;25(10):9817-27.
159. Muhammad IF, Borné Y, Östling G, Kennbäck C, Gottsäter M, Persson M, et al. Arterial Stiffness and Incidence of Diabetes: A Population-Based Cohort Study. *Diabetes Care.* déc 2017;40(12):1739-45.
160. Zhang Y, He P, Li Y, Zhang Y, Li J, Liang M, et al. Positive association between baseline brachial-ankle pulse wave velocity and the risk of new-onset diabetes in hypertensive patients. *Cardiovasc Diabetol.* 28 août 2019;18(1):111.
161. Wu Y, Han X, Gao J, Wang Y, Zhu C, Huang Z, et al. Individual and combined contributions of age-specific and sex-specific pulse pressure and brachial-ankle pulse wave velocity to the risk of new-onset diabetes mellitus. *BMJ Open Diabetes Res Care.* juin 2021;9(1):e001942.
162. Lou Y-M, Liao M-Q, Wang C-Y, Chen H-E, Peng X-L, Zhao D, et al. Association between brachial-ankle pulse wave velocity and risk of type 2 diabetes mellitus: results from a cohort study. *BMJ Open Diabetes Res Care.* juill 2020;8(1):e001317.
163. Tosun A, Duzguner S, Ozkaya E, Korkmaz V, Acar S, Gultekin B, et al. Utility of superior mesenteric artery Doppler and maternal pancreatic size for predicting gestational

diabetes mellitus. *Ir J Med Sci.* juin 2015;184(2):499-503.

164. DREAM Trial Investigators, Bosch J, Yusuf S, Gerstein HC, Pogue J, Sheridan P, et al. Effect of ramipril on the incidence of diabetes. *N Engl J Med.* 12 oct 2006;355(15):1551-62.

165. Yusuf S, Gerstein H, Hoogwerf B, Pogue J, Bosch J, Wolffenbuttel BH, et al. Ramipril and the development of diabetes. *JAMA.* 17 oct 2001;286(15):1882-5.

166. NAVIGATOR Study Group, McMurray JJ, Holman RR, Haffner SM, Bethel MA, Holzhauser B, et al. Effect of valsartan on the incidence of diabetes and cardiovascular events. *N Engl J Med.* 22 avr 2010;362(16):1477-90.

167. van der Zijl NJ, Moors CCM, Goossens GH, Hermans MMH, Blaak EE, Diamant M. Valsartan improves β -cell function and insulin sensitivity in subjects with impaired glucose metabolism: a randomized controlled trial. *Diabetes Care.* avr 2011;34(4):845-51.

168. Yusuf S, Ostergren JB, Gerstein HC, Pfeffer MA, Swedberg K, Granger CB, et al. Effects of candesartan on the development of a new diagnosis of diabetes mellitus in patients with heart failure. *Circulation.* 5 juill 2005;112(1):48-53.

169. Liou Y-S, Chen H-Y, Tien L, Gu Y-S, Jong G-P. Antihypertensive Drug Use and New-Onset Diabetes in Female Patients with Coronary Artery Disease: A Population-based Longitudinal Cohort Study. *Medicine (Baltimore).* sept 2015;94(36):e1495.

170. Vardeny O, Uno H, Braunwald E, Rouleau JL, Gersh B, Maggioni AP, et al. Opposing effects of β blockers and angiotensin-converting enzyme inhibitors on development of new-onset diabetes mellitus in patients with stable coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 15 juin 2011;107(12):1705-9.

171. Zidek W, Schrader J, Lüders S, Matthaei S, Hasslacher C, Hoyer J, et al. Ramipril-based versus diuretic-based antihypertensive primary treatment in patients with pre-diabetes (ADaPT) study. *Cardiovasc Diabetol.* 9 janv 2012;11:1.

172. Julius S, Kjeldsen SE, Weber M, Brunner HR, Ekman S, Hansson L, et al. Outcomes in hypertensive patients at high cardiovascular risk treated with regimens based on valsartan or amlodipine: the VALUE randomised trial. *Lancet.* 19 juin 2004;363(9426):2022-31.

173. Yang Y, Xu H. Comparing six antihypertensive medication classes for preventing new-onset diabetes mellitus among hypertensive patients: a network meta-analysis. *J Cell Mol Med.* sept 2017;21(9):1742-50.

174. Hamamoto Y, Honjo S, Kawasaki Y, Ikeda H, Mori K, Fujimoto K, et al. Relationship between telmisartan dose and glycaemic control in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus and hypertension: a retrospective study. *Clin Drug Investig.* 1 sept 2012;32(9):577-82.

175. Dionne KE, Colton CK, Yarmush ML. Effect of hypoxia on insulin secretion by isolated rat and canine islets of Langerhans. *Diabetes.* janv 1993;42(1):12-21.

176. Zhou M-S, Schulman IH. Prevention of diabetes in hypertensive patients: Results and implications from the VALUE trial. *Vasc Health Risk Manag.* 2009;5:361-8.

177. Hayden MR, Sowers JR. Treating hypertension while protecting the vulnerable islet in the cardiometabolic syndrome. *J Am Soc Hypertens.* août 2008;2(4):239-66.

178. Li X, Zhang L, Meshinchi S, Dias-Leme C, Raffin D, Johnson JD, et al. Islet microvasculature in islet hyperplasia and failure in a model of type 2 diabetes. *Diabetes.* nov 2006;55(11):2965-73.

179. Mizuno A, Noma Y, Kuwajima M, Murakami T, Zhu M, Shima K. Changes in islet capillary angioarchitecture coincide with impaired B-cell function but not with insulin resistance in male Otsuka-Long-Evans-Tokushima fatty rats: Dimorphism of the diabetic phenotype at an advanced age. *Metabolism.* 1 avr 1999;48(4):477-83.

180. Nakamura M, Kitamura H, Konishi S, Nishimura M, Ono J, Ina K, et al. The endocrine pancreas of spontaneously diabetic db/db mice: microangiopathy as revealed by

- transmission electron microscopy. *Diabetes Res Clin Pract.* nov 1995;30(2):89-100.
181. Homo-Delarche F, Calderari S, Irminger J-C, Gangnerau M-N, Coulaud J, Rickenbach K, et al. Islet Inflammation and Fibrosis in a Spontaneous Model of Type 2 Diabetes, the GK Rat. *Diabetes.* 1 juin 2006;55(6):1625-33.
182. Lacraz G, Giroix M-H, Kassis N, Coulaud J, Galinier A, Noll C, et al. Islet endothelial activation and oxidative stress gene expression is reduced by IL-1Ra treatment in the type 2 diabetic GK rat. *PLoS One.* 9 sept 2009;4(9):e6963.
183. Hayden MR, Karuparthi PR, Habibi J, Lastra G, Patel K, Wasekar C, et al. Ultrastructure of islet microcirculation, pericytes and the islet exocrine interface in the HIP rat model of diabetes. *Exp Biol Med (Maywood).* sept 2008;233(9):1109-23.
184. Nakamura M, Hamaguchi K, Ono J, Takaki R, Kitamura H, Nakamura H, et al. The endocrine pancreas of alloxan-diabetic rats: microangiopathy as revealed by electron microscopy. *Diabetes Res Clin Pract.* 18 sept 1989;7(3):169-79.
185. Mateus Gonçalves L, Pereira E, Werneck de Castro JP, Bernal-Mizrachi E, Almaça J. Islet pericytes convert into profibrotic myofibroblasts in a mouse model of islet vascular fibrosis. *Diabetologia.* août 2020;63(8):1564-75.
186. Calderari S, Chougnet C, Clemessy M, Kempf H, Corvol P, Larger E. Angiopoietin 2 alters pancreatic vascularization in diabetic conditions. *PLoS ONE.* 2012;7(1):e29438.
187. Hogan MF, Liu AW, Peters MJ, Willard JR, Rabbani Z, Bartholomew EC, et al. Markers of Islet Endothelial Dysfunction Occur in Male B6.BKS(D)-Leprdb/J Mice and May Contribute to Reduced Insulin Release. *Endocrinology.* 1 févr 2017;158(2):293-303.
188. Puri S, Akiyama H, Hebrok M. VHL-mediated disruption of Sox9 activity compromises β -cell identity and results in diabetes mellitus. *Genes Dev.* 1 déc 2013;27(23):2563-75.
189. Shao J, Iwashita N, Ikeda F, Ogihara T, Uchida T, Shimizu T, et al. Beneficial effects of candesartan, an angiotensin II type 1 receptor blocker, on beta-cell function and morphology in db/db mice. *Biochem Biophys Res Commun.* 16 juin 2006;344(4):1224-33.
190. Tikellis C, Wookey PJ, Candido R, Andrikopoulos S, Thomas MC, Cooper ME. Improved islet morphology after blockade of the renin- angiotensin system in the ZDF rat. *Diabetes.* avr 2004;53(4):989-97.
191. Dong YF, Liu L, Kataoka K, Nakamura T, Fukuda M, Tokutomi Y, et al. Aliskiren prevents cardiovascular complications and pancreatic injury in a mouse model of obesity and type 2 diabetes. *Diabetologia.* janv 2010;53(1):180-91.
192. Lazarus SS, Volk BW. Pancreas in maturity-onset diabetes. Pathogenetic considerations. *Arch Pathol.* janv 1961;71:44-59.
193. Pollak OJ. Human pancreatic atherosclerosis. *Ann N Y Acad Sci.* 21 nov 1968;149(2):928-39.
194. Stumpf HH. Microatheromas of very small arteries: unusual lesions involving primarily the pancreas. *Hum Pathol.* déc 1983;14(12):1039-43.
195. Funk HU. Veränderungen an Pankreaskapillaren bei Diabetikern. *Diabetologia.* 1 avr 1966;1(3-4):228-32.
196. Berns AW, Owens CT, Blumenthal HT. A HISTO- AND IMMUNOPATHOLOGIC STUDY OF THE VESSELS AND ISLETS OF LANGERHANS OF THE PANCREAS IN DIABETES MELLITUS. *J Gerontol.* avr 1964;19:179-89.
197. Gepts W. Pathologic Anatomy of the Pancreas in Juvenile Diabetes Mellitus. *Diabetes.* 1 oct 1965;14(10):619-33.
198. Kauppila LI, Hekali P, Penttilä A. Postmortem pancreatic angiography in 45 subjects with non-insulin-dependent diabetes mellitus and 51 controls. *Pancreas.* janv 1998;16(1):60-5.
199. Canzano JS, Nasif LH, Butterworth EA, Fu DA, Atkinson MA, Campbell-Thompson M. Islet Microvasculature Alterations With Loss of Beta-cells in Patients With Type 1

- Diabetes. *J Histochem Cytochem.* 1 mai 2018;22155418778546.
200. Brissova M, Fowler M, Wiebe P, Shostak A, Shiota M, Radhika A, et al. Intraislet endothelial cells contribute to revascularization of transplanted pancreatic islets. *Diabetes.* mai 2004;53(5):1318-25.
201. Shah P, Lueschen N, Ardestani A, Oberholzer J, Olerud J, Carlsson P-O, et al. Angiopoetin-2 Signals Do Not Mediate the Hypervascularization of Islets in Type 2 Diabetes. *PLoS ONE.* 2016;11(9):e0161834.
202. Jansson L, Hellerström C. Stimulation by glucose of the blood flow to the pancreatic islets of the rat. *Diabetologia.* juill 1983;25(1):45-50.
203. Jansson L, Andersson A, Bodin B, Källskog O. Pancreatic islet blood flow during euglycaemic, hyperinsulinaemic clamp in anaesthetized rats. *Acta Physiol (Oxf).* avr 2007;189(4):319-24.
204. Carlsson P-O, Olsson R, Källskog O, Bodin B, Andersson A, Jansson L. Glucose-induced islet blood flow increase in rats: interaction between nervous and metabolic mediators. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* sept 2002;283(3):E457-464.
205. Clair JRS, Ramirez D, Passman S, Benninger RKP. Contrast-enhanced ultrasound measurement of pancreatic blood flow dynamics predicts type 1 diabetes progression in preclinical models. *Nature Communications.* 1 mai 2018;9(1):1742.
206. Nyman LR, Ford E, Powers AC, Piston DW. Glucose-dependent blood flow dynamics in murine pancreatic islets in vivo. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* avr 2010;298(4):E807-814.
207. Wu L, Oilverling A, Huang Z, Jansson L, Chao H, Gao X, et al. GLP-1, exendin-4 and C-peptide regulate pancreatic islet microcirculation, insulin secretion and glucose tolerance in rats. *Clin Sci.* avr 2012;122(8):375-84.
208. Espes D, Manell E, Rydén A, Carlbom L, Weis J, Jensen-Waern M, et al. Pancreatic perfusion and its response to glucose as measured by simultaneous PET/MRI. *Acta Diabetol.* 1 oct 2019;56(10):1113-20.
209. Honka H, Hannukainen JC, Tarkia M, Karlsson H, Saunavaara V, Salminen P, et al. Pancreatic metabolism, blood flow, and β -cell function in obese humans. *J Clin Endocrinol Metab.* juin 2014;99(6):E981-990.
210. Koffert J, Honka H, Teuho J, Kauhanen S, Hurme S, Parkkola R, et al. Effects of meal and incretins in the regulation of splanchnic blood flow. *Endocr Connect.* 3 mars 2017;6(3):179-87.
211. Tsushima Y, Miyazaki M, Taketomi-Takahashi A, Endo K. Feasibility of measuring human pancreatic perfusion in vivo using imaging techniques. *Pancreas.* juill 2011;40(5):747-52.
212. Naish JH, Hutchinson CE, Caunce A, Roberts C, Waterton JC, Hockings PD, et al. Multiple-bolus dynamic contrast-enhanced MRI in the pancreas during a glucose challenge. *J Magn Reson Imaging.* sept 2010;32(3):622-8.
213. Virostko J. Quantitative Magnetic Resonance Imaging of the Pancreas of Individuals With Diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne).* 4 déc 2020;11:592349.
214. Schraml C, Schwenzer NF, Martirosian P, Claussen CD, Schick F. Perfusion imaging of the pancreas using an arterial spin labeling technique. *J Magn Reson Imaging.* déc 2008;28(6):1459-65.
215. Cox EF, Smith JK, Chowdhury AH, Lobo DN, Francis ST, Simpson J. Temporal assessment of pancreatic blood flow and perfusion following secretin stimulation using noninvasive MRI. *J Magn Reson Imaging.* nov 2015;42(5):1233-40.
216. Taso M, Guidon A, Zhao L, Mortelet KJ, Alsop DC. Pancreatic perfusion and arterial-transit-time quantification using pseudocontinuous arterial spin labeling at 3T. *Magn Reson Med.* 2019;81(1):542-50.

217. Engjom T, Nylund K, Erchinger F, Stangeland M, Lærum BN, Mézl M, et al. Contrast-enhanced ultrasonography of the pancreas shows impaired perfusion in pancreas insufficient cystic fibrosis patients. *BMC Med Imaging*. 15 2018;18(1):14.
218. Honka H, Koffert J, Kauhanen S, Teuho J, Hurme S, Mari A, et al. Bariatric Surgery Enhances Splanchnic Vascular Responses in Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 2017;66(4):880-5.
219. Taso M, Papadopoulou F, Smith MP, Tsai LL, Mortelet KJ, Alsop DC. Pancreatic perfusion modulation following glucose stimulation assessed by noninvasive arterial spin labeling (ASL) MRI. *J Magn Reson Imaging*. mars 2020;51(3):854-60.
220. Chen B, Chen W, Chan Q, Zhou N, He J, Zhou Z. Functional MRI of human pancreas using BOLD contrast: Responses following glucose ingestion. *J Magn Reson Imaging*. sept 2017;46(3):831-6.
221. Carlbom L, Espes D, Lubberink M, Eriksson O, Johansson L, Jansson L, et al. Pancreatic perfusion and subsequent response to glucose in healthy individuals and patients with type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2016;59(9):1968-72.
222. Nalin L, Selvaraju RK, Velikyan I, Berglund M, Andréasson S, Wikstrand A, et al. Positron emission tomography imaging of the glucagon-like peptide-1 receptor in healthy and streptozotocin-induced diabetic pigs. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. sept 2014;41(9):1800-10.
223. Medina A, Parween S, Ullsten S, Vishnu N, Siu YT, Quach M, et al. Early deficits in insulin secretion, beta cell mass and islet blood perfusion precede onset of autoimmune type 1 diabetes in BioBreeding rats. *Diabetologia*. 2018;61(4):896-905.
224. Svensson AM, Abdel-Halim SM, Efendic S, Jansson L, Ostenson CG. Pancreatic and islet blood flow in F1-hybrids of the non-insulin-dependent diabetic GK-Wistar rat. *Eur J Endocrinol*. juin 1994;130(6):612-6.
225. Hirshberg B, Qiu M, Cali AMG, Sherwin R, Constable T, Calle RA, et al. Pancreatic perfusion of healthy individuals and type 1 diabetic patients as assessed by magnetic resonance perfusion imaging. *Diabetologia*. août 2009;52(8):1561-5.
226. Yu C-W, Shih TT-F, Hsu C-Y, Lin L-C, Wei S-Y, Lee C-M, et al. Correlation between pancreatic microcirculation and type 2 diabetes in patients with coronary artery disease: dynamic contrast-enhanced MR imaging. *Radiology*. sept 2009;252(3):704-11.
227. Alexandre-Heymann L, Barral M, Dohan A, Langer E. Patients with type 2 diabetes present with multiple anomalies of the pancreatic arterial tree on abdominal computed tomography: comparison between patients with type 2 diabetes and a matched control group. *Cardiovasc Diabetol*. 5 août 2020;19(1):122.
228. Chintinne M, Stangé G, Denys B, Ling Z, In 't Veld P, Pipeleers D. Beta Cell Count Instead of Beta Cell Mass to Assess and Localize Growth in Beta Cell Population following Pancreatic Duct Ligation in Mice. *PLoS One* [Internet]. 30 août 2012 [cité 9 juin 2020];7(8). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3431350/>
229. Téllez N, Montanya E. Determining Beta Cell Mass, Apoptosis, Proliferation, and Individual Beta Cell Size in Pancreatic Sections. *Methods Mol Biol*. 2020;2128:313-37.
230. Duvillié B, Attali M, Aiello V, Quemeneur E, Scharfmann R. Label-Retaining Cells in the Rat Pancreas: Location and Differentiation Potential in Vitro. *Diabetes*. 1 août 2003;52(8):2035-42.
231. Tanaka T, Ichiba Y, Fujii Y, Itoh H, Kodama O, Dohi K. New canine model of chronic pancreatitis due to chronic ischemia with incomplete pancreatic duct obstruction. *Digestion*. 1988;41(3):149-55.
232. Uchida T, Tsuchiya R, Harada N, Tsunoda T, Yamaguchi T, Eto T, et al. Ischemic changes in the pancreas of Watanabe heritable hyper-lipidemic (WHHL) rabbits. *Int J Pancreatol*. mai 1988;3(4):261-71.
233. Holland AM, Góñez LJ, Naselli G, Macdonald RJ, Harrison LC. Conditional

- expression demonstrates the role of the homeodomain transcription factor Pdx1 in maintenance and regeneration of beta-cells in the adult pancreas. *Diabetes*. sept 2005;54(9):2586-95.
234. Kritzik MR, Jones E, Chen Z, Krakowski M, Krahl T, Good A, et al. PDX-1 and Msx-2 expression in the regenerating and developing pancreas. *J Endocrinol*. déc 1999;163(3):523-30.
235. Rankin MM, Kushner JA. Adaptive beta-cell proliferation is severely restricted with advanced age. *Diabetes*. juin 2009;58(6):1365-72.
236. Watanabe H, Saito H, Rychahou PG, Uchida T, Evers BM. Aging is associated with decreased pancreatic acinar cell regeneration and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt activation. *Gastroenterology*. mai 2005;128(5):1391-404.
237. Tschen S-I, Dhawan S, Gurlo T, Bhushan A. Age-dependent decline in beta-cell proliferation restricts the capacity of beta-cell regeneration in mice. *Diabetes*. juin 2009;58(6):1312-20.
238. Menge BA, Tannapfel A, Belyaev O, Drescher R, Müller C, Uhl W, et al. Partial pancreatectomy in adult humans does not provoke beta-cell regeneration. *Diabetes*. janv 2008;57(1):142-9.
239. Smeets S, Stangé G, Leuckx G, Roelants L, Cools W, De Paep DL, et al. Evidence of Tissue Repair in Human Donor Pancreas After Prolonged Duration of Stay in Intensive Care. *Diabetes*. 16 déc 2019;
240. Zhou Q, Melton DA. Pancreas regeneration. *Nature*. mai 2018;557(7705):351-8.
241. Dor Y, Brown J, Martinez OI, Melton DA. Adult pancreatic beta-cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation. *Nature*. 6 mai 2004;429(6987):41-6.
242. Thorel F, Népote V, Avril I, Kohno K, Desgraz R, Chera S, et al. Conversion of adult pancreatic alpha-cells to beta-cells after extreme beta-cell loss. *Nature*. 22 avr 2010;464(7292):1149-54.
243. Xu X, D'Hoker J, Stangé G, Bonnè S, De Leu N, Xiao X, et al. Beta cells can be generated from endogenous progenitors in injured adult mouse pancreas. *Cell*. 25 janv 2008;132(2):197-207.
244. Aguayo-Mazzucato C, Bonner-Weir S. Pancreatic β Cell Regeneration as a Possible Therapy for Diabetes. *Cell Metabolism*. 9 janv 2018;27(1):57-67.
245. King AJ. The use of animal models in diabetes research. *Br J Pharmacol*. juin 2012;166(3):877-94.
246. Leahy JL, Bonner-Weir S, Weir GC. Minimal chronic hyperglycemia is a critical determinant of impaired insulin secretion after an incomplete pancreatectomy. *J Clin Invest*. mai 1988;81(5):1407-14.
247. Bonner-Weir S, Trent DF, Weir GC. Partial pancreatectomy in the rat and subsequent defect in glucose-induced insulin release. *J Clin Invest*. juin 1983;71(6):1544-53.
248. Wang RN, Klöppel G, Bouwens L. Duct- to islet-cell differentiation and islet growth in the pancreas of duct-ligated adult rats. *Diabetologia*. déc 1995;38(12):1405-11.
249. Nir T, Melton DA, Dor Y. Recovery from diabetes in mice by beta cell regeneration. *J Clin Invest*. sept 2007;117(9):2553-61.
250. Klinke DJ. Extent of beta cell destruction is important but insufficient to predict the onset of type 1 diabetes mellitus. *PLoS One*. 2 janv 2008;3(1):e1374.
251. Murtaugh LC, Keefe MD. Regeneration and repair of the exocrine pancreas. *Annu Rev Physiol*. 2015;77:229-49.
252. Desai BM, Oliver-Krasinski J, De Leon DD, Farzad C, Hong N, Leach SD, et al. Preexisting pancreatic acinar cells contribute to acinar cell, but not islet beta cell, regeneration. *J Clin Invest*. avr 2007;117(4):971-7.
253. Blaine SA, Ray KC, Anunobi R, Gannon MA, Washington MK, Means AL. Adult

- pancreatic acinar cells give rise to ducts but not endocrine cells in response to growth factor signaling. *Development*. juill 2010;137(14):2289-96.
254. Bockman DE. Morphology of the exocrine pancreas related to pancreatitis. *Microsc Res Tech*. 1 juin 1997;37(5-6):509-19.
255. Zimmermann A, Gloor B, Kappeler A, Uhl W, Friess H, Büchler MW. Pancreatic stellate cells contribute to regeneration early after acute necrotising pancreatitis in humans. *Gut*. oct 2002;51(4):574-8.
256. Miralles F, Hebrard S, Lamotte L, Durel B, Gilgenkrantz H, Li Z, et al. Conditional inactivation of the murine serum response factor in the pancreas leads to severe pancreatitis. *Lab Invest*. oct 2006;86(10):1020-36.
257. Bonal C, Thorel F, Ait-Lounis A, Reith W, Trumpp A, Herrera PL. Pancreatic inactivation of c-Myc decreases acinar mass and transdifferentiates acinar cells into adipocytes in mice. *Gastroenterology*. janv 2009;136(1):309-319.e9.
258. Quesada R, Andaluz A, Cáceres M, Moll X, Iglesias M, Dorcaratto D, et al. Long-term evolution of acinar-to-ductal metaplasia and β -cell mass after radiofrequency-assisted transection of the pancreas in a controlled large animal model. *Pancreatol*. févr 2016;16(1):38-43.
259. Weaver C, Sorenson RL, Kaung HL. An immunohistochemical, ultrastructural, and physiologic study of pancreatic islets from copper-deficient, penicillamine-treated rats. *Diabetes*. janv 1986;35(1):13-9.
260. Augereau C, Collet L, Vargiu P, Guerra C, Ortega S, Lemaigre FP, et al. Chronic pancreatitis and lipomatosis are associated with defective function of ciliary genes in pancreatic ductal cells. *Hum Mol Genet*. 15 nov 2016;25(22):5017-26.
261. Loubat-Casanovas J, Peña R, González N, Alba-Castellón L, Rosell S, Francí C, et al. *Snail1* is required for the maintenance of the pancreatic acinar phenotype. *Oncotarget*. 26 janv 2016;7(4):4468-82.
262. Cano DA, Sekine S, Hebrok M. Primary cilia deletion in pancreatic epithelial cells results in cyst formation and pancreatitis. *Gastroenterology*. déc 2006;131(6):1856-69.
263. Turlakis ME, Zhong J, Gandhi R, Zhang S, Chen L, Durie PR, et al. Deficiency of *Sbds* in the Mouse Pancreas Leads to Features of Shwachman–Diamond Syndrome, With Loss of Zymogen Granules. *Gastroenterology*. 1 août 2012;143(2):481-92.
264. Shen H-CJ, Adem A, Ylaya K, Wilson A, He M, Lorang D, et al. Deciphering von Hippel-Lindau (VHL/Vhl)-Associated Pancreatic Manifestations by Inactivating *Vhl* in Specific Pancreatic Cell Populations. *PLoS One* [Internet]. 2 avr 2009 [cité 11 juin 2020];4(4). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2660574/>
265. Martinelli P, Cañamero M, del Pozo N, Madriles F, Zapata A, Real FX. *Gata6* is required for complete acinar differentiation and maintenance of the exocrine pancreas in adult mice. *Gut*. oct 2013;62(10):1481-8.
266. Lancereaux E (1829-1910) A du texte. *Traité des maladies du foie et du pancréas*, par É. Lancereaux,... [Internet]. 1899 [cité 30 sept 2021]. Disponible sur: <https://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k56528785>
267. Olsen TS. Lipomatosis of the pancreas in autopsy material and its relation to age and overweight. *Acta Pathol Microbiol Scand A*. sept 1978;86A(5):367-73.
268. Soyer P, Spelle L, Pelage JP, Dufresne AC, Rondeau Y, Gouhiri M, et al. Cystic fibrosis in adolescents and adults: fatty replacement of the pancreas--CT evaluation and functional correlation. *Radiology*. mars 1999;210(3):611-5.
269. Robberecht E, Nachtegaele P, Van Rattinche R, Afschrift M, Kunnen M, Verhaaren R. Pancreatic lipomatosis in the Shwachman-Diamond syndrome. Identification by sonography and CT-scan. *Pediatr Radiol*. 1985;15(5):348-9.
270. Klöppel G, Maillet B. Chronic pancreatitis: evolution of the disease.

- Hepatogastroenterology. oct 1991;38(5):408-12.
271. Yang W, Gao J, Tai Y, Chen M, Huang L, Wen S, et al. Betaine Attenuates Alcohol-Induced Pancreatic Steatosis. *Pancreas*. juill 2016;45(6):836-45.
272. Targher G, Rossi AP, Zamboni GA, Fantin F, Antonioli A, Corzato F, et al. Pancreatic fat accumulation and its relationship with liver fat content and other fat depots in obese individuals. *J Endocrinol Invest*. sept 2012;35(8):748-53.
273. Pacifico L, Di Martino M, Anania C, Andreoli GM, Bezzi M, Catalano C, et al. Pancreatic fat and β -cell function in overweight/obese children with nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 21 avr 2015;21(15):4688-95.
274. Catanzaro R, Cuffari B, Italia A, Marotta F. Exploring the metabolic syndrome: Nonalcoholic fatty pancreas disease. *World J Gastroenterol*. 14 sept 2016;22(34):7660-75.
275. Filippatos TD, Alexakis K, Mavrikaki V, Mikhailidis DP. Nonalcoholic Fatty Pancreas Disease: Role in Metabolic Syndrome, « Prediabetes, » Diabetes and Atherosclerosis. *Dig Dis Sci*. 19 janv 2021;
276. Gerst F, Wagner R, Oquendo MB, Siegel-Axel D, Fritsche A, Heni M, et al. What role do fat cells play in pancreatic tissue? *Mol Metab*. 2019;25:1-10.
277. Chen C-Y, Tsai Y-L, Kao C-L, Lee S-D, Wu M-C, Mallikarjuna K, et al. Effect of mild intermittent hypoxia on glucose tolerance, muscle morphology and AMPK-PGC-1 α signaling. *Chin J Physiol*. 28 févr 2010;53(1):62-71.
278. Sherwani SI, Aldana C, Usmani S, Adin C, Kotha S, Khan M, et al. Intermittent hypoxia exacerbates pancreatic β -cell dysfunction in a mouse model of diabetes mellitus. *Sleep*. 1 déc 2013;36(12):1849-58.
279. Wang Y, Hai B, Niu X, Ai L, Cao Y, Li R, et al. Chronic intermittent hypoxia disturbs insulin secretion and causes pancreatic injury via the MAPK signaling pathway. *Biochem Cell Biol*. 2017;95(3):415-20.
280. Sauter NS, Thienel C, Plutino Y, Kampe K, Dror E, Traub S, et al. Angiotensin II induces interleukin-1 β -mediated islet inflammation and β -cell dysfunction independently of vasoconstrictive effects. *Diabetes*. avr 2015;64(4):1273-83.
281. Li J, Wang Q, Chai W, Chen M-H, Liu Z, Shi W. Hyperglycemia in apolipoprotein E-deficient mouse strains with different atherosclerosis susceptibility. *Cardiovasc Diabetol*. 2011;10:117.
282. Mohan K, Miller H, Burhan H, Ledson MJ, Walshaw MJ. Management of cystic fibrosis related diabetes: a survey of UK cystic fibrosis centers. *Pediatr Pulmonol*. juill 2008;43(7):642-7.
283. Jin CX, Naruse S, Kitagawa M, Ishiguro H, Kondo T, Hayakawa S, et al. Pancreatic stone protein of pancreatic calculi in chronic calcified pancreatitis in man. *JOP*. mars 2002;3(2):54-61.
284. Martínez-Ceron E, Fernández-Navarro I, Garcia-Rio F. Effects of continuous positive airway pressure treatment on glucose metabolism in patients with obstructive sleep apnea. *Sleep Med Rev*. févr 2016;25:121-30.
285. Muraki I, Wada H, Tanigawa T. Sleep apnea and type 2 diabetes. *J Diabetes Investig*. sept 2018;9(5):991-7.
286. Dal Molin M, Brant A, Blackford AL, Griffin JF, Shindo K, Barkley T, et al. Obstructive Sleep Apnea and Pathological Characteristics of Resected Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *PLoS One*. 2016;11(10):e0164195.

Table des illustrations

- Figure 1** Administration simultanée de glucose et d'insuline. p.12
- Figure 2** Coupe de pancréas humain, coloration hématoxyline-éosine. p.14
- Figure 3** Résumé des mécanismes d'insulinorésistance. p.17
- Figure 4** Progression du diabète de type 1. p.19
- Figure 5** Prévalence du diabète chez des témoins et chez des patients présentant différents types de cancers. p.25
- Figure 6** Facteurs contribuant à l'IPE dans le diabète. p.50
- Figure 7** Vascularisation du pancréas. p.52
- Figure 8** Reconstruction 3D de la vascularisation d'un îlot de Langerhans de souris. p.52
- Figure 9** Différentes représentations de la vascularisation insulaire. p.53
- Figure 10** Risque relatif de développer un diabète chez les patients sous ramipril versus placebo. p.58
- Figure 11** Mécanismes pouvant expliquer la prévention du diabète par les traitements du système rénine-angiotensine (SRA). p.60
- Figure 12** Photographies au microscope électronique du réseau capillaire insulaire. p.61
- Figure 13** Vaisseaux insulaires chez des donneurs témoins ou avec DT1. p.65
- Figure 14** Ligature de l'artère splénique. p.103
- Tableau 1** Variation de poids des souris. p. 109
- Figure 15** Coupes de pancréas entiers à J21. p.110
- Figure 16** Marquage au pimonidazole p. 111
- Figure 17** IPGTT p.112
- Figure 18** Médiane des rapports de surface des cellules bêta / surface du pancréas entier en pourcent. p.113
- Figure 19** Comarquage insuline / PDX1. p. 114
- Figure 20** Marquage CD31. p. 114
- Figure 21** Involution graisseuse. p. 116
- Tableau 2** Résumé des observations histologiques sur les pancréas de souris « ischémie » et « sham » à J7, J21 et J42. p.117