



HAL
open science

Effets multiples des statines : développement du diabète et activité antitumorale

Benoit Torris

► **To cite this version:**

Benoit Torris. Effets multiples des statines : développement du diabète et activité antitumorale. Sciences pharmaceutiques. 2015. dumas-01202633

HAL Id: dumas-01202633

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01202633v1>

Submitted on 21 Sep 2015

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 BORDEAUX
U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

Année : 2015

N°105

Thèse pour l'obtention du
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Le 3 septembre 2015

Par **BENOIT TORRIS**

Né le 18 janvier 1990 à Pau (Pyrénées-Atlantiques)

**EFFETS MULTIPLES DES STATINES : DÉVELOPPEMENT DU DIABÈTE ET
ACTIVITÉ ANTITUMORALE**

Directeur de thèse
Mme Le Docteur V. MICHEL

Jury

M. Le Professeur B. MULLER	Professeur	Président
M. Le Docteur C. BULOT	PRAG	Membre du jury
M. Le Docteur P. BATS	Docteur en pharmacie	Membre du jury

REMERCIEMENTS

À Monsieur le Professeur Bernard MULLER

Pour m'avoir fait l'honneur de présider mon jury de thèse.

Veillez recevoir ici toute ma reconnaissance.

À Madame le Docteur Véronique MICHEL

Pour avoir accepté de me superviser et pour m'avoir encouragé dans la rédaction de cette thèse. Pour avoir été disponible tout au long de cette rédaction.

À Monsieur le Professeur Agrégé Christophe BULOT

Pour m'avoir fait l'honneur de juger mon travail.

Veillez recevoir le témoignage de mon profond respect.

À Monsieur le Docteur Patrick BATS

Pour m'avoir accueilli et formé pendant mes six mois de stage et pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de faire partie de mon jury.

À mes parents

Pour leur soutien sans faille et leur patience tout au long de ces années.

Merci pour tout ce que vous avez fait.

À Marie-Laure et Mathieu

Pour votre soutien, vos « trucs et astuces » pour que mes années de faculté se passent bien au niveau du travail ou en dehors.

À Aziz, Benjamin, Nicolas et Benoît

Pour m'avoir supporté dans ces moments de stress et surtout pour toute votre aide visant à combler mes lacunes technologiques.

Aux copains de Bizanos, Alexis, Nico, Gaby, Pauline, Axel, Mika, Antho, Thibaut

Pour vos discours de motivation assez particuliers! Nous ne sommes plus dans la même ville, mais on aura toujours un coin de comptoir à Bizanos pour se retrouver.

À Maule, Maëlys, Amandine, Alex, PV, David, Johann

Pour ces quelques années passées en votre compagnie et qui ne s'arrêteront pas là j'espère.

A M. CHANSEAU, Nadia, Marjorie et Alicia

Travailler avec vous est un vrai plaisir jour après jour !

À toute l'équipe de la pharmacie BATS

Travailler avec vous dans la bonne humeur pendant mon stage me laisse plein de bons souvenirs.

À M. GELIZE et à toute son équipe,

Pour m'avoir accueilli ces quelques étés où je n'étais encore qu'un tout petit étudiant. Je suis à Bordeaux, mais ne vous inquiétez pas, je n'oublierai jamais que je suis Béarnais.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX	3
LISTE DES SCHEMAS	4
LISTE DES FIGURES	5
LISTE DES ABREVIATIONS	8
PARTIE 1 : PRESENTATION DES STATINES	13
A. Pharmacodynamie	14
B. Pharmacocinétique	14
C. Efficacité des statines en prévention d'évènements cardiovasculaires	15
PARTIE 2 : STATINES ET INCIDENCE DU DIABETE DE TYPE 2	17
A. Diabète et critères de diagnostic	18
1) Mécanisme de sécrétion de l'insuline et de son effet	18
B. Analyse de l'essai JUPITER	22
1) Présentation de l'essai jupiter	22
2) Ridker et al 2012	23
C. Etude de cas	24
1) Mai 2002	24
2) Juin 2002	24
3) Octobre 2002	24
4) Novembre 2002	25
5) Janvier 2003	25
6) Arrêt de la pravastatine	25
7) Conclusion de ce cas	25
D. Etudes	26
1) Effet diabétogène des statines	26
2) Impact des différentes statines et des doses utilisées	38
E. Mécanismes potentiels de l'effet diabétogène des statines	51
1) Canaux calciques voltage-dépendants dans les cellules β	52
2) Isoprénoides, glut-4, maturation d'adipocytes	58
3) Adiponectine et leptine	72
4) Autres effets	72

F.	Résumé	73
1)	Mécanisme d'action.....	73
2)	Effet sur la population.....	75
3)	Prescription de statines chez une personne à risque	77
G.	Alertes	80
PARTIE 3 : STATINES ET CANCER		81
A.	Cancer de la prostate	82
1)	Définition et diagnostic	82
2)	Etudes sur les statines et le cancer de la prostate	83
3)	Conclusion.....	94
B.	Cancer colorectal.....	94
1)	Définition et diagnostic	94
2)	Etudes sur les statines et le cancer colorectal.....	96
3)	Conclusion.....	100
C.	Cancer du sein	100
1)	Définition et diagnostic	100
2)	Etudes sur les statines et le cancer du sein	101
D.	Conclusion.....	106
E.	Mécanisme d'action anticancéreux des statines	106
1)	Rappel sur le rôle du métabolisme de l'acide mévalonique dans les cancers	106
2)	Apoptose	107
3)	Angiogénèse	134
4)	Invasion tumorale et arrêt de la croissance cellulaire.....	146
H.	Résumé des effets antitumoraux des statines	159

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Profil pharmacocinétique des statines.	15
Tableau 2. Récapitulatif des résultats de l'analyse de l'essai JUPITER.	23
Tableau 3. Risque de nouveau diabète et diminution du risque cardiovasculaire en fonction de la dose de statine et de la durée de prescription.	33
Tableau 4. Incidence de diabète et évènements cardiovasculaires en fonction du schéma de prescription des statines.	33
Tableau 5. Risque relatif de développement de diabète et d'évènements cardiovasculaires après ajustement des variables individuelles.	33
Tableau 6. Répartition des groupes par Currie et al.	36
Tableau 7. Risque de développement de diabète selon les statines.	40
Tableau 8. Classification des statines par puissance.	41
Tableau 9. Classification des statines par doses.	41
Tableau 10. Incidence de diabète chez les utilisateurs de statines selon la statine et la dose utilisée.	42
Tableau 11. Classement des doses par statine.	43
Tableau 12. Caractéristiques des patients.	47
Tableau 13. Caractéristiques des patients.	49
Tableau 14. Différences statistiquement significatives en comparaison avec le groupe placebo après deux mois de traitement.	49
Tableau 15. Résumé des caractéristiques des patients à l'entrée de l'étude.	50
Tableau 16. L'HR ajusté pour l'association entre l'utilisation de statines après le diagnostic et risque de mortalité du cancer de la prostate.	87
Tableau 17. Effet de l'utilisation des statines sur la mortalité avant et après diagnostic.	88
Tableau 18. Caractéristiques des 1681 patients et de leur traitement.	90
Tableau 19. Taux de PRFS à 5 et 8 ans.	90
Tableau 20. Effet de l'utilisation des statines sur la survie globale et la survie spécifique au cancer comparativement aux patients ne prenant pas de statines.	97
Tableau 21. Principales caractéristiques des patients inclus dans l'analyse.	98
Tableau 22. Mortalité spécifique par cancer du sein chez les utilisateurs pré et post diagnostiques de statines.	102
Tableau 23. Effets de l'association de lovastatine et de 5-FU ou cisplatine sur l'apoptose des différentes lignées cellulaires.	112
Tableau 24. Effets de la simvastatine sur l'apoptose des cellules HepG2 et Huh7.	130

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 1. Sécrétion de l'insuline dans les cellules β du pancréas.....	19
Schéma 2. Action de la fixation de l'insuline sur son récepteur dans les hépatocytes.	21
Schéma 3. Effet de la simvastatine dans la cellule β du pancréas.	57
Schéma 4. Représentation schématique de l'inhibition par l'atorvastatine de la voie de signalisation de l'insuline dans les adipocytes 3T3-L1.	65
Schéma 5. Résumé de l'effet des statines sur la sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas.....	74
Schéma 6. Résumé de l'effet des statines menant à l'insulinorésistance.....	75
Schéma 7. Les stades du cancer colorectal..	96
Schéma 8. Voie d'activation de l'apoptose.	107
Schéma 9. Le cycle cellulaire.	128
Schéma 10. Action des statines sur le cycle cellulaire.	133
Schéma 11. Action des statines sur l'apoptose.	134
Schéma 12. Principales étapes de l'angiogénèse.	135
Schéma 13. Action des statines à faibles dose sur les cellules endothéliales.....	146
Schéma 14. Migration cellulaire.....	147
Schéma 15. Action des statines sur la migration cellulaire.....	153
Schéma 16. Action du TNF- α sur la sélectine-E.....	155
Schéma 17. Effet des statines sur la sélectine-E.....	158

LISTE DES FIGURES

Figure 1. La simvastatine, mais pas la pravastatine, inhibe la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose dans les îlots de Langerhans du pancréas de rat.	53
Figure 2. Influx calcique induit par le glucose et inhibition de cet influx par la simvastatine dans les cellules β isolées.	54
Figure 3. La pravastatine n'inhibe pas l'augmentation de la concentration intracellulaire de calcium ($[Ca^{2+}]_i$) dans les cellules β du pancréas de rat.	55
Figure 4. La simvastatine inhibe le courant calcique dans les cellules β du pancréas de rat.	56
Figure 5. Effets de la pravastatine et de l'atorvastatine sur la capture du glucose après exposition des adipocytes 3T3-L1 à de l'insuline.....	59
Figure 6. Effets de la pravastatine et de l'atorvastatine sur l'expression de GLUT-4 au niveau de la membrane plasmique après exposition des adipocytes 3T3-L1 à de l'insuline.....	60
Figure 7. Effets de l'atorvastatine sur la distribution cellulaire de Rab4 en présence d'insuline.....	61
Figure 8. Effets de l'atorvastatine sur la distribution cellulaire de RhoA en présence d'insuline.....	62
Figure 9. Effets de la pravastatine et de l'atorvastatine sur la phosphorylation d'IRS-1 induite par l'insuline.	62
Figure 10. Effets de la pravastatine et de l'atorvastatine sur la phosphorylation de la serine et la thréonine d'Akt dans une fraction membranaire induite par l'insuline. ...	63
Figure 11. Effets du traitement d'atorvastatine, simvastatine ou pravastatine aux jours 3 à 5 de culture des cellules 3T3-L1 sur la capture du glucose induite par l'insuline.....	67
Figure 12. Traitement par l'atorvastatine des cellules 3T3-L1 en cours de différenciation.	68
Figure 13. Effets du traitement par les statines sur la capture du glucose dans les adipocytes 3T3-L1 différenciés aux jours 8 à 10 de culture.....	69
Figure 14. Effets du traitement des adipocytes 3T3-L1 différenciés aux jours 8 à 10 de culture par 1 ng/ml d'atorvastatine 100 ng/ml de simvastatine ou 100 ng/ml de pravastatine	69
Figure 15. Effets du traitement par l'atorvastatine sur la glycémie chez la souris NSY.	70
Figure 16. Echelle FINDRISC (FINish Diabete Risk Score) servant à évaluer le risque de diabète sur les 10 années suivantes.	79
Figure 17. Probabilité de survie spécifique au cancer de la prostate selon l'utilisation de statines ou non.	85
Figure 18. Courbe de Kaplan-Meier montrant la survie des patients sans nouvelle élévation de PSA classés par utilisation de statine ou non chez les patients à haut risque.....	91

Figure 19. Association entre la diminution de la concentration de PSA et la diminution du taux LDL-cholestérol après la prise de statine.....	93
Figure 20. Le test log rank comparant la survie en année montre que les patients sous statines survivent plus longtemps que les patients n'en prenant pas.....	99
Figure 21. Organisation de l'essai avant opération.	104
Figure 22. Modification du taux de CC-3 (caspase 3 clivée) par grade de tumeur.	105
Figure 23. Fragmentation internucléosomique de l'ADN.	108
Figure 24. Analyse PCR de l'expression de Bax et Bcl-2.	109
Figure 25. Analyse PCR en temps réel des gènes Bax et Bcl-2.....	110
Figure 26. Analyse des protéines de l'apoptose.	110
Figure 27. Induction de l'apoptose dans les cellules cancéreuses du côlon.....	111
Figure 28. Le prétraitement par la lovastatine augmente l'apoptose induite par le 5-FU ou le cisplatine.	113
Figure 29. Le prétraitement par la lovastatine réduit la viabilité des cellules après traitement par le 5-FU ou le cisplatine.	114
Figure 30. Le GGPP mais pas le FPP empêche l'augmentation par la lovastatine de l'apoptose induite par le 5-FU ou le cisplatine.	115
Figure 31. Western blotting pour l'expression des protéines Bax et Bcl-2 dans les cellules traitées par la lovastatine.....	115
Figure 32. La simvastatine entraîne la migration de p53 du noyau vers la mitochondrie s'accompagnant de la migration de la protéine Bax vers la mitochondrie et du relargage de cytochrome c.	118
Figure 33. La lovastatine diminue les taux de la protéine survivine.....	119
Figure 34. La lovastatine diminue l'expression de l'ARNm de la survivine.	120
Figure 35. Effets des métabolites intermédiaires formés lors de la synthèse du cholestérol sur l'expression de la protéine survivine en présence de lovastatine. ...	121
Figure 36. La diminution du taux de la survivine implique l'inhibition de l'isoprénylation de Ras.	122
Figure 37. La lovastatine entraîne l'apoptose dans les cellules tumorales du cancer du sein.....	124
Figure 38. L'activation caspase-dépendante de l'apoptose est induite par la lovastatine dans les cellules cancéreuses du sein.	125
Figure 39. La lovastatine entraîne l'apoptose dans les cellules cancéreuses du sein.	126
Figure 40. L'apoptose induite par les statines est dépendante de la prénylation des protéines Ras et Rho.....	127
Figure 41. Effets de la simvastatine sur la croissance cellulaire.....	129
Figure 42. La simvastatine entraîne la mort cellulaire par apoptose dans les cellules HepG2 (A) et Huh7 (B).	130
Figure 43. Effet de la simvastatine sur le cycle cellulaire de HepG2 et Huh7.....	131
Figure 44. Effet de la simvastatine sur l'expression des protéines régulant le cycle cellulaire, CDK1, CDK2, CDK4, cyclines D1 et E, p19 et p 27 par Western blotting.	132

Figure 45. L'atorvastatine améliore de façon dose-dépendante la migration des cellules endothéliales.	136
Figure 46. Migration des cellules endothéliales après exposition à 1 μ M d'atorvastatine.	137
Figure 47. L'atorvastatine entraîne la formation de tube de façon dose-dépendante.	138
Figure 48. L'atorvastatine entraîne la phosphorylation d'Akt.	138
Figure 49. L'activation d'Akt par l'atorvastatine implique la petite protéine G Ras..	139
Figure 50. L'activation d'Akt par l'atorvastatine implique la petite protéine G Ras (suite).....	140
Figure 51. Effet des statines sur la prolifération des cellules endothéliales.	142
Figure 52. Effet biphasique des statines sur la migration des cellules endothéliales.	143
Figure 53. Effet biphasique des statines sur l'apoptose des cellules endothéliales.	144
Figure 54. Inhibition dose-dépendante de la prolifération des cellules MDA-MB-231 par la cérvastatine.	148
Figure 55. Effet de la cérvastatine sur l'expression de l'ARNm de p21 ^{Waf/Cip1} et du taux de protéines nucléaires dans les cellules MDA-MB-231.	149
Figure 56. Inhibition de l'invasion des cellules MDA-MB-231 par la cérvastatine. .	150
Figure 57. La cérvastatine décroît l'activité de NF κ B dans les cellules MDA-MB-231.	151
Figure 58. Effet de la cérvastatine sur la sécrétion de MMP-9 par les cellules MDA-MB-231.	152
Figure 59. Les protéines Rho sont impliquées dans l'expression des gènes de sélectine-E induit par TNF- α	156
Figure 60. La lovastatine empêche l'invasion des cellules cancéreuses du côlon HT29 induite par le TNF- α	157

LISTE DES ABREVIATIONS

Abréviation	Définition
ADN	Acide désoxyribonucléique
AFCAPTS /TexCAPS	Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study
AINS	Anti Inflammatoire Non Stéroïdien
AJCC	American Joint Committee on Cancer
Akt	sérine/ thréonine protéine kinase B
ALAT	Alanine Amino Transférase
ARNm	Acide Ribonucléique messenger
AS160	Akt substrate of 160 kD
ASAT	Aspartate Amino Transférase
ASCOTLLA	Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial--Lipid Lowering Arm
ATP	Adénosine TriPhosphate
AVC	Accident Vasculaire Cérébral
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
Ca²⁺	ions calcique
Ca_v	canaux calciques voltage dépendant
CCIS	Carcinome Canalaire In Situ
CDK	Cyclin Depent Kinase
CE	Cellule endothéliale
CI 50	concentration inhibitrice médiane
CI	Confidence Interval
clAP-1 et clAP-2	Cellular Inhibitor of Apoptosis Protein 1 et 2
CORONA	Controlled Rosuvastatin Multinational Trial in Heart Failure
CT	Cholestérol Total
DDD	Defined Daily Dose
DVAMC	Durham Veterans Affairs Medical Center
EMA	European Medicines Agency
eNOS	Endothelial NO Synthase
ErbB2	Erythroblastosis oncogene B 2
FDA	Food and Drug Administration
FINDRISC	FINish Diabete Risk Score
FPP	Farnesyl pyrophosphate
GAP	GTPase-Activating Proteins
GDP	guanosine diphosphate
GGPP	geranylgeranyl pyrophosphate
GLUT-2	glucose transporter-2
GLUT-4=SLC2A4	glucose transporter-4
GTP	guanosine triphosphate
HbA1c	Hémoglobine glyquée
HDL	High-Density lipoprotein

HER-2	Human Epidermal growth factor Receptor 2
HMEC	Human Microvascular Endothelial Cell
HMG-CoA	HydroxyMéthylGlutaryl-Coenzyme A
HMVEC	Human MicroVascular Endothelial Cell
HOMA	HOMeostasis Model Assesement
HPS	Heart Protection Study
HR	Hazard ratio
Hs-CRP	High-sensitivity C-Reactive Protein
HUVEC	Human umbilical vein endothelial cell
IAP	Inhibitor of Apoptosis Protein
IDEAL	Incremental Decrease in End Points Through Aggressive Lipid Lowering
IκB	Inhibiteur du facteur nucléaire κB
IL-6	Interleukine-6
IMC	Indice de Masse Corporelle
IRM	Imagerie par Résonance Magnetique
IRS-1	Insulin Receptor Substrate-1
JUPITER	Justification for the Use of Statins in Primary Prevention: An Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin
K	potassium
K_{ATP}	canaux potassiques ATP dépendant
LDL	low-density lipoprotein
LIPID	The Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease
LNMA	N ^G -monométhyl-L-arginine
MCF7	Michigan Cancer Foundation-7
MDA-MB-231	M.D. Anderson - Metastatic Breast
MMP-9	Matrix metallopeptidase-9
NFκB	Nuclear Factor-kappa B
NHIRD	National Health Insurance Research Database
NO	Monoxyde d'Azote
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OR	Odd ratio
PARP	Poly(ADP-Ribose) Polymérase
PDK1	Phosphoinositide-Dependent Kinase-1
PI3K	Phosphatidylinositol-3-Kinase
PIP2	Phosphatidylinositol 4-5 biphosphate
PIP3	phosphatidylinositol 3,4,5 triphosphate
PRFS	PSA Relapse-Free Survival
PROSPER	PROspective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk
QUICKI	Quantitative Insulin Sensitivity Check Index
SAEC	Human Small Airway Epithelial Cell
Ser473	Serine 473

SLC2A4=GLUT-4	Glucose transporter 4
SPARCL	Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels
Thr 308	Thréonine 308
TNF-α	Tumor Necrosis Factor- α
TNT	Treating to New Targets
u-PA	Urokinase-type Plasminogene Activator
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VEGFR	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor
WOSCOPS	West of Scotland Coronary Prevention Study

**EFFETS MULTIPLES DES STATINES : DÉVELOPPEMENT DU
DIABÈTE ET ACTIVITÉ ANTITUMORALE**

INTRODUCTION

Les statines sont des inhibiteurs de l'HMG-CoA (HydroxyMéthylGlutaryl-Coenzyme A) réductase. Elles permettent d'inhiber la synthèse du cholestérol produit par le foie.

La première statine découverte est la mévastatine dans les années 70. Cette découverte a mené à l'apparition de nouveaux inhibiteurs de l'HMG-CoA réductase. En effet, à ce jour, cinq statines sont commercialisées en France : l'atorvastatine, la fluvastatine, la pravastatine, la rosuvastatine et la simvastatine. Une sixième statine est disponible en vente libre sous forme de levure de riz rouge : il s'agit de la lovastatine.

À ce jour, les statines sont fréquemment prescrites en prévention primaire et secondaire d'évènements cardiovasculaires et sont très efficaces dans la réduction des taux de cholestérol. Cependant, il semblerait que les statines aient d'autres effets métaboliques pouvant être bénéfiques ou au contraire délétères pour le patient.

En effet, les statines exerceraient des effets multiples au-delà de son effet hypocholestérolémiant. Elles améliorent les fonctions endothéliales, diminuent l'inflammation vasculaire et jouent un rôle sur l'immunomodulation. Des études supplémentaires sont nécessaires afin d'évaluer l'utilité de ces propriétés mais aussi afin de réévaluer la balance bénéfice/risque des statines.

Dans cette thèse, nous allons tout d'abord voir le lien entre statine et développement de diabète tout en s'intéressant au mécanisme par lequel cette famille thérapeutique cause cet effet indésirable en s'appuyant sur des études in vitro et in vivo. Nous allons également regarder s'il s'agit d'un effet de classe thérapeutique ou si certaines statines sont plus susceptibles que d'autres d'entraîner un diabète.

Dans la deuxième partie, nous verrons que les statines pourraient avoir un effet bénéfique en prévention de certains cancers ou en adjuvant de certaines chimiothérapies.

Le but de cette thèse est aussi de voir si ces effets nécessitent la réévaluation de la place des statines dans la stratégie thérapeutique des maladies cardiovasculaires ou des cancers mais aussi si ces effets sont la conséquence d'un même mécanisme d'action.

PARTIE 1 : PRESENTATION DES STATINES

A. PHARMACODYNAMIE (1)

Les statines sont des inhibiteurs de l'HMG-CoA (HydroxyMéthylGlutaryl Coenzyme A) réductase, première enzyme impliquée dans la synthèse de cholestérol. Il s'agit d'inhibiteurs compétitifs empêchant la formation de mévalonate à partir de 3-hydroxyl-3méthyl-glutaryl CoA. Leur principal site d'action est le foie. Les statines augmentent aussi le nombre de récepteurs du LDL (low-density lipoprotein) cholestérol à la surface des hépatocytes, augmentant la captation du LDL-cholestérol, et renforçant ainsi son catabolisme.

B. PHARMACOCINETIQUE (1) (2)

	Absorption	Distribution	Métabolisme et élimination	Population particulière
Rosuvastatine (Crestor®)	Biodisponibilité de 20 %	Majoritairement captée par le foie. 90% de liaison aux protéines plasmatiques	- Substrats du CYP2C9. Métabolites peu actifs. - Elimination biliaire à 90% et rénale à 5% - ½ vie d'élimination de 19 heures (non influencée par les fortes doses)	- Augmentation de l'ASC et de la Cmax chez les populations Asiatiques comparativement aux Caucasiens. - Concentration de rosuvastatine multipliée par 3 chez les insuffisants rénaux sévères
Simvastatine (Lodales®, Zocor®, Inegy®)	Cmax obtenue 1 à 2 heures après la prise de simvastatine.	Forte captation hépatique. Liaison de la simvastatine et de son métabolite aux protéines plasmatique >95%	- Inactive. Elle doit être métabolisée par le CYP3A4 - Elimination par les selles	
Atorvastatine (Tahor®, Caduet®)	Cmax atteinte en 1 à 2 heures. Biodisponibilité comprise en 95 et 99%.	Liaison aux protéines plasmatiques >98%	- Métabolisée par le CYP3A4 - L'effet inhibiteur de l'atorvastatine est similaire à celui de ses métabolites	
Pravastatine (Elisor®, Vasten®)	Biodisponibilité de 17 % La pravastatine est transportée dans les hépatocytes avec une entrée nettement moindre dans les autres cellules	Liaison aux protéines plasmatiques de l'ordre de 50%	-20% de la dose éliminée par les urines et 70% dans les fèces. -½ vie d'élimination est de 1,5 à 2 heures	L'insuffisance rénale sévère ou modérée peut entraîner une multiplication par deux de l'exposition à la pravastatine ou à ses métabolites.

Fluvastatine (Lescol®, Fractal®)	Absorption de l'ordre de 98%	Liaison aux protéines plasmatiques >98%	- Métabolisée par le CYP2C9 - Seuls les métabolites sont actifs - Excrétion biliaire	
Lovastatine (Mevacor®)	Biodisponibilité<5%	Liaison aux protéines plasmatiques>95%	- Métabolisation par le CYP3A4. - Métabolites actifs - Elimination via les urines et majoritairement dans les selles	
Cerivastatine (Staltor®, Cholstat®)	Biodisponibilité de 60%	Liaisons aux protéines plasmatiques >99%	- Métabolisation par le CYP3A4 et CYP2C8 - Métabolites actifs - Elimination urinaire (30%) et par les fèces (70%)	

Tableau 1. Profil pharmacocinétique des statines.

La cérvastatine, commercialisée sous le nom de Staltor® ou Cholstat®, est une statine retirée du marché en 2001 pour cause de rhabdomyolyse.

C. EFFICACITE DES STATINES EN PREVENTION D'EVENEMENTS CARDIOVASCULAIRES

Les statines sont largement utilisées pour une grande partie de la population en prévention primaire et secondaire d'évènements cardiovasculaires. En effet, les statines entraînent une réduction de LDL-cholestérol permettant une diminution de la formation de plaques d'athérome responsables d'évènements cardiovasculaires tels que les AVC (Accident Vasculaire Cerebral), les angors ou les infarctus du myocarde. Plus la réduction du taux de LDL-cholestérol est importante, plus le bénéfice en termes de réduction de facteurs de risque cardiovasculaire est important.

Cette analyse de Mills et al (3) regroupe les résultats de plusieurs essais randomisés comparant une statine à un placebo chez des patients avec et sans antécédent de maladies coronariennes.

- Critères d'inclusion

Les essais testent l'atorvastatine, la fluvastatine, la lovastatine, la pitavastatine (les résultats ne seront pas évoqués), la pravastatine, la rosuvastatine et la simvastatine en prévention primaire ou secondaire d'évènements cardiovasculaires. Les études incluses comparent une statine et un placebo, ou une statine et une thérapie standard ou encore une statine et aucun traitement. Ces études doivent déclarer les évènements cardiovasculaires suivants :

- Toute cause de mortalité
- Evènement coronarien fatal
- Infarctus du myocarde fatal et non fatal
- AVC
- Pontage

Les essais comparant deux statines entre elles sont exclus.

- Conclusion

Cette méta analyse démontre un effet bénéfique de la réduction de LDL-cholestérol attribué aux statines. Les statines réduisent les évènements majeurs cardiovasculaires.

En effet, cette étude démontre que pour la réduction absolue de 10% du taux de LDL-cholestérol par les statines, une réduction de 2% d'évènements cardiovasculaires mortels est associée. Ce bénéfice se retrouve quel que soit la molécule utilisée.

L'effet bénéfique de l'utilisation des statines en prévention cardiovasculaire est indiscutable. En revanche, cette analyse rapporte que dans 17 études incluses, une augmentation de l'incidence de diabète suite à la prise de statine est signalée. Cet effet indésirable a été retrouvé pour la première fois dans l'essai JUPITER (Justification for the Use of Statins in Primary Prevention: An Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin trial) que nous développerons plus tard.

PARTIE 2 : STATINES ET INCIDENCE DU DIABÈTE DE TYPE 2

A. DIABÈTE ET CRITERES DE DIAGNOSTIC

Le diabète est caractérisé par une insulino-résistance et une diminution de la sécrétion d'insuline. Nous allons d'abord faire dans un premier temps un rappel de la sécrétion d'insuline et de son action sur les cellules avant de voir les symptômes, les critères de diagnostic et les complications du diabète.

1) MECANISME DE SECRETION DE L'INSULINE ET DE SON EFFET

a) Sécrétion d'insuline (4)

La sécrétion de l'insuline est principalement régulée par la glycémie.

Le glucose pénètre dans la cellule par l'intermédiaire des récepteurs membranaires GLUT-2. Par la suite, le glucose est phosphorylé par la glucokinase pour donner le glucose-6-phosphate. Ce métabolite est orienté vers la voie de la glycolyse et de la respiration oxydative mitochondriale. Le métabolisme du glucose est à l'origine d'une production accrue d'ATP (Adénosine TriPhosphate) via le cycle de Krebs. Cette production d'ATP entraîne une augmentation du taux ATP/ADP. L'augmentation de ce taux entraîne la fermeture des canaux potassiques ATP-dépendants. Il en résulte alors une dépolarisation activant les canaux calciques voltage-dépendants. Cette dépolarisation est amplifiée par l'entrée de calcium dans la cellule β du pancréas. L'augmentation du calcium intracellulaire conduit à l'exocytose d'insuline (schéma 1).

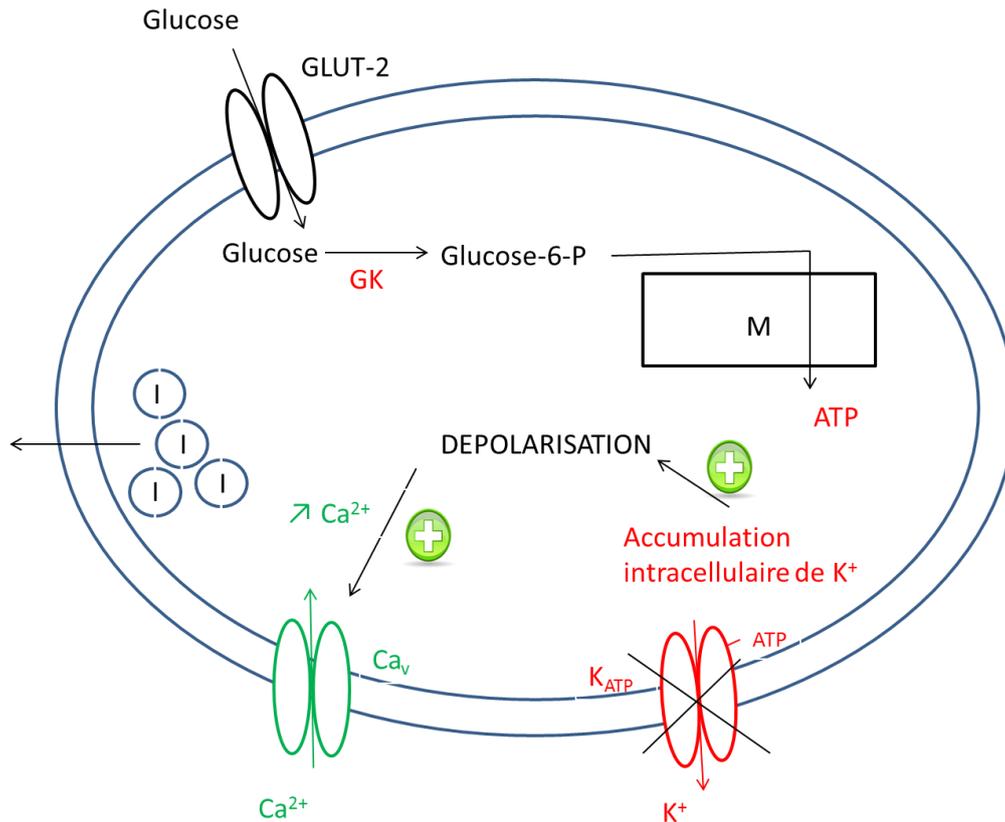


Schéma 1. Sécrétion de l'insuline dans les cellules β du pancréas. Le glucose pénètre dans la cellule via le transporteur GLUT-2 puis est phosphorylé par la glucose kinase (GK) pour former le glucose-6-phosphate (Glucose-6-P). Le glucose-6-phosphate pénètre dans la mitochondrie (M) et entre dans le cycle de Krebs qui permettra la production d'ATP. L'augmentation du taux d'ATP dans la cellule entraîne la fermeture des canaux potassiques ATP-dépendants (K_{ATP}). L'accumulation intracellulaire de potassium (K^+) permet la dépolarisation et l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants (Ca_v). La concentration de calcium (Ca^{2+}) intracellulaire augmente et il s'en suit l'exocytose d'insuline (I).

b) Action de l'insuline (5)

L'insuline est une hormone hypoglycémisante. Comme nous l'avons vu précédemment, sa sécrétion est liée à la glycémie. Une fois sécrétée, l'insuline va activer ses récepteurs et déclencher toute une signalisation intracellulaire aboutissant à l'entrée de glucose dans les cellules via l'expression d'un transporteur : le transporteur GLUT-4 (= transporteur SLC2A4), différent du transporteur GLUT-2 car exprimé seulement suite à une stimulation par l'insuline.

- Fixation de l'insuline à son récepteur

L'insuline se fixe sur son récepteur ce qui active le domaine tyrosine kinase du récepteur. Puis le récepteur recrute la protéine IRS-1 (Insulin Receptor Substrate) en la phosphorylant.

A partir de cette protéine adaptatrice IRS, les voies de signalisations sont déclenchées. Nous allons seulement voir la voie de signalisation IRS/PI3K/PIP3/Akt dans le paragraphe ci-dessous.

- Voie de signalisation PI3K-Akt

Il y a tout d'abord une liaison de la PI3K (phosphatidylinositol 3 kinase) à IRS-1.

Cette liaison va permettre à la PI3K de phosphoryler le PIP2 (Phosphatidylinositol 4-5 biphosphate) et le convertir en PIP3 (phosphatidylinositol 3,4,5 triphosphate). Le PIP3 va permettre le recrutement de la protéine-kinase PDK1 (phosphoinositide dependent kinase 1) qui va phosphoryler la protéine Akt (=Protéine Kinase B). La protéine Akt ainsi activée va phosphoryler et agir sur d'autres substrats impliqués dans les effets métaboliques de l'insuline.

Akt va en particulier phosphoryler la protéine AS160 localisée dans les membranes des vésicules intracellulaires contenant les transporteurs GLUT-4. Cette protéine possède une activité GAP (GTPase activating protein) permettant la conversion d'une petite protéine G, la protéine Rab, de la forme Rab-GTP active à la forme Rab-GDP inactive. Lorsque la protéine AS160 n'est pas phosphorylée, elle maintient ces vésicules dans le compartiment cellulaire. Elle inhibe donc la délocalisation du transporteur GLUT-4 vers la membrane plasmique.

Après sa phosphorylation, l'effet inhibiteur d'AS160 est levé et les transporteurs GLUT-4 sont délocalisés vers la membrane plasmique. Il s'en suit alors une entrée de glucose dans les tissus.

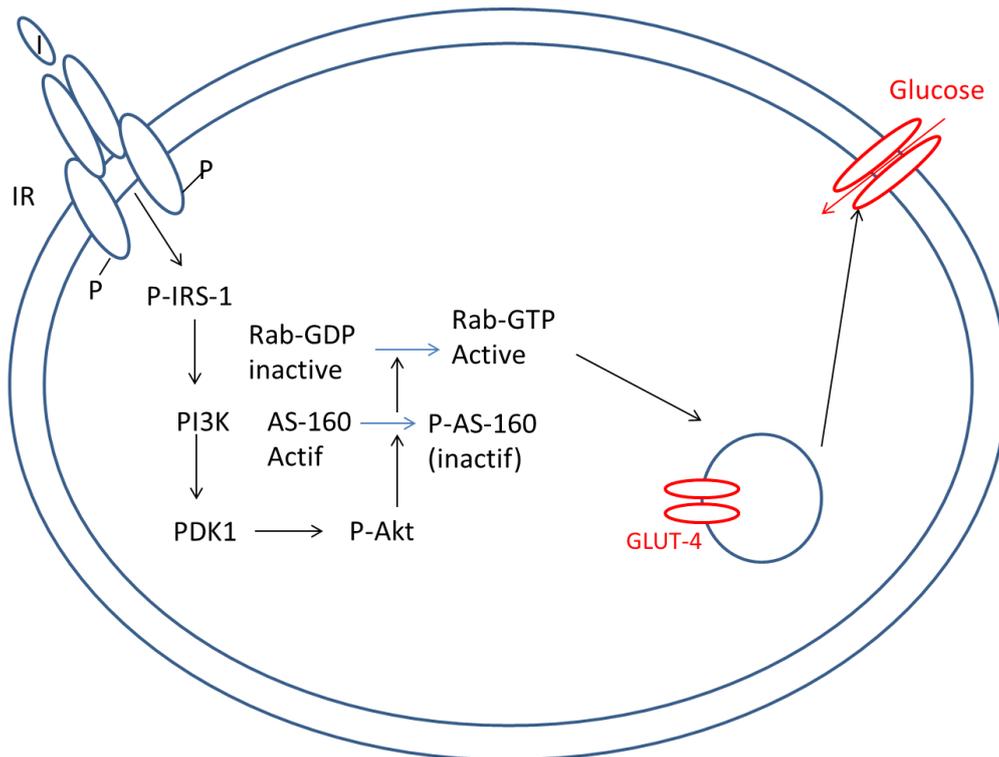


Schéma 2. Action de la fixation de l'insuline (I) sur son récepteur (IR) dans les hépatocytes. Après fixation de l'insuline, le récepteur recrute IRS-1 en le phosphorylant (P-IRS-1). Celui-ci va activer à son tour la PI3K. Cela va permettre l'activation de la PDK1 qui va phosphoryler la protéine Akt. Ensuite, Akt va permettre d'inactiver la protéine AS-160 en la phosphorylant (P-AS-160). En l'inactivant, la protéine Rab peut être phosphorylée et passer de l'état Rab-GDP à Rab-GTP. Ainsi, cela permet la délocalisation du transporteur GLUT-4 du cytosol vers la membrane plasmique et l'entrée de glucose dans la cellule.

c) Le diabète selon l'OMS (6)

- Hyperglycémie modérée à jeun et intolérance au glucose

D'après l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), l'hyperglycémie modérée à jeun, l'intolérance au glucose et le diabète sont les stades successifs d'un même processus pathologique. L'hyperglycémie modérée à jeun est un état dans lequel la glycémie à jeun est supérieure à la normale mais inférieure à la valeur seuil pour le diagnostic du diabète. Selon les critères de l'OMS de 1999, l'hyperglycémie modérée à jeun se définit par une glycémie à jeun comprise entre 6,1 mmol/l (soit 110mg/dl) et 7 mmol/l (soit 126 mg/dl).

L'intolérance au glucose est un état dans lequel la glycémie est supérieure à la normale 2 heures après une dose de charge de 75 g de glucose, mais inférieure à la valeur seuil pour le diagnostic du diabète. Selon les critères de l'OMS, une personne est intolérante au glucose si la glycémie à jeun est inférieure à 7 mmol/l et si la glycémie 2 heures après une charge de 75 g de glucose est comprise entre 7,8 mmol/L (soit 140 mg/dl) et 11,1 mmol/l (soit 200 mg/dl).

En général, ces patients ne présentent aucun symptôme et le diagnostic est posé lors d'un test fait à la demande du patient ou du médecin traitant.

- Symptômes et diagnostic du diabète de type 2

Le diabète de type 2 représente 90 % des diabètes rencontrés dans le monde. Il est associé à l'obésité, à une baisse de l'activité physique, à une mauvaise alimentation et implique dans presque tous les cas une résistance à l'insuline.

- Symptômes

Les patients peuvent ne présenter aucun symptôme ou des symptômes très discrets pendant des années avant d'être diagnostiqués. On peut observer une polyurie (excrétion excessive d'urine), une sensation de soif (polydipsie), de faim et une perte de poids inexplicée. Il peut y avoir aussi un engourdissement des extrémités, des douleurs dans les pieds et une vision floue. Les patients diabétiques peuvent aussi subir des infections récurrentes.

- Diagnostic

Le diagnostic est posé en présence des symptômes classiques de l'hyperglycémie et de résultats d'analyses sanguines anormaux. Ainsi, une glycémie ≥ 7 mmol/L (soit 126 mg/dl) ou $\geq 11,1$ mmol/l (soit 200 mg/dl) 2 heures après une charge de glucose de 75 grammes permet de poser le diagnostic.

- Complications du diabète

Les complications du diabète sont de deux types :

- Complications microvasculaires regroupant les rétinopathies, néphropathies et neuropathies (pied diabétique).
- Complications macrovasculaires regroupant les maladies cardiovasculaires (infarctus du myocarde, accident vasculaire cérébral).

B. ANALYSE DE L'ESSAI JUPITER

1) PRESENTATION DE L'ESSAI JUPITER

L'essai JUPITER publié en 2008, est le premier essai clinique montrant clairement un effet diabéto-gène des statines. Cet effet sera par la suite étudié dans de nombreuses analyses.

L'essai JUPITER est un essai randomisé en double aveugle comparant la prise de 20 mg de rosuvastatine par jour versus placebo. Il s'agit d'un essai en prévention primaire d'évènements cardiovasculaires. Cet essai inclut 17 802 patients de 66 ans d'âge moyen. Le suivi de l'essai prévu sur 5 ans s'arrête prématurément au bout de 1,9 an devant une diminution statistiquement significative du premier évènement cardiovasculaire majeur de l'ordre de 44% dans le groupe rosuvastatine : le HR (Hazard Ratio correspondant au risque relatif) étant de 0,56 (95% CI 0,4-0,69).

Cet arrêt prématuré a cependant entraîné une controverse sur les résultats publiés. En effet, cet arrêt précoce pourrait entraîner une surestimation du bénéfice de la rosuvastatine.

Malgré tout, l'essai montre une augmentation significative de risque de développement de diabète dans le groupe rosuvastatine de l'ordre de 26% : HR 1,26 (95% CI : 1,04-1,51).

2) RIDKER ET AL 2012 (7)

En 2012, Ridker et al publient une analyse de l'essai JUPITER afin de contrôler la balance bénéfique/risque lors de l'utilisation des statines.

Dans cette analyse, les participants de l'essai JUPITER sont classés sur la base de n'avoir aucun ou au moins un des quatre facteurs de risque majeur de développer le diabète. Ces facteurs de risque sont les suivants :

- Syndrome métabolique
- Glycémie à jeun élevée
- IMC (=Indice de Masse Corporelle) ≥ 30 kg/m²
- HbA1c (Hémoglobine glyquée) >6%

Les évènements cardiovasculaires mis en avant sont les suivants :

- Infarctus du myocarde
- AVC
- Admission à l'hôpital pour un angor instable
- Revascularisation artérielle

• Résultats

	Au moins un facteur de risque (n=11 508)	Aucun facteur de risque (n=6 095)
Evènements cardiovasculaires	\searrow 39% (HR 0,61,95%CI 0,47-0,79 ; p=0,0001)	\searrow 52% (HR 0,48 ; 95% CI 0,33-0,68 ; p=0,0001)
Mortalité	\searrow 17% (HR 0,83 ; 0,64-1,07 ; p=0,15)	\searrow 22% (HR 0,78 ; 0,59-1,03 ; p=0,08)
Diabète	\nearrow 28% (HR 1,28 ; 1,07-1,54 ; p=0,01)	Pas d'influence (HR 0,99 ; 0,45-2,21 ; p=0,99)

Tableau 2. Récapitulatif des résultats de l'analyse de l'essai JUPITER.

La prescription de statines en prévention primaire chez les patients à faible risque cardiovasculaire est en constante augmentation. Or, il existe des controverses quant à leur prescription dans ce cas-là. Cette analyse de Ridker et al suggère que le risque de développement de diabète sous statines semble limité aux personnes ayant une intolérance au glucose, un syndrome métabolique, une obésité sévère, ou un taux d'HbA1c élevé. Ces patients sont considérés comme étant déjà à haut risque de développement de diabète. Cependant, dans l'essai JUPITER, le bénéfice cardiovasculaire surpasse le risque de développer le diabète chez la totalité des participants.

La conclusion de cette analyse est que le bénéfice de l'utilisation des statines en prévention primaire surpasse nettement le risque de développement du diabète. Chez les personnes identifiées comme étant à risque diabétique, un suivi de glycémie doit être installé pendant toute la durée du traitement.

C. ETUDE DE CAS (8)

Il s'agit d'un cas où l'administration d'atorvastatine a entraîné un diabète de type 2.

1) MAI 2002

Un homme japonais de 48 ans se présente pour un examen médical annuel. Cet homme ne présente pas d'antécédent d'hyperglycémie et son style de vie est inchangé depuis quinze ans. Son IMC est de 23,9 kg/m² et le poids de ce patient est stable depuis quinze ans à l'exception des 2 mois précédents la consultation. Ce patient présente une hypercholestérolémie (CT : [Cholestérol Total]=8,04 mmol/l et LDL=4,16 mmol/l) connue et restée non traitée jusqu'à ce jour. Les autres tests, notamment les tests glycémiques sont normaux.

2) JUIN 2002

Le patient commence un traitement par atorvastatine à raison de 10 mg par jour. Un mois après, le taux de CT est de 5,95 mmol/l et la glycémie post prandiale (2h après avoir mangé) est de 6,1 mmol/l.

3) OCTOBRE 2002

Le patient ressent une soif intense, une perte d'appétit et des crampes fréquentes dans les bras et jambes. Une perte de poids d'environ 3 kg est aussi notée. Sa glycémie post prandiale (30 minutes après le déjeuner) est de 29,8 mmol/l et le taux d'HbA1c est de 11,5%. Le diagnostic de diabète est posé et un régime de 1700 kcal par jour est instauré.

4) NOVEMBRE 2002

La glycémie, 2 heures après le petit déjeuner, est de 25,1 mmol/l et l'HbA1c est de 13,2%.

Devant le manque d'efficacité du régime seul, une insulinothérapie est mise en place par injection d'insuline rapide avant chaque repas. De plus, l'atorvastatine, jusque-là toujours prescrite, est arrêtée.

5) JANVIER 2003

Deux mois après la mise en place de l'insuline, l'HbA1c est de 7,3%. Sans insuline, la glycémie pré-prandiale est de $5,9 \pm 1,4$ mmol/l et la glycémie post-prandiale (2h après le repas) de $10,0 \pm 2,1$ mmol/l. Ainsi, une nette amélioration du diabète est notée 3 mois après l'arrêt de l'atorvastatine.

Pendant les 3 mois suivants, le régime alimentaire seul suffit pour contrôler la glycémie mais l'hypercholestérolémie reste présente. Le taux de CT est de 7,27 mmol/l, le taux de LDL de 5,17 mmol/l et le taux d'HbA1c est de 6%. Une prescription de pravastatine à raison de 20 mg par jour est faite.

Un mois et demi plus tard, le taux de CT est légèrement diminué mais celui de l'HbA1c augmente légèrement atteignant 6,5%. Quatre mois après, le diabète s'aggrave sans aucun changement de mode de vie avec un taux d'HbA1c de 8,4% et la glycémie à jeun de 17,9 mmol/l.

6) ARRET DE LA PRAVASTATINE

Un mois après cet arrêt, la glycémie à jeun descend à 8,6 mmol/l puis à 8,3 mmol/l. Six mois après, la glycémie à jeun est à 5,4 mmol/l et le taux d'HbA1c est de 6,6%. Cette amélioration de la glycémie s'est faite sans utiliser de médicaments antidiabétiques.

7) CONCLUSION DE CE CAS

Dans ce cas, un lien entre prise de statines et développement et aggravation d'un diabète est observé.

Il semblerait que l'atorvastatine soit la cause du développement du diabète ici étant donné que le mode de vie du patient était inchangé lors du diagnostic du diabète et que le retrait de l'atorvastatine couplé à de petites doses d'insuline a permis d'améliorer les relevés glycémiques. L'ajout et le retrait de la pravastatine sont liés aux fluctuations de la glycémie.

Bien évidemment, un seul cas ne permet pas d'affirmer que les statines ont un effet diabéto-gène. Il convient donc de regarder les études ayant été faites afin de voir s'il s'agit d'un cas isolé ou si l'on peut généraliser la conclusion de cette étude de cas.

D. ETUDES

1) EFFET DIABETOGENE DES STATINES

a) Coleman et al 2008 (9)

Avant la publication des résultats de l'essai JUPITER, la méta analyse de Coleman évaluant l'effet diabétogène des statines à partir de cinq essais cliniques randomisés est publié. Les études concernées sont WOSCOPS (West of Scotland Coronary Prevention Study), ASCOTTLLA (Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial--Lipid Lowering Arm), HPS (Heart Protection Study), LIPID (The Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease) et CORONA (Controlled Rosuvastatin Multinational Trial in Heart Failure) (ces études mentionnaient les nouveaux cas de diabète). La conclusion de cette publication est l'absence d'effet diabétogène des statines en tant que classe.

Cependant, en retirant les résultats de Freeman et al (10) issus de l'analyse de WOSCOPS, un risque d'augmentation d'incidence de diabète de l'ordre de 14% est retrouvé chez les patients traités par statines. Cette méta analyse est la première à établir un lien entre statine et diabète.

b) Rajpathak et al 2009 (11)

- Méthode

Cette méta analyse regroupe les résultats de 6 études incluant un total de 57 593 patients avec une durée moyenne de suivi de 3,9 ans. Elle inclut des études en double aveugle rapportant l'incidence de diabète de type 2 durant leur suivi. Ces études concernent l'utilisation des statines soit en prévention primaire soit en prévention secondaire d'évènements cardiovasculaires.

Les critères d'exclusion sont les suivants :

- Patients diabétiques
- Etudes comparant différentes statines
- Etudes centrées sur les personnes n'ayant pas de facteurs de risque cardiovasculaires

- Diagnostic

Les critères de diagnostic de diabète sont les suivants :

- Glycémie à jeun supérieure ou égale à 126 mg/dl en deux occasions l'une d'entre elles étant au moins supérieure à la valeur de base à l'inclusion de 36mg/dl ou la mise en place d'agents hypoglycémiant (WOSCOPS)
- Mise en place d'antidiabétiques oraux ou rapport de développement de diabète durant le suivi (HPS)
- Glycémie à jeun supérieure ou égale à 126 mg/dl ou glycémie supérieure à 200 mg/dl 2 heures après une hyperglycémie provoquée par voie orale (ASCOT)
- Glycémie à jeun supérieure ou égale à 126 mg/dl ou utilisation d'antidiabétiques oraux ou d'insuline (LIPID)
- Diabète diagnostiqué par un médecin (JUPITER et CORONA)

- Résultats

Parmi ces six essais, trois concernent la prévention primaire (WOSCOPS, ASCOT, JUPITER) alors que les trois autres sont orientés vers la prévention secondaire d'évènements cardiovasculaires (HPS, LIPID, CORONA). Les molécules utilisées sont la pravastatine à 40 mg/jour (WOSCOPS et LIPID), la rosuvastatine (CORONA et JUPITER à respectivement 10 et 20 mg/jour), la simvastatine à 40 mg/jour (HPS) et l'atorvastatine à 10 mg/jour (ASCOT).

Parmi les études, quatre d'entre elles ne rapportent pas de lien entre statines et risque de diabète. En revanche, l'étude WOSCOPS conclut à un effet protecteur de la pravastatine vis-à-vis du diabète alors que l'étude JUPITER montre un lien entre la prise de rosuvastatine et développement de diabète (en comparaison au groupe placebo).

En retirant l'étude WOSCOPS de l'analyse, une légère mais significative augmentation de l'incidence de diabète due à l'utilisation des statines est notée. Cette relation n'a pas l'air d'être statine-dépendante ou dose-dépendante.

Cependant, l'étude WOSCOPS a utilisé des critères de diagnostic ne correspondant pas aux critères utilisés habituellement. De plus, parmi les patients ayant développé un diabète dans l'étude JUPITER, 77% d'entre eux sont intolérants au glucose au début de l'étude. Ceci n'est pas étonnant puisque les sujets sont recrutés sur la base de leur taux de protéines inflammatoires hs-CRP (high sensitive-C Reactive Protein). Or, un taux élevé de hs-CRP est associé avec un risque élevé de diabète.

La conclusion de cette analyse est que les statines n'ont aucun rôle protecteur vis-à-vis du diabète mais au contraire, leur utilisation présente une légère augmentation de risque de développer un diabète en particulier chez les populations à risque telles que les personnes intolérantes au glucose. Cette étude précise que cet effet

indésirable est négligeable par rapport au bénéfice des statines dans la prévention primaire et secondaire d'évènements cardiovasculaires.

c) Sattar et al 2010 (12)

Cette analyse a pour but de voir s'il existe un lien entre utilisation de statines et développement de diabète.

- Méthode

Cette méta analyse regroupe les résultats de 13 études de 1994 à 2009 avec un total de 91 140 participants et une durée de suivi moyenne de 4 ans.

Les critères d'exclusion sont les suivants :

- Patients transplantés
- Patients hémodialysés
- Patients diabétiques
- Etudes comparant différentes statines entre elles ou différentes doses de la même statine
- Etudes incluant 1000 patients ou moins
- Etudes dont le suivi est inférieur à un an

- Diagnostic

Les critères de diagnostic utilisés sont les suivants :

- 2 glycémies supérieures ou égales à 7 mmol/l dans les essais mesurant la glycémie à jeun environ tous les 6 mois
- 1 seule glycémie supérieure ou égale à 7mmol/l dans les essais mesurant la glycémie à jeun moins fréquemment que tous les 6 mois

En effet, dans ces différentes études incluses, les critères de diagnostic utilisés sont différents. Certaines utilisent les critères de l'OMS, d'autres encore les diagnostics des médecins (en utilisant l'hyperglycémie provoquée par voie orale, les symptômes d'un diabète, deux glycémies à jeun supérieure à 7 mmol/l, la mise en place d'antidiabétiques oraux), ou d'autres encore, une seule glycémie à jeun supérieure à 7 mmol/l. De plus, l'étude WOSCOPS ajoute comme critère diagnostic l'augmentation de 2 mmol/l de la glycémie à jeun par rapport à la valeur de cette glycémie à l'inclusion de l'étude.

- Résultats

Parmi les 13 essais, deux d'entre eux (JUPITER et PROSPER) ont montré individuellement un lien entre prise de statines et incidence de diabète. PROSPER (PROspective Study of Pravastatin in the Elderly at Risk) est l'essai clinique incluant

des sujets plus âgés que dans le reste des autres études avec une moyenne d'âge de 76 ans.

Cette méta analyse montre qu'en tant que classe thérapeutique, les statines augmentent le risque de diabète de 9% avec un HR de 1,09 (95% CI : 1,09-1,17). Aucune différence n'est notée entre les statines lipophiles et hydrophiles. L'association diabète/statine semble être plus forte chez les personnes âgées même avec un IMC normal. Les essais montrant le plus faible taux d'incidence de diabète sont les suivants :

- AFCAPTS/ TexCAPS (Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study), testant la lovastatine à raison de 20 à 40 mg versus placebo
- WOSCOPS, en utilisant des critères diagnostic standard

Cette faible incidence peut s'expliquer par le fait qu'il s'agit d'essais de prévention primaire avec des sujets ayant peu de facteurs de risque de diabète comme un faible IMC.

Les données recueillies par Sattar et al suggèrent que la surveillance glycémique pourrait s'avérer utile chez les personnes âgées prenant des statines. Là encore, les statines exerçant un effet bénéfique net en prévention d'évènements cardiovasculaires, leur utilisation ne doit pas être remise en cause chez les personnes ayant des facteurs de risques cardiovasculaires importants. Les auteurs concluent en rappelant que si les facteurs de risques sont faibles, les médecins doivent prendre en compte cet effet indésirable.

Cette méta analyse est très importante, elle est reprise dans beaucoup d'études et a servi de base pour les autres articles traitant de l'effet diabétogène des statines.

d) Wang et al 2012 (13)

Cette étude a pour but d'évaluer le lien entre exposition aux statines et incidence de diabète dans la population générale.

- Méthode

Les données ont été recueillies à partir de l'assurance maladie de Taiwan, représentative de la population Taiwanaise.

Les critères d'inclusion sont les suivants :

- Homme de plus de 45 ans et femme de plus de 55 ans avant 2004
- Sujets sous statines depuis plus de 30 jours entre 2000 et 2003
- Sujets n'étant pas sous statines avant 2004

Les critères d'exclusion sont les suivants :

- Personnes sous statines depuis moins de 30 jours
- Sujets diabétiques (selon les codes de la Classification Internationale des maladies-9) ou suivant un traitement antidiabétique
- Sujets ayant eu un infarctus du myocarde avant l'étude
- Sujets ayant subi un pontage avant l'étude

L'incidence de diabète, des évènements cardiovasculaires majeurs (infarctus du myocarde, pontage, AVC) et des décès à l'hôpital sont évalués.

Dans cette étude, 8 412 personnes sont dans le groupe statines et 33 648 dans le groupe contrôle. L'âge moyen est de 63 ans et 49% des participants sont des femmes.

Parmi les sujets atteints d'une maladie coronarienne, aucun participant n'a d'antécédents d'infarctus du myocarde ou de pontage. Dans cette étude, 47 % des sujets sont inclus pour prévention secondaire, ce pourcentage reflète que cette cohorte possède moins de risque cardiovasculaire que les sujets inclus dans les méta analyses. C'est un point qui peut s'avérer important comme nous le verrons dans d'autres études.

Par ordre décroissant, les statines les plus prescrites sont l'atorvastatine (49%), la simvastatine (46%), la lovastatine (44%), la fluvastatine (30%), la pravastatine (28%) et la rosuvastatine (14%). Le total dépasse 100% mais cela est aussi dû au fait que 62% des participants ont reçu au moins 2 ou plus statines différentes pendant le suivi.

- Résultats

Durant le suivi moyen de 7,2 ans, 5754 cas de diabète sont recensés.

L'étude suggère que l'utilisation des statines augmente le risque de développement de diabète (HR : 1,15 ; 95%CI : 1,08-1,22 ; $p < 0,001$). En revanche, les résultats montrent que les patients sous statines ont une réduction d'évènements cardiovasculaires majeurs (HR : 0,91 ; 95%CI : 0,84-0,99 ; $p = 0,031$).

Un autre résultat de cette étude est que le rapport bénéfice/risque penche en faveur de l'utilisation des statines chez les sujets à haut risque cardiovasculaire et en prévention secondaire.

De plus, d'après Wang et al, la lovastatine, la pravastatine, la simvastatine et l'atorvastatine sont les plus diabétogènes. En revanche, la fluvastatine et la rosuvastatine ne montrent pas de risque significatif. Aucun effet dose-dépendant n'est cependant relevé. Ces résultats sont intéressants dans la mesure où ils contredisent clairement l'étude WOSCOPS mais aussi JUPITER. Comme nous le verrons par la suite, ces résultats sont différents dans d'autres essais. Cette étude

conclut en soulignant que certains patients ont des facteurs de risque s'ajoutant à la prise de statine (âge, intolérance au glucose, IMC, antécédent d'hypertension) mais que la surveillance glycémique devrait être systématique chez tous les sujets prenant des statines.

- Force et limite de cette étude

L'une des forces de cette étude est que le suivi est plus long que dans une méta-analyse.

De plus, cette étude est la première à étudier la balance bénéfique/risque des statines dans la population générale.

Une des faiblesses est que les patients ayant subi des événements coronaires ont été exclus de l'étude alors que ce sont les sujets qui auraient le plus bénéficié de la prescription de statines. De plus, la dose moyenne journalière est plus faible que dans les essais cliniques et la relation dose-dépendante statine/diabète n'a pu être confirmée.

Les informations individuelles comme l'historique familial de diabète, la prise de tabac, l'observance exacte des patients et les résultats de laboratoire n'ont pas pu être consultés dans la base de données.

Les résultats de cette étude sont donc intéressants mais sont issus d'une population asiatique. Or, cette population est plus susceptible de développer un diabète.

e) Wang et al 2013 (14)

Cette étude a pour but d'évaluer les avantages et les inconvénients de l'utilisation de statines vis-à-vis du développement du diabète et de la réduction des risques cardiovasculaires majeurs dans la population pré-diabétique.

- Méthode

Les données sont extraites de l'assurance maladie de Taiwan.

Les critères d'inclusion sont les suivants :

- Sujets pré-diabétiques c'est-à-dire intolérants au glucose et n'étant sous aucun médicaments antidiabétiques
- Sujets de 45 ans ou plus, prenant continuellement des statines pendant plus de 7 jours avant d'être diagnostiqué diabétique
- Sujets n'ayant jamais pris de statines avant d'être diagnostiqué diabétique

Les critères d'exclusion sont les suivants :

- Sujets ayant des troubles endocriniens
- Sujets ayant été traités par corticostéroïdes ou d'autres agents hypolipémiants autres que les statines
- Sujets ayant un suivi de moins de 30 jours.

Les sujets sont répartis en trois groupes :

- Sujets dont la première prescription de statines est postérieure au diagnostic de pré-diabète (groupe 1)
- Sujets dont la première prescription de statines est antérieure au diagnostic de pré-diabète et dont l'observance est inférieure à 80% (groupe 2)
- Sujets dont la première prescription de statines est antérieure au diagnostic de pré-diabète et dont l'observance est supérieure ou égale à 80% (groupe 3).

Le diagnostic est établi par la prescription continue de médicaments antidiabétiques pendant au moins 30 jours.

Les évènements cardiovasculaires majeurs comprennent :

- Les infarctus du myocarde
- Les AVC
- Le pontage coronaire
- La mort

- Résultats

Cette étude compte 9 055 sujets. Parmi eux, 3 288 sujets sont sous statines. Durant le suivi de $4,1 \pm 2,5$ ans, 28,5 % des personnes sous statines développent un diabète contre 23,5% des personnes du groupe placebo. En revanche, 12% des sujets du groupe statine subissent un évènement cardiovasculaire majeur contre 16,7% des sujets du groupe placebo.

La thérapie sous statine est accompagnée d'une augmentation de l'incidence de diabète (HR : 1,20 ; 95% CI : 1,08-1,32 ; $p < 0,001$) et d'une réduction d'évènements cardiovasculaires majeurs (HR : 0,70 ; 95% CI : 0,61-0,80 ; $p < 0,001$).

Les statines les plus prescrites dans cette étude sont la lovastatine, suivie par l'atorvastatine et la simvastatine. Les doses moyennes sont de 10 mg par jour pour l'atorvastatine, 46 mg par jour pour la fluvastatine, 21 mg pour la lovastatine, 11 mg par jour pour la pravastatine, 17 mg par jour pour la simvastatine, et 8 mg par jour pour la rosuvastatine. Cette étude montre une corrélation entre statines et développement de diabète, et ce risque est proportionnel à la dose utilisée et à la durée d'exposition aux statines (tableau 3).

Dose maximale journalière équivalent à une dose de 20 mg de simvastatine*	Incidence de diabète HR (95%CI)	Evènement cardiovasculaire majeur HR (95%CI)
< 20 mg (n=1569)	1,17 (1,04-1,31) p=0,009	0,69 (0,58-0,81) p<0,001
≥ 20 mg (n=1500)	1,23 (1,09-1,39) p=0,001	0,71 (0,60-0,85) p<0,001
Dose moyenne journalière équivalent à une dose de 20 mg de simvastatine*		
< 20 mg (n=2224)	1,16 (1,05-1,29) p=0,005	0,71 (0,61-0,82) p<0,001
≥ 20 mg (n=845)	1,30 (1,12-1,51) p=0,001	0,66 (0,53-0,84) p=0,001
Durée de prescription		
Inférieure à 1 an (n=2101)	1.12 (1.00-1.25) p=0.048	0.71 (0.62-0.83) p<0.001
Supérieure ou égale à 1 an (n=968)	1.40 (1.22-1.61) p<0.001	0.66 (0.53-0.82) p<0.001

Tableau 3. Risque de nouveau diabète et diminution du risque cardiovasculaire en fonction de la dose de statine et de la durée de prescription. *Dose équivalente à une prise de 20 mg de simvastatine selon la FDA (Food and Drug Administration). P<0,05 montre un effet significatif.

De plus, en comparant les sous-groupes chez les sujets prenant des statines, l'étude montre que le schéma de prescription et l'observance jouent aussi un rôle dans le développement de diabète (tableau 4 et 5).

	Nouveau cas de diabète (% par an)	Evènements cardiovasculaires majeurs (% par an)
Groupe 1	6,3%	3,9%
Groupe 2	6,9%	2,8%
Groupe 3	7,2 %	2,7%

Tableau 4. Incidence de diabète et d'évènements cardiovasculaires en fonction du schéma de prescription des statines.

	Nouveau cas de diabète HR, 95% CI	Evènements cardiovasculaires majeurs HR, 95% CI
Groupe 1	1,05 (0,84-1,30)	0,85 (0,65-1,12)
Groupe 2	1,19 (1,07-1,33)	0,66 (0,56-0,76)
Groupe 3	1,36 (1,16-1,59)	0,63 (0,50-0,81)

Tableau 5. Risque relatif de développement de diabète et d'évènements cardiovasculaires après ajustement des variables individuelles.

Avec ces tableaux, nous pouvons déduire que le bénéfice des statines sur la prévention des évènements cardiovasculaires majeurs augmente avec la durée de prise ainsi que l'observance. En revanche, on note aussi que l'incidence de diabète augmente avec la durée de prise de statine.

Cette étude indique donc que la prise de statine est associée à une augmentation du risque de diabète chez les sujets pré-diabétiques. L'effet bénéfique sur les événements cardiovasculaires majeurs et sur la mortalité surpasse ce risque. De plus, plus l'utilisation est précoce et persistante plus le bénéfice est important.

D'après l'étude de Sattar et al, les statines augmentent le risque diabétogène de 9%. Ce risque est proportionnel à la dose ingérée et est particulièrement augmenté chez les personnes souffrant de troubles métaboliques. Cependant, d'après Kang et al, chez les sujets pré-diabétiques, ce risque est amplifié de 20% par rapport aux patients ne prenant pas de statines. Quant à l'étude JUPITER, elle indique une augmentation du risque de diabète de 28% chez les sujets présentant au moins 1 facteur de risque.

Cette étude possède quelques points faibles :

- Tout d'abord, les informations personnelles telles qu'antécédent familial de diabète, résultats d'analyses, prise de tabac n'ont pas été fournis.
- De plus, les critères de diagnostic de diabète sont bien définis par le NHIRD (National Health Insurance Research Database) mais pas ceux du stade pré-diabétique. Il y a donc une possibilité que des sujets étant au tout début du stade diabétique aient pu être inclus au stade pré-diabétique.
- Enfin, la dose moyenne utilisée pendant l'étude est relativement plus faible que celle utilisée dans les essais cliniques. Cependant, la tendance proportionnelle de l'effet dose/diabète se retrouve. Ainsi on peut donc penser, que cet effet se retrouve aux doses normales utilisées.

f) Waters et al 2011(15)

Dans cette analyse regroupant 3 études (TNT, IDEAL, SPARCL), un examen de l'incidence de diabète ainsi que des prédicteurs de diabète est fait à partir d'une comparaison dont l'un des termes est l'atorvastatine.

L'étude TNT (Treating to New Targets) comparait en double aveugle atorvastatine 10 mg versus atorvastatine 80 mg, IDEAL (Incremental Decrease in End Points Through Aggressive Lipid Lowering) la simvastatine 20 mg versus atorvastatine 80 mg et SPARCL (Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels) l'atorvastatine 80 mg versus placebo.

Les critères de diagnostic de diabètes utilisés par Waters et al sont les suivants :

- 2 glycémies à jeun ≥ 7 mmol/L (126 mg/dl)
- Au moins 1 glycémie supérieure à 2 mmol/l au-dessus de la glycémie de base

Ces deux critères doivent être respectés. On retrouve donc le problème du critère diagnostic rencontré dans l'étude WOSCOPS et repris dans la méta analyse de Freeman et al. Il y a donc une augmentation du risque de développement de diabète non significative dans les groupes atorvastatine 80 mg pour TNT et IDEAL, respectivement HR 1,10 (95%CI 0,94-1,29) et HR 1,19 (95% CI 0,99-1,44). Malgré ce critère, dans l'étude SPARCL, le risque est significatif pour le groupe atorvastatine HR 1,34 (95% CI 1,05-1,071 ; p=0,018).

L'utilisation d'atorvastatine à forte dose semble être associée à une légère augmentation du développement de diabète. Cette augmentation de risque se retrouve principalement chez les sujets ayant des facteurs de risque. Les facteurs de risque identifiés sont les suivants :

- Glycémie à jeun > 5,6 mmol/L (1,00g/l)
- Triglycéridémie à jeun > 1,7mmol/L (1,50 g/L)
- IMC>30 kg/m²
- Antécédent d'hypertension artérielle

g) Waters et al 2013(16)

Dans cette étude, Waters et al compare l'incidence de nouveau diabète contre la réduction d'évènements cardiovasculaire parmi 15 056 patients avec une maladie coronarienne mais sans diabète à l'inclusion de deux études : TNT et IDEAL. Les évènements cardiovasculaires comprennent la mort suite à une maladie coronarienne, infarctus du myocarde, AVC et arrêt cardiaque.

Le résultat de cette étude est que l'atorvastatine à raison de 80 mg par jour n'augmente pas l'incidence de diabète parmi les patients ayant 0 ou 1 facteur de risque diabéto-gène. Cependant, chez les patients cumulant 2 à 4 facteurs de risques évoqués précédemment, cette incidence s'est retrouvée augmentée de 24 %. Encore une fois, le nombre d'évènements cardiovasculaires est significativement réduit avec de l'atorvastatine à raison de 80 mg dans les deux groupes de facteurs de risques.

h) Currie et al 2013 (17)

Currie et al ont publié une étude rétrospective à partir des prescriptions enregistrées dans le système de santé néo-zélandais. Le but de cette étude est d'étudier la fréquence des nouveaux diabètes chez des personnes à faible risque.

• Méthode

Les patients âgés de 40 à 60 ans sans prescription de metformine et étant sous l'une des classes médicamenteuses suivantes entre 2005 et 2011 sont inclus.

Les médicaments prescrits sont les suivants :

- Diclofénac : médicament contrôle
- Antihypertenseurs : diurétiques thiazidiques, β -bloquants, inhibiteurs de l'enzyme de conversion, antagonistes des récepteurs à l'angiotensine II et inhibiteurs calciques
- Statines

Le diclofénac est choisi comme médicament contrôle car il ne présente pas de risque diabétogène connu. Les antihypertenseurs sont répartis en deux groupes :

- Les diurétiques thiazidiques et les β bloquants (groupe TB) connus pour augmenter le risque de développement de diabète
- Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion, les antagonistes des récepteurs à l'angiotensine II (groupe AAC) et les inhibiteurs calciques dont l'effet diabétogène est moindre

Les critères d'exclusion sont les suivants :

- Patients sous antidiabétique oraux ou corticostéroïdes
- Patients étant sous un des médicaments impliqués dans l'étude avant 2005

La prescription de metformine entre 2006 et 2011 est le résultat mesuré par cette étude.

• Résultats

Les groupes formés sont résumés dans le tableau suivant :

Médicaments	Diclofénac	Antihypertenseurs du groupe TB	Antihypertenseurs du groupe AAC	Statines
Nombre de sujets	7140	5769	6565	12 612

Tableau 6. Répartition des groupes par Currie et al

Entre 2006 et 2011, 710 patients au total reçoivent leur première prescription de metformine.

Parmi eux, les patients sous statines ont le plus haut risque de prescription de metformine dans les 6 ans suivant la première exposition en comparaison au groupe contrôle diclofénac (HR 3,31 ; 95% CI 2,56 à 4,30 ; $p < 0,01$). Contrairement aux études pré-existantes, les patients du groupe AAC ont un risque modéré de prescription de metformine dans les 6 ans suivant la première exposition à une statine (HR 2,32 ; 95% CI 1,74 à 3,09 ; $p < 0,01$) et les patients du groupe TB ont un léger risque de prescription de metformine (HR 1,59 ; 95% CI 1,15 à 2,20 ; $p < 0,01$).

Une analyse des sous-groupes est faite afin de voir si d'autres caractéristiques individuelles viennent influencer la première prescription de metformine. Il n'y a pas de différence de risque en prenant en compte l'âge des patients. En revanche, en prenant en compte le facteur ethnique, les groupes des îles pacifiques et les asiatiques ont un risque plus élevé de prescription de metformine respectivement HR 3,57 (95% CI 2,63 à 4,85, $p < 0,01$) et HR 3,72 (95% CI 3,00 à 4,62 ; $p < 0,01$).

Cette étude montre donc bien que les patients sous antihypertenseurs ou statines ont un plus grand risque de développer le diabète que les personnes sous diclofénac. La prescription de statine représente le risque le plus élevé de développer le diabète (trois fois plus important que les patients prenant du diclofénac). Le lien entre statines et développement de diabète est donc retrouvé avec cette étude, mais le risque calculé est plus faible (3%) que celui rencontré dans les précédentes méta analyses (9% pour Sattar et al (12)).

Cette étude est la première comparant l'effet des statines avec d'autres médicaments de prévention d'évènements cardiovasculaires étant considérés comme ayant un effet diabéto-gène. Ceci est un point très important, car en prévention cardiovasculaire, les statines ne sont jamais prescrites seules. Il y a toujours une association avec des antihypertenseurs. Ainsi cette prescription associée peut modifier le résultat d'une étude sur le développement de diabète si cette association n'est pas prise en compte.

En revanche, l'analyse des résultats montre que le groupe AAC a un risque plus important de développer un diabète que le groupe TB. Cette différence peut s'expliquer par le fait que les patients présentant un risque important de diabète (patients obèses par exemple) sont plus susceptibles de prendre des inhibiteurs calciques, des inhibiteurs de l'enzyme de conversion ou des antagonistes des récepteurs à l'angiotensine II connu pour avoir un moindre effet diabéto-gène.

En conclusion, les patients sous statines ont un plus grand risque de développer un diabète en comparaison aux antihypertenseurs connus pour ce risque.

2) **IMPACT DES DIFFERENTES STATINES ET DES DOSES UTILISEES.**

Comme nous l'avons vu précédemment, les statines ont un effet diabétogène. Cependant, cet effet est-il un effet de classe ?

a) Baker et al 2010 (18)

Cet article a pour but d'évaluer si les statines ont un effet sur la sensibilité à l'insuline en tant que classe médicamenteuse ou si les statines ont des effets différents entre elles chez des patients n'étant pas diabétiques.

- Méthode

Cette méta analyse a inclus 16 études pour un total de 1 146 patients. Les critères d'inclusion de cette méta analyse sont les suivants :

- Les études doivent comparer la pravastatine, l'atorvastatine, la rosuvastatine ou la simvastatine à un groupe contrôle.
- Les études doivent publier les données sur la sensibilité à l'insuline. Cette sensibilité à l'insuline doit être mesurée par l'un des moyens suivants : clamp glycémique, test de tolérance au glucose par intraveineuse, modèle minimal, test d'élimination de l'insuline, QUICKI (Quantitative Insulin Sensitivity Check Index), HOMA (HOMEostasis Model Assesment), index de Matsuda, index de Stumvoll ou l'index d'Avignon.

Les études incluant des patients diabétiques sont exclues.

- Résultats

Les statines en tant que classe n'entraînent pas d'impact significatif sur la sensibilité à l'insuline. Cependant, la pravastatine serait la seule à améliorer cette sensibilité alors que l'atorvastatine, la rosuvastatine et la simvastatine détérioreraient la sensibilité à l'insuline.

Ces résultats se retrouvent-ils dans d'autres analyses ? Et si oui, y a-t-il une relation entre dose et durée d'exposition ?

b) Zaharan et al 2012 (19)

Cette étude avait pour but d'examiner l'incidence de diabète chez les patients traités par différentes statines et la relation entre durée d'exposition, dose et développement de diabète.

- Méthode

Une étude rétrospective est conduite en utilisant le service d'assurance maladie irlandais.

Les patients suivant une monothérapie des différents types de statines depuis le 1^{er} janvier 2002 et le 31 décembre 2007 sont inclus. Cette étude comporte 239 628 patients.

Les statines incluses dans l'étude sont l'atorvastatine, la pravastatine, la rosuvastatine, la simvastatine et la fluvastatine.

La durée d'exposition aux statines a été prise en compte. La dose cumulative totale dispensée pendant la période d'étude a été déterminée en utilisant la dose définie journalière (DDD : Defined Daily Dose) en accord avec la méthodologie de l'OMS. La dose définie journalière est la moyenne des doses journalières recommandées pour un médicament utilisé dans son indication principale. La DDD est une unité de mesure et ne reflète pas nécessairement la dose recommandée ou prescrite. La DDD est équivalente à 10 mg d'atorvastatine, 20 mg de pravastatine, 10 mg de rosuvastatine, 15 mg de simvastatine et 40 mg de fluvastatine.

Tous les patients sous statines sont suivis jusqu'à leur première prescription de traitement antidiabétique (antidiabétiques oraux ou insuline) ou jusqu'au 31 janvier 2009 chez ceux ne prenant pas de médicaments contre le diabète. Les patients ne prenant pas de statines sont considérés comme appartenant au groupe contrôle et le suivi se fait selon les mêmes termes que le groupe statines.

Les corticoïdes, diurétiques thiazidiques, les β -bloquants et les antipsychotiques sont considérés comme pouvant fausser les résultats puisqu'il y a un lien entre ces classes médicamenteuses et le développement de diabète. Leur prise concomitante est donc prise en compte pour les résultats.

- Résultats

Durant la période de l'étude, 19% des patients ont reçu des statines dont 6% sur plus de 24 mois. 5,9% des patients traités par statines ont débuté une médication antidiabétique contre seulement 2,5% des patients du groupe contrôle. Une augmentation du risque de développement de diabète a été trouvée chez le groupe prenant des statines (en comparaison au groupe placebo). Le plus gros risque se retrouve avec les monothérapies d'atorvastatine, simvastatine et rosuvastatine (la rosuvastatine étant celle présentant le plus grand risque) (tableau 7).

Statines	Nombre de diabètes (en %)	HR ajusté, 95% CI
Toutes statines	5,9	1,20 (1,17-1,23)***
Atorvastatine	4,7	1,25 (1,21-1,28)***
Pravastatine	6,5	1,02 (0,98-1,06) NS
Rosuvastatine	4,9	1,42 (1,33-1,52)***
Simvastatine	6,3	1,14 (1,06-1,23) p=0,00005
Fluvastatine	7,0	1,04 (0,91-1,18) NS

Tableau 7. Risque de développement de diabète selon les statines. HR avec 95% CI ajusté selon l'âge, le sexe, la prise de corticostéroïdes, d'antipsychotiques, d'antihypertenseurs, d'antidiabétiques oraux et d'autres agents hypolipémiants. *p<0,0001 ; NS : non significatif.**

Cette étude montre donc qu'il y a une augmentation de diabète chez les sujets sous statines mais que ce risque n'est pas significatif pour toutes les statines. En effet, l'incidence de diabète chez les personnes prenant de la fluvastatine et de la pravastatine n'est pas significative. Le risque est maximal pour la rosuvastatine, l'atorvastatine et la simvastatine. Cependant, en prenant les statines en tant que classe, le risque diabéto-gène est significatif.

Les effets dose et durée-dépendant sont mis en avant.

c) Carter et al 2013 (17)

Il s'agit d'une étude de cohorte basée sur la population ayant pour but d'évaluer la relation entre différentes statines et incidence de diabète. Cette étude s'est faite dans l'Ontario au Canada. Les statines concernées par cette étude sont la fluvastatine, la lovastatine, la pravastatine, la simvastatine, l'atorvastatine et la rosuvastatine.

- Méthode

Les critères d'inclusion sont les suivants :

- Sujets âgés d'au moins 66 ans, non diabétiques et ayant commencé une thérapie sous statines entre le 1^{er} août 1997 et le 31 mars 2010.

Les sujets diabétiques sont exclus de l'étude. Le résultat mesuré dans cette étude est l'incidence de diabètes définis par le diagnostic de diabètes enregistré dans l'« Ontario Diabetes Database ».

La pravastatine ayant démontré des effets protecteurs ou nuls sur le développement de diabète, le groupe pravastatine fera office de référence pour la comparaison avec les autres statines.

Les statines ont été classées de la façon suivante :

- Puissance

Puissance	Forte	Moyenne	Faible
Statines	Rosuvastatine Atorvastatine	Simvastatine	Fluvastatine Lovastatine Pravastatine

Tableau 8. Classification des statines par puissance.

- Doses

Statines	Rosuvastatine	Atorvastatine	Simvastatine	Fluvastatine Lovastatine Pravastatine
Doses fortes	D \geq 40 mg	D \geq 80 mg		
Doses moyennes	10 mg < D < 40 mg	20 mg < D < 80 mg	D \geq 80 mg	
Doses faibles	D < 10 mg	D < 20 mg	D < 80 mg	Toutes doses

Tableau 9. Classification des statines par doses. D : Dose.

Les sujets sont retirés de l'étude s'ils développent un diabète, si le traitement est suspendu ou modifié (changement de statines), ou après 5 ans de suivi.

- Résultats

Cette étude recense 471 250 patients sans historique de diabète qui sont nouvellement traités par une statine. Parmi eux, 48,3% des sujets prennent une statine en prévention primaire et 51,7% en prévention secondaire. Les statines les plus prescrites sont l'atorvastatine, suivie par la rosuvastatine, la simvastatine, la pravastatine, la lovastatine et la fluvastatine.

Une augmentation significative de risque de développement de diabète se retrouve chez les patients traités par la rosuvastatine, la simvastatine et l'atorvastatine en comparaison avec la pravastatine. En revanche, l'utilisation de la fluvastatine et de la lovastatine n'est pas associée à une augmentation d'incidence de diabète (tableau 10).

Statines	Risque relatif (95% CI)	Risque relatif ajusté* (95% CI)
Pravastatine	Référence	Référence
Atorvastatine	1,21 (1,15 à 1,28)	1,12 (1,05 à 1,18)
Rosuvastatine	1,21 (1,13 à 1,30)	1,01 (0,94 à 1,09)
Simvastatine	1,16 (1,09 à 1,24)	1,11 (1,04 à 1,18)
Fluvastatine	0,94 (0,80 à 1,10)	0,94 (0,80 à 1,11)
Lovastatine	0,96 (0,83 à 1,11)	0,99 (0,85 à 1,14)
Doses utilisées		
Dose faible	Référence	Référence
Dose modérée	1,26 (1,22 à 1,30)	1,22 (1,19 à 1,26)
Dose forte	1,39 (1,29 à 1,50)	1,30 (1,2 à 1,40)

Tableau 10. Incidence de diabète chez les utilisateurs de statines selon la statine et la dose utilisée. * Le risque relatif ajusté tient compte de l'âge, du sexe et de la prise simultanée de divers médicaments.

De plus, cette étude suggère que pour les patients âgés traités par des statines, le risque est plus important de développer un diabète sans tenir compte de la dose utilisée ou de l'indication (prévention primaire ou secondaire). Ce risque étant plus important avec l'atorvastatine, la rosuvastatine et la simvastatine. Carter et al suggèrent de privilégier la prescription de pravastatine chez les personnes à haut risque de diabète en prévention primaire d'évènements cardiovasculaires.

- Forces et limites de cette étude

La force de cette étude vient du large échantillon et de l'utilisation de la pravastatine comme groupe de référence. Cependant, cette étude n'a pas pu identifier les facteurs de risques important comme le poids, l'ethnie et l'historique familial. De plus, les analyses sanguines n'étaient pas disponibles rendant impossible la comparaison des concentrations lipidiques et des taux d'HbA1c.

d) Navarese et al 2012 (20)

Il s'agit d'une méta-analyse mesurant l'impact des différentes statines et des doses utilisées sur le développement de diabète.

- Méthode

Cette analyse s'est faite sur la base d'essais randomisés réalisés entre novembre 1994 et octobre 2012. Les critères d'inclusion sont les suivants :

- Essais cliniques randomisés chez les humains
- Essais comparant la prise de statines à fortes doses versus placebo
- Essais comparant la prise de statines à fortes et moyennes doses mais avec un troisième groupe placebo
- Essais rapportant l'incidence de diabète dans les groupes statines et placebo

Les critères d'exclusion sont les suivants :

- Essais dont le suivi est de moins d'un an
- Essais comprenant moins de 1 000 sujets

- Diagnostic

Les critères de diagnostic de diabète sont les suivants :

- Mise en place d'antidiabétiques oraux
- Glycémie à jeun supérieure à 7 mmol/l (une ou deux valeurs selon la fréquence des mesures durant les essais)

- Résultats

Au final, 17 études sont sélectionnées, regroupant ainsi un total de 113 394 patients. Parmi ces 17 études, 14 comparent une statine contre un placebo et 3 études comparent un groupe sous fortes doses de statines et un groupe sous doses moyennes de statines.

Voici un tableau résumant le classement des doses :

Statines	Fortes doses	Doses moyennes
Atorvastatine	80 mg	10 mg
Lovastatine	20 à 40 mg	Non renseigné
Rosuvastatine	20 mg	10 mg
Pravastatine	40 mg	10 à 20 mg
Simvastatine	40 mg	Non renseigné

Tableau 11. Classement des statines par dose.

Concernant les fortes doses de statines versus placebo:

- Le traitement par la rosuvastatine à raison de 20 mg par jour est associé à un risque de développement de diabète de 25% supérieur au groupe placebo.
- Les résultats d'une prise de simvastatine à raison de 40 mg par jour sont comparables à ceux obtenus avec la rosuvastatine.
- Pour l'atorvastatine à raison de 80 mg par jour, ce lien est moins évident.
- En revanche, la prise de 40 mg par jour de pravastatine est associée au plus faible risque de développement de diabète. Ce risque est presque comparable au groupe placebo.

Concernant les fortes doses de statines versus d'autres statines :

- La prise de 40 mg par jour de pravastatine est associée à une réduction de 16% du risque de développer un diabète en comparaison à une prise journalière de 20 mg de rosuvastatine.
- La prise journalière de 80 mg d'atorvastatine est associée à une réduction de risque de 8% en comparaison à une forte dose de rosuvastatine.

Concernant les doses moyennes de statines :

- À dose moyenne, la rosuvastatine présente toujours le plus grand risque de développement de diabète.
- Le risque lié à la prise de 10 mg d'atorvastatine est du même ordre que la prise d'une dose moyenne de rosuvastatine.
- En revanche la prise de 10 mg de pravastatine présente un risque plus faible en comparaison avec le groupe placebo.

Concernant la comparaison doses fortes versus doses moyennes :

- La prise de 20 mg par jour de rosuvastatine présente un risque de développement de diabète supérieur de 12 % en comparaison avec la prise de 10 mg par jour.
- La prise d'une forte dose de pravastatine est associée à une augmentation du risque de 7% en comparaison à une faible dose de pravastatine.
- Dans cette étude, il ne semble pas y avoir de différence significative de risque en fonction de la dose d'atorvastatine.

D'après cette étude, les statines devant être utilisées et présentant le moins de risque sont la pravastatine, suivi par l'atorvastatine, puis la simvastatine et la rosuvastatine.

Le résultat final de cette étude est qu'il existe un gradient de risque entre les différentes statines prescrites et les différentes doses. La pravastatine est associée au risque le plus faible alors que la rosuvastatine présente le plus haut risque de

développement de diabète. Cette conclusion rejoint celle de Koh et al (21) qui a montré que la rosuvastatine est plus puissante que la pravastatine dans la réduction du cholestérol mais est associée à des effets indésirables métaboliques comme une augmentation de la résistance à l'insuline et l'hémoglobine glyquée. De même, Zaharan et al (19) ont pu montrer que la rosuvastatine était associée au risque le plus important de développer le diabète parmi toutes les statines. Cependant, dans cette méta-analyse, le risque estimé de nouveau diabète est presque deux fois plus important que celui reporté dans la méta analyse de Sattar et al (12).

Pour toutes les statines, l'augmentation des doses est associée une augmentation du risque de diabète.

e) Preiss et al 2011(22)

Le but de cette méta analyse est d'étudier si l'effet des statines sur le diabète est le même suivant les doses utilisées.

• Méthode

Les données ont été récupérées à partir d'études randomisées conçues pour comparer l'efficacité des statines à fortes doses à celle des statines à doses moyenne sur la prévention des évènements cardiovasculaires.

Les critères d'inclusion de cette analyse sont les suivants :

- Essais cliniques comprenant au moins 1000 personnes avec un suivi moyen d'au moins 1 an
- Le suivi dans les groupes fortes et moyennes doses doit être suffisamment long pour diminuer le risque d'erreur statistique
- Etudes conduites entre le 1^{er} janvier 1996 et le 31 mars 2011

Au final, 5 études sont incluses dans cette analyse. Dans chacune d'elles, les auteurs ont fourni les données d'incidence du diabète (selon un questionnaire fourni par Preiss et al). Pour vérifier si certains groupes avaient une prédisposition à développer le diabète dans le groupe « forte dose de statines », les données telles que l'indice de masse corporelle, le taux de HDL (High-Density Lipoprotein), de cholestérol total, de triglycérides, l'âge et la glycémie à jeun avant et après les essais cliniques ont été récoltées.

Concernant les critères de diagnostic, les patients sont déclarés diabétiques si :

- Ils ont été diagnostiqués pendant les essais cliniques
- Un médicament anti diabétique est prescrit
- Deux glycémies à jeun sont supérieures à 126 mg/dl pendant l'essai

- Résultats

L'ensemble des cinq essais cliniques regroupe 32 752 patients avec un suivi moyen de 4,9 ans. Durant ce suivi, 2 749 participants (soit 8,4%) ont développé un diabète. Parmi eux, 1 449 étaient dans le groupe sous statines à fortes doses et 1 300 dans le groupe de dose modérée. 75% des diabètes ont été décrit par le commencement d'antidiabétiques oraux ou par le diagnostic d'un médecin, 8% par une glycémie à jeun élevée pendant l'essai et 17% par plus de ces deux critères.

Cette étude montre donc que l'utilisation des statines à fortes doses est associée à une augmentation du risque de diabète en comparaison avec la prise d'une dose moyenne (OR [Odd ratio] 1,12 ; 95%CI : 1,04-1,22). Cependant, les fortes doses de statines sont associées à un moindre risque d'évènements cardiovasculaires.

Dans ces essais, les groupes sont différents mais comparables, ainsi, cette analyse montre que le taux de réduction de LDL-cholestérol est plus important chez les sujets prenant 80 mg d'atorvastatine par jour que ceux prenant 80 mg de simvastatine. En revanche, le risque de développer le diabète est similaire à ces doses.

En conclusion, cette étude suggère qu'il y a un lien dose-dépendant entre statines et développement de diabète et que les médecins doivent surveiller la glycémie chez les personnes sous statines. Là encore, la balance bénéfice/risque penche en faveur de leur utilisation.

- Forces et limites de cette analyse

- Forces

Tout d'abord, toutes les données des études ont pu être incluses dans cette méta-analyse.

De plus, les données reçues ont permis l'analyse de sous-groupe dans les études. Enfin, cette analyse a fourni une comparaison entre risque de développement de diabète et bénéfices cardiovasculaires.

- Limites de cette analyse

Tout d'abord, différentes méthodes diagnostics de diabète ont été utilisées dans les essais cliniques, et ces essais n'avaient pas pour but de mesurer l'incidence de diabète. De plus, une seule étude mesurait régulièrement la glycémie à jeun. Ainsi, il est possible que dans certaines études, des diabètes n'aient pas été diagnostiqués. Ensuite, les 5 essais ont inclus des participants à haut risque cardiovasculaire et n'ont pas pris en compte les facteurs de risque de développement de diabète. Les résultats obtenus pourraient ne pas être généralisables à une population à haut risque de développement de diabète. Enfin, on ne peut exclure la possibilité qu'une thérapie à forte doses de statines causerait plus d'effets indésirables et conduirait à une prise en charge différente du patient en soins cliniques.

f) Koh et al 2009 (23)

Cette étude a pour but de voir si la simvastatine et la pravastatine ont le même effet métabolique chez les patients hypercholestérolémiques.

- Méthode

Il s'agit d'une étude en simple aveugle avec un groupe placebo comme groupe de contrôle.

Le critère d'inclusion de cette étude est un taux de LDL cholestérol supérieur ou égal à 130 mg/dl. Cette étude se déroule sur 2 mois. Les critères d'exclusion sont les suivants :

- Maladie du foie
- Insuffisance rénale chronique
- Hypothyroïdie
- Myopathie
- Diabète non équilibré
- Hypertension sévère, AVC, angor instable, infarctus du myocarde ou revascularisation coronaire dans les 3 derniers mois
- Sujets alcoolodépendants
- Sujets ayant pris un médicament hypocholestérolémiant, étant sous traitement hormonal ou sous supplémentation vitaminique antioxydante dans les 2 derniers mois.

Les caractéristiques de chaque patient sont résumées dans le tableau suivant :

Facteurs de risques	Groupe placebo (42 patients)	Groupe pravastatine 40 mg (42 patients)	Groupe simvastatine 20 mg (43 patients)
Tabac	6	7	7
Médicaments			
Antagoniste calcique	6	8	7

Tableau 12. Caractéristiques des patients.

- Résultats

La simvastatine et la pravastatine n'entraînent pas de modification significative de la glycémie après deux mois d'administration. Cependant, la simvastatine augmente significativement l'insulinémie après deux mois de traitement ($p=0,014$, $p<0,05$ représentant une valeur statistiquement significative).

La pravastatine n'entraîne pas d'augmentation de l'insulinémie. En revanche, en comparaison avec la pravastatine, l'augmentation de l'insulinémie par la simvastatine est significative ($p < 0,001$). De plus, la pravastatine augmente significativement les taux plasmatiques d'adiponectine et la sensibilité à l'insuline (respectivement $p = 0,011$ et $p = 0,008$)

La simvastatine diminue significativement la concentration plasmatique d'adiponectine ainsi que la sensibilité à l'insuline (respectivement $p = 0,012$ et $p = 0,007$). Or, il y a une corrélation inversement proportionnelle entre indice de masse corporelle et taux plasmatiques d'adiponectine. De plus, le surpoids et l'obésité sont des facteurs de risque de développer le diabète de type 2.

En conclusion, cette étude montre que la pravastatine et la simvastatine ont significativement réduit le taux de cholestérol total, de LDL-cholestérol et du rapport LDL/HDL. Seule la simvastatine augmente significativement l'insulinémie et diminue le taux plasmatique d'adiponectine.

g) Koh et al 2010(24)

Cette étude a pour but de voir si l'atorvastatine diminue la sensibilité à l'insuline et augmente la glycémie chez des patients hypercholestérolémiques.

- Méthode

Il s'agit d'une étude en simple aveugle randomisée avec un groupe atorvastatine et un groupe placebo. Cette étude se déroule sur 2 mois.

Le critère d'inclusion est un taux de LDL-cholestérol supérieur ou égal à 100 mg/dl. Les critères d'exclusion sont les suivants :

- Maladie du foie
- Insuffisance rénale chronique
- Hypothyroïdie
- Myopathie
- Diabète non équilibré
- Hypertension sévère, AVC, angor instable, infarctus du myocarde ou revascularisation coronaire dans les 3 derniers mois
- Sujets alcoolodépendants
- Sujets ayant pris un médicament hypocholestérolémiant, étant sous traitement hormonal ou sous supplémentation vitaminique antioxydante dans les 2 derniers mois

Les caractéristiques de chaque patient sont résumées dans le tableau suivant :

Facteurs de risques	Groupe placebo	Groupe atorvastatine 10 mg	Groupe atorvastatine 20 mg	Groupe atorvastatine 40 mg	Groupe atorvastatine 80 mg
Tabac	7	7	7	8	7
Syndrome métabolique	10	8	9	10	10
Diabète	9	10	9	10	8
Médicaments					
B-bloquants	10	12	12	13	11
Antagoniste calcique	5	6	8	7	6

Tableau 13. Caractéristiques des patients.

- Résultats

	Groupe atorvastatine 10 mg	Groupe atorvastatine 20 mg	Groupe atorvastatine 40 mg	Groupe atorvastatine 80 mg
Taux d'HbA1c	↗ 2%	↗ 5%	↗ 5%	↗ 5%
Insulinémie à jeun	↗ 25%	↗ 42%	↗ 31%	↗ 45%
Sensibilité à l'insuline	↘ 1%	↘ 3%	↘ 3%	↘ 4%

Tableau 14. Effets statistiquement significatifs de la prise d'atorvastatine en comparaison au groupe placebo.

Il est à noter que les effets de l'atorvastatine versus placebo dans le groupe des patients sans syndrome métabolique ou diabète de type 2 ne sont pas significativement différents de ceux du groupe de patients avec syndrome métabolique ou diabète de type 2.

Dans cette étude, le taux d'HbA1c est significativement augmenté chez les patients traités par l'atorvastatine. Cette augmentation s'accompagne d'une augmentation d'insulinémie à jeun, et d'une réduction de la sensibilité à l'insuline (tableau 14). D'après Koh et al, ces résultats suggèrent que l'atorvastatine entraîne une intolérance au glucose due en partie à la diminution de la sensibilité à l'insuline. En effet, le taux élevé d'HbA1c est le reflet d'une intolérance au glucose et cette intolérance résulte d'une diminution de la sensibilité à l'insuline et/ou de la sécrétion d'insuline.

En conclusion, cette étude montre que le traitement par atorvastatine entraîne une augmentation de l'HbA1c et de l'insulinémie à jeun pouvant mener à une intolérance au glucose et à une insulino-résistance.

h) Ishikawa et al 2005(25)

Le but de cette étude est d'évaluer les effets de la pravastatine (statine hydrophile) et de l'atorvastatine (statine lipophile) sur le métabolisme glucidique et lipidique chez des patients non diabétiques avec une hypercholestérolémie.

- Méthode

Un total de 44 patients souffrant d'hypercholestérolémie et non diabétiques font partie de cette étude. Les sujets sont traités soit par de l'atorvastatine (5 à 10 mg) soit par de la pravastatine (5 à 10 mg). Le statut « non-diabétique » des sujets est défini par les critères de l' « American Diabetic Association » suivants :

- Glycémie à jeun inférieure à 125mg/dl
- Taux d'HbA1c inférieur à 5,8%

Les glycémies à jeun, le taux d'HbA1c, le taux de cholestérol total, le taux de LDL, de HDL et de triglycérides dans le sérum sont relevés avant et après les traitements par atorvastatine et pravastatine pendant une période de $9,7 \pm 0,7$ mois (tableau 15).

	Pravastatine	Atorvastatine	Valeur de p
Nombre de patients	21	23	
Age	69±2	72±12	0,87
Sexe (homme/femme)	12/2	10/13	0,37
Hypertension	15	18	0,61
Pathologie ischémique cardiaque	14	16	0,84
Prise de sartans	11	8	0,25
Prise d'inhibiteur calcique	9	12	0,38
Prise de β bloquants	6	8	0,70
Prises de diurétiques	3	6	0,34
Glycémie à jeun (mg/dl)	109,1±3,76	114,6±4,2	0,33
Taux d'Hba1c (%)	5,2±0,1	5,2±0,1	0,74

Tableau 15. Résumé des caractéristiques des patients à l'entrée de l'étude. Une valeur de $p < 0,05$ montre une différence significative.

- Résultats

En comparant les valeurs pré et post-traitement, les glycémies à jeun sont significativement réduites ($p=0,015$) dans le groupe pravastatine alors que celles du groupe atorvastatine ne sont pas significativement différentes. En revanche, le taux d'HbA1c dans le groupe atorvastatine est significativement augmenté ($p<0,0001$) mais pas dans le groupe pravastatine.

Cette étude met en avant le fait que la pravastatine pourrait avoir un effet bénéfique alors que l'atorvastatine aurait un effet opposé sur le métabolisme du glucose chez les patients hypercholestérolémiques non diabétiques. En revanche, l'atorvastatine exerce une activité hypocholestérolémiante plus importante que la pravastatine.

D'après Ishikawa et al, l'effet protecteur de la pravastatine pourrait s'expliquer par plusieurs hypothèses :

- La pravastatine entraîne une diminution de la triglycéridémie ce qui pourrait contribuer à la prévention du développement de diabète
- La pravastatine inhibe la production de TNF- α (Tumor Necrosis Factor α) et d'IL-6 (interleukine 6), cytokines pro-inflammatoires responsable du syndrome métabolique et de l'insulinorésistance

E. MECANISMES POTENTIELS DE L'EFFET DIABETOGENE DES STATINES

Plusieurs cibles des statines sont envisagées pour expliquer l'effet diabétogène mis en évidence dans les études décrites précédemment. D'une part, les statines vont avoir une influence sur la sécrétion d'insuline en agissant sur les canaux calciques voltage-dépendants des cellules β du pancréas. D'autre part, les statines pourraient également être impliquées dans les mécanismes d'insulinorésistance. En effet, les statines semblent diminuer la sensibilité des tissus périphériques à l'insuline en diminuant la production d'intermédiaires formés lors de la synthèse du cholestérol : les isoprénoides. Il s'agit plus particulièrement du GGPP (GéranylGéranylPyroPhosphate), isoprénoïde permettant l'activation de petites protéines G Rho. Ces deux mécanismes potentiels sont décrits dans les paragraphes ci-dessous.

1) CANAUX CALCIQUES VOLTAGE-DEPENDANTS DANS LES CELLULES B

Comme nous l'avons vu précédemment, la sécrétion d'insuline est principalement contrôlée par l'augmentation de la concentration intracellulaire de calcium dans les cellules β des îlots de Langerhans. Ainsi, le blocage des canaux calciques voltage-dépendants pourrait entraîner une diminution de cette sécrétion d'insuline. Un effet des statines sur ces canaux calciques a été identifié dans plusieurs études présentées ci-dessous.

a) Yada et al, 1999 (26)

Cette étude a pour but d'observer les effets de la simvastatine et de la pravastatine sur la sécrétion d'insuline. Des cellules pancréatiques en culture ont donc été soumises à ces statines et la concentration de calcium intracellulaire ainsi que la sécrétion d'insuline ont été mesurées.

Nous verrons dans un premier temps l'effet de ces deux statines sur la sécrétion d'insuline, puis leurs effets sur l'augmentation de la concentration intracellulaire de calcium menant à cet effet.

- Résultats

- Effets de la simvastatine et de la pravastatine sur la sécrétion d'insuline induite par le glucose dans les îlots du pancréas.

La sécrétion d'insuline par les îlots de rat est stimulée par 8,3 mM de glucose in vitro. Cette sécrétion est significativement réduite en présence de 0,3 $\mu\text{g/ml}$ de simvastatine. En revanche, la concentration de 100 $\mu\text{g/ml}$ de pravastatine n'affecte pas la sécrétion d'insuline (figure 1, la simvastatine acide : Simva-a n'est pas traitée).

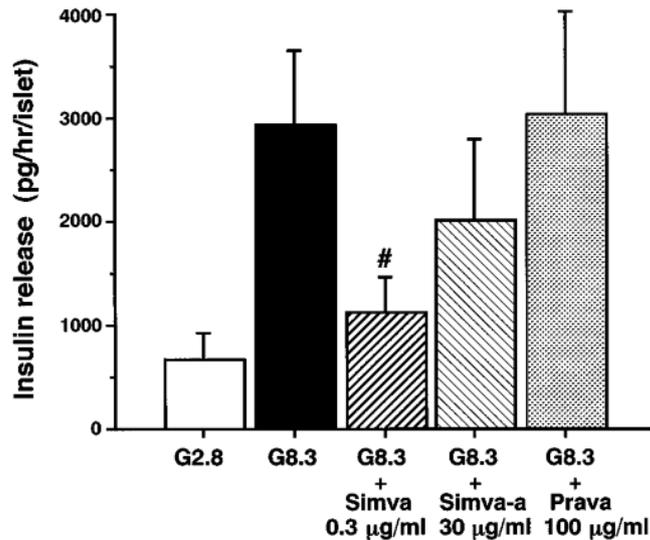


Figure 1. La simvastatine (Simva), mais pas la pravastatine (Prava), inhibe la sécrétion d'insuline stimulée par le glucose dans les îlots de Langerhans du pancréas de rat. La sécrétion d'insuline, stimulée par 8,3 mM de glucose (G8.3), est inhibée par 0,3 µg/ml de simvastatine. La pravastatine à raison de 100 µg/ml n'a pas d'effet sur la sécrétion d'insuline induite par le glucose. Les résultats sont exprimés comme la moyenne de 6 expériences ± SEM (Standard Error of the Mean). # : $p < 0,05$ versus groupe 8,3 mM de glucose et versus groupe pravastatine. Source : (27)

- Effets de la simvastatine et de la pravastatine sur la concentration intracellulaire de calcium dans une cellule β

En présence de 0,3 µg/ml de simvastatine, le pic d'ions calciques intracellulaire lors de la stimulation des cellules β par 8,3 mM de glucose diminue comparativement au groupe de cellules n'ayant pas été exposées à la simvastatine. De même, en présence de 3 µg/ml de simvastatine, la stimulation des cellules par 8,3 mM de glucose n'entraîne aucune augmentation de concentration en ions calcium (figure 2). En revanche, l'éviction de la simvastatine et la nouvelle stimulation de la cellule par 8,3 mM de glucose entraîne un pic de concentration en ions calciques comparable au groupe contrôle. Cela montre donc que l'inhibition est dose-dépendante et réversible.

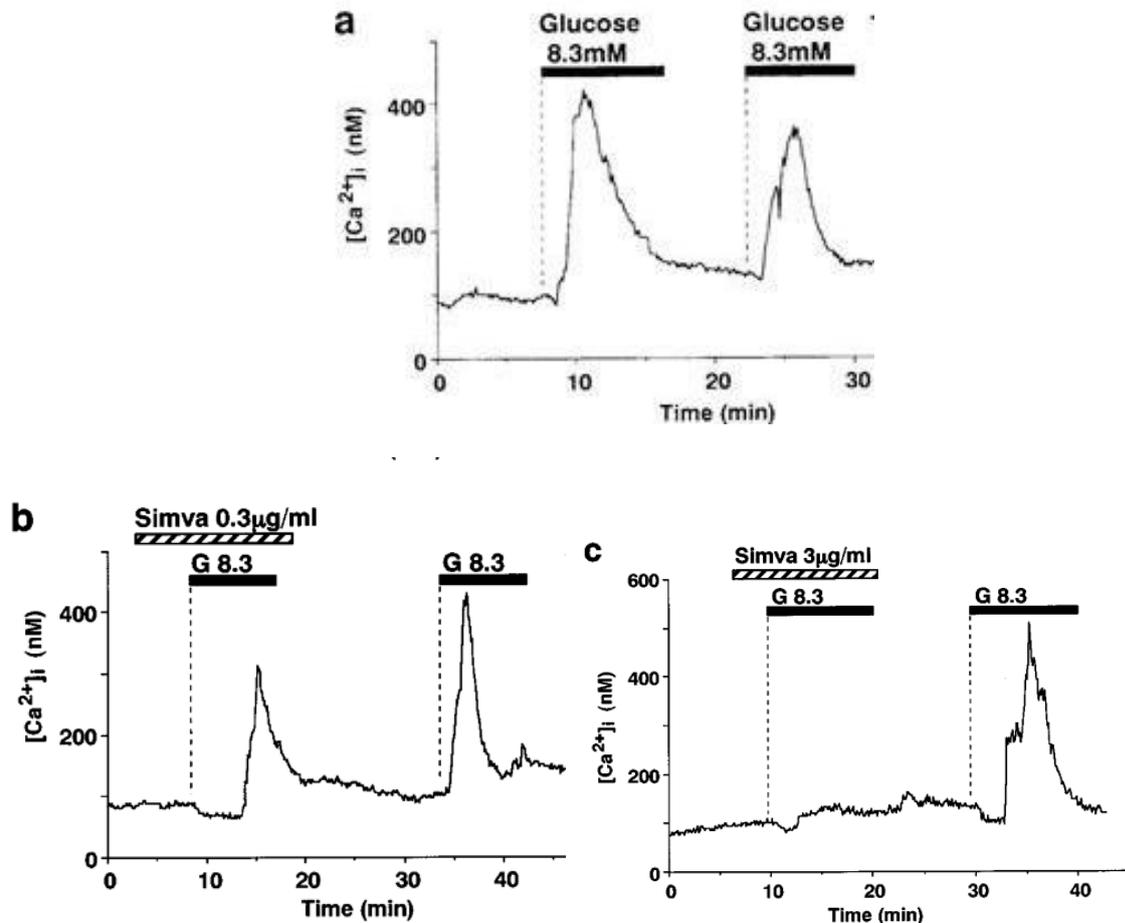


Figure 2. Influx calcique induit par le glucose et inhibition de cet influx par la simvastatine dans les cellules β isolées. (a), une augmentation de 2,3 à 8,3 mM en perfusion permet l'augmentation de la concentration de Ca^{2+} dans les cellules pancréatiques β ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) du pancréas de rat. La majorité des cellules répondent à deux stimulations successives par 8,3 mM de glucose (G8.3) par une augmentation de la concentration de Ca^{2+} de manière identique. En présence de simvastatine à des concentrations de 0,3 $\mu\text{g/ml}$ (b) et 3 $\mu\text{g/ml}$ (c), la phase d'augmentation est diminuée puis abolit respectivement. Après éviction de la simvastatine, cette phase est restaurée lors d'une nouvelle stimulation par 8,3 mM de glucose. Les lignes en pointillés marquent le début d'exposition. La concentration de glucose au départ est de 2,8 mM. Les résultats sont représentatifs de 14 cellules pour (a), six pour (b) et 10 pour (c). Source : (27)

Cependant, l'exposition de la cellule à la pravastatine, à une concentration de l'ordre de 100 $\mu\text{g/ml}$, n'entraîne aucun changement vis-à-vis de la concentration calcique atteinte lors de la stimulation par du glucose (figure 3).

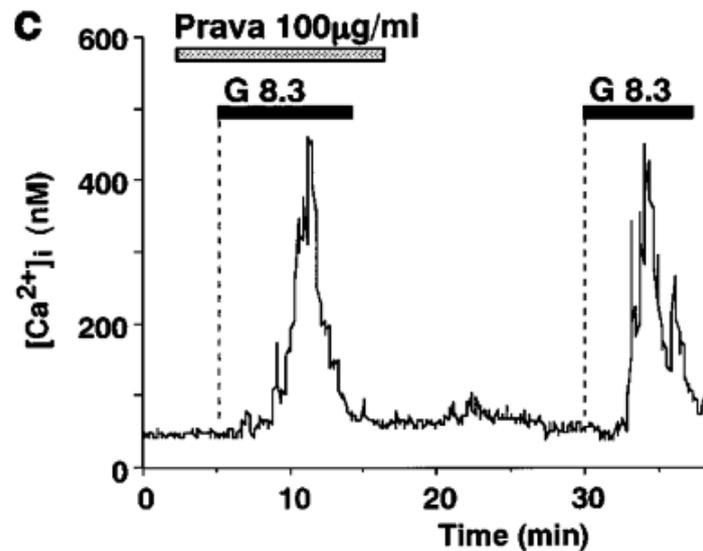


Figure 3. La pravastatine n'inhibe pas l'augmentation de la concentration intracellulaire de calcium ($[Ca^{2+}]_i$) dans les cellules β du pancréas de rat. La pravastatine à 100 $\mu\text{g/ml}$ n'a pas d'effet sur la concentration de Ca^{2+} en réponse à une stimulation par 8,3 mM de glucose (G8.3). Les résultats sont représentatifs de 17 cellules. Source : (27)

La simvastatine inhibe donc l'augmentation intracellulaire de calcium dans les cellules β du pancréas. Or, cette augmentation est nécessaire à l'exocytose d'insuline. Ainsi, l'inhibition de la concentration intracellulaire de calcium par la simvastatine conduit à une inhibition de la sécrétion d'insuline.

- Effets de la simvastatine et de la pravastatine sur les canaux calciques dans les cellules β

Nous avons vu précédemment que l'augmentation de la concentration intracellulaire de calcium dans les cellules β du pancréas est due principalement à l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants. Ainsi cette étude a observé l'effet des statines sur le courant calcique et la dépolarisation des cellules β du pancréas. La dépolarisation est mesurée dans une solution contrôle stimulée par 2,8 mM de glucose. Le courant évolue de -70 mV à 0 mV (figure 4a). Suite à l'exposition de la solution à 3 $\mu\text{g/ml}$ de simvastatine, le courant décroît rapidement (figure 4b) et après l'éviction de la simvastatine, le courant est partiellement restauré (figure 4c). De plus, l'amplitude du courant est modifiée mais pas la durée d'activation. Cela pourrait évoquer une inhibition persistante. Cependant, les auteurs n'en disent pas plus. En revanche, l'ajout de pravastatine à 100 $\mu\text{g/ml}$ n'a entraîné aucun effet sur le courant calcique.

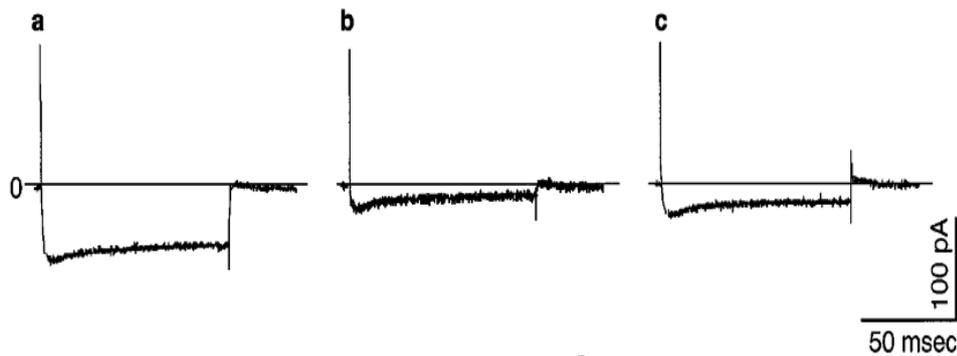


Figure 4. La simvastatine inhibe le courant calcique dans les cellules β du pancréas de rat. Le courant calcique total de la cellule est représenté avant (a), pendant (b) et après l'exposition 3 $\mu\text{g/ml}$ de simvastatine (c). Ces résultats sont représentatifs de cinq cellules. Source : (27).

- Discussion

Les résultats de cette étude montrent que la simvastatine inhibe la sécrétion d'insuline induite par le glucose alors que la pravastatine n'a aucun effet sur cette sécrétion. Cette inhibition se fait en diminuant la concentration intracellulaire de calcium via le blocage des canaux calciques voltage-dépendants (schéma 3).

En revanche, dans cette étude, l'inhibition de la sécrétion d'insuline par la simvastatine se manifeste à partir de 0,1 $\mu\text{g/ml}$. Or, d'après une étude recensée par Yada et al (Koga et al en 1995 «Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of pravastatin and simvastatin »), lors de l'administration par voie orale de simvastatine, la concentration de simvastatine et de ses métabolites actifs dans le sérum atteint à peine 0,01 $\mu\text{g/ml}$. Cependant, comme les statines sont utilisées sur une période de plusieurs années, l'effet inhibiteur de la simvastatine pourrait s'appliquer à des concentrations plus faibles quand elle est utilisée de façon chronique.

De plus, toujours d'après cette étude, il est possible que chez les patients métaboliseurs lents, ou souffrant de dysfonctionnements rénaux ou hépatiques, les concentrations en simvastatine dépassent la concentration de 0,01 $\mu\text{g/ml}$.

En conclusion, cette étude a donc montré que l'inhibition de la sécrétion d'insuline par la simvastatine via le blocage des canaux calciques voltage-dépendants pourrait mener au développement d'un diabète de type 2. Cette étude datant de 1999 précise bien que ces résultats doivent être approfondis et que plus d'études doivent être réalisées.

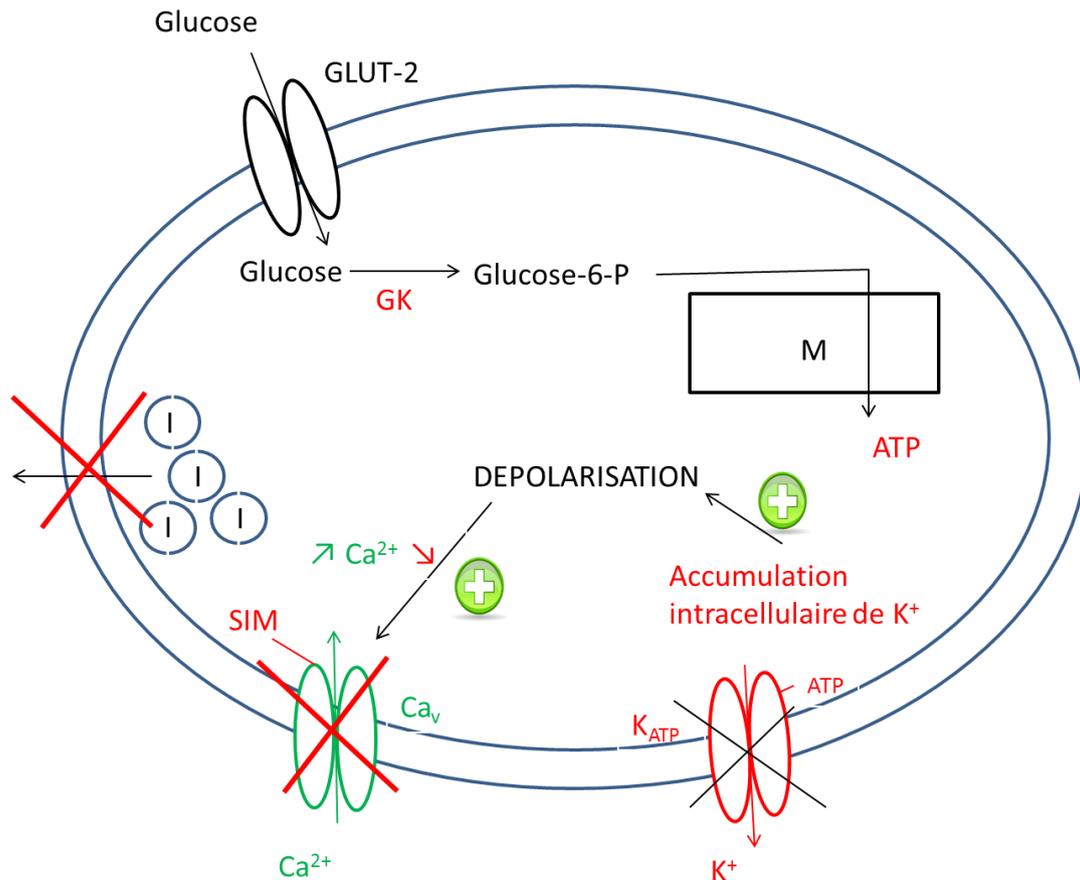


Schéma 3. Effet de la simvastatine (SIM) dans la cellule β du pancréas. La simvastatine entraîne la fermeture des canaux calciques voltage-dépendants (Ca_v) ce qui a pour conséquence la diminution de concentration intracellulaire de calcium (Ca^{2+}) et une diminution de l'exocytose d'insuline (I) lors d'une stimulation de la cellule par du glucose.

b) Xia et al 2008 (28)

Xia et al ont par la suite confirmé que l'inhibition du courant calcique jouait un rôle clé dans l'inhibition de la sécrétion d'insuline.

D'après leur étude faite sur des îlots pancréatiques isolés de souris, la déplétion en cholestérol mène à la diminution de ce courant calcique et donc à l'inhibition de la sécrétion d'insuline. Pour illustrer cela, l'étude a utilisé le composé NB958, qui est un inhibiteur de la squalène epoxydase, dernière enzyme menant à la synthèse du cholestérol. L'étude a montré que la déplétion chronique de cholestérol altère la sécrétion d'insuline et inhibe le courant calcique. Etant donné que les statines entraînent, elles aussi, une diminution de la concentration en cholestérol, leurs effets sont similaires au composé NB958.

Ainsi, cette étude montre bien le lien entre déplétion en cholestérol et diminution de la sécrétion d'insuline via une diminution du courant calcique dans les cellules du pancréas. Nous verrons par la suite, que la diminution de synthèse de cholestérol entraîne également une diminution de la production d'ATP (Adénosine

TriPhosphate). Or, l'ATP est essentiel pour la fermeture des canaux potassiques ATP-dépendants permettant la dépolarisation et l'ouverture des canaux calciques voltage-dépendants. Il s'agit donc d'un autre mécanisme indirect jouant sur l'activité des canaux calciques voltage-dépendants.

2) ISOPRENOIDES, GLUT-4, MATURATION D'ADIPOCYTES

Comme évoqué précédemment, le diabète de type 2 n'est pas seulement le fait d'un défaut de sécrétion d'insuline mais aussi d'une résistance à l'insuline de certains tissus tels que les muscles et les adipocytes. L'insulinorésistance induite par les statines pourrait se développer à cause de plusieurs acteurs comme le GGPP et les protéines Rho.

a) Luke H Chamberlain 2001 (29)

Dans cette étude, Chamberlain étudie l'effet de la lovastatine sur la régulation du transporteur GLUT-4 dans les cellules 3T3-L1, une lignée pré-adipocytaire obtenue à partir d'embryons de souris Swiss 3T3. Elle permet d'étudier la différenciation en adipocytes. Cette étude montre que le traitement de ces cellules par la lovastatine entraîne la diminution de l'expression des transporteurs GLUT-4 au niveau de la membrane des adipocytes. Les effets de la lovastatine sont inhibés par l'ajout de mévalonate, précurseur des isoprénoides. Ainsi, la diminution de l'expression des transporteurs GLUT-4 au niveau de la membrane plasmique des adipocytes par la lovastatine pourrait conduire à une insulinorésistance puis à un diabète de type 2.

b) Takaguri et al 2008 (30)

Nous rappelons que la signalisation activée par l'insuline en se fixant sur son récepteur induit une voie de signalisation conduisant à la translocation du transporteur GLUT-4 du cytoplasme à la membrane. Les différents acteurs participant à cette voie de signalisation sont IRS-1, RhoA, Rho kinase (effecteur de RhoA modulant l'activité d'IRS-1), PI3K, Akt et Rab4.

Dans cette étude, les auteurs évaluent les effets de l'atorvastatine et de la pravastatine sur la capture du glucose et la transduction du signal de l'insuline dans les adipocytes 3T3-L1. Ce n'est pas la seule étude suggérant que les statines détériorent les fonctions de l'insuline. En effet, comme nous allons le voir, l'HMG-CoA réductase permet la formation de GGPP permettant l'activation de petites protéines G impliquées dans la transduction du signal de l'insuline.

- Résultats

- Capture du glucose et expression du transporteur GLUT-4 au niveau de la membrane plasmique des adipocytes.

Après exposition des cellules à 1 μM d'insuline pendant 10 minutes, le taux de 2-deoxyglucose dans la cellule est mesuré. Le 2-deoxyglucose est un analogue du glucose, qui une fois phosphorylée par l'hexokinase, ne peut être dégradé par la voie de la glycolyse. Il s'agit donc d'un bon marqueur pour évaluer la capture du glucose. En effet le 2-deoxyglucose pénètre dans la cellule via le même transporteur que le glucose.

Le prétraitement de ces cellules pendant 72 heures avec 10 μM d'atorvastatine entraîne une diminution de la capture de 2-déoxyglucose alors que le prétraitement par la pravastatine n'a aucun effet (figure 5).

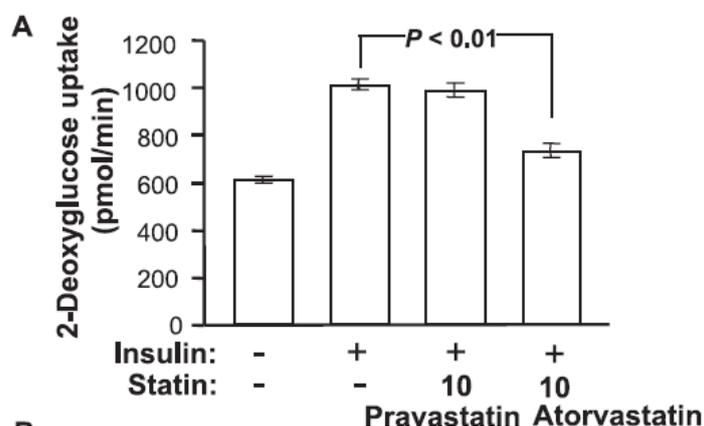


Figure 5. Effets de la pravastatine et de l'atorvastatine sur la capture du glucose après exposition des adipocytes 3T3-L1 à de l'insuline. Après prétraitement des adipocytes avec de la pravastatine (10 μM) ou de l'atorvastatine (10 μM) pendant 72 heures, les cellules sont exposées à 1 μM d'insuline pendant 10 minutes. Après lavage, la concentration de 2-deoxyglucose est mesurée. Les résultats sont la moyenne \pm SEM de 3 observations. Source : (30).

Par la suite, cette étude a détecté l'expression du transporteur GLUT-4 au niveau de la membrane plasmique des adipocytes après fractionnement de cette membrane et utilisation d'anticorps anti-GLUT-4. La technique utilisée est le Western blotting. Les pré-traitements des cellules par 1,5 et 10 μM d'atorvastatine pendant 72 heures ont fait chuter la présence de transporteur GLUT-4 au niveau de la membrane lors d'une stimulation par insuline. Là encore, la pravastatine n'exerce aucun effet significatif (figure 6).

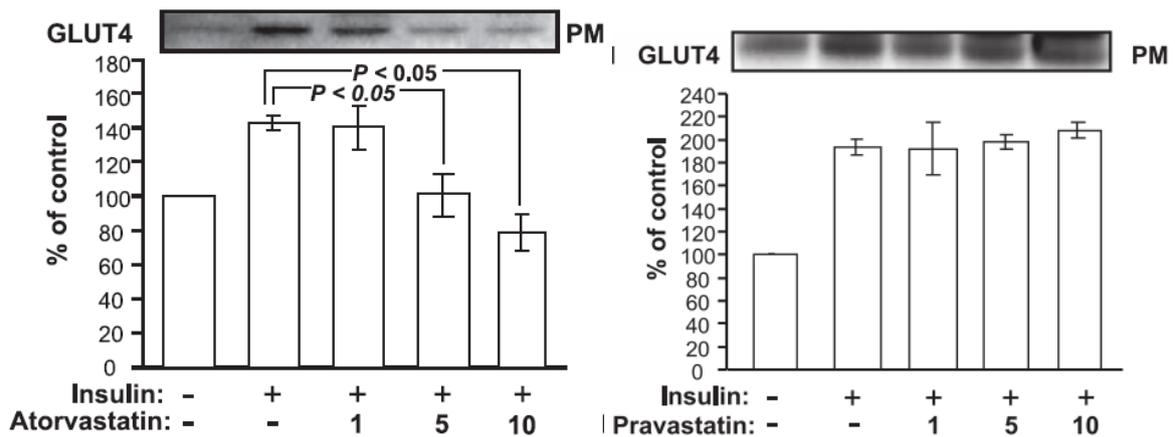


Figure 6. Effets de la pravastatine et de l'atorvastatine sur l'expression de GLUT-4 au niveau de la membrane plasmique (PM) après exposition des adipocytes 3T3-L1 à de l'insuline. Après un prétraitement des adipocytes pendant 72 heures par 1,5 ou 10 μM de pravastatine ou d'atorvastatine, les cellules sont exposées à 0,1 μM d'insuline pendant 30 minutes. La membrane plasmique est fractionnée et le taux de GLUT-4 est déterminé par Western blotting en utilisant des anticorps anti-GLUT-4. Le taux de transporteur GLUT-4 est exprimé en pourcentage du taux des cellules non traitées (moyenne \pm SEM de 3 observations). Source : (30).

D'après ces résultats, nous pouvons déduire que l'atorvastatine a un effet inhibiteur sur la translocation des transporteurs GLUT-4 du cytoplasme vers la membrane plasmique diminuant ainsi la capture du glucose. Il reste maintenant à déterminer à quelle étape de la signalisation intracellulaire l'atorvastatine intervient.

- Distribution intracellulaire de la protéine Rab4

Rab4 est une petite protéine G qui est inactivée au repos et se trouvant au niveau des membranes des vésicules contenant les transporteurs GLUT-4.

L'exposition des adipocytes à 0,1 μM d'insuline pendant 30 minutes n'affecte pas l'expression de la protéine Rab4 à la membrane plasmique ou dans le cytosol.

En revanche, le prétraitement par 1,5 ou 10 μM d'atorvastatine pendant 24 heures diminue le taux de Rab4 présent au niveau de la membrane et augmente la fraction cytosolique de façon dose-dépendante. Ces différences de taux avec les cellules non pré-traitées sont statistiquement significatives (à 5 et 10 μM d'atorvastatine). En revanche, l'ajout simultané d'acide mévalonique change complètement la distribution intracellulaire de Rab4, en inhibant les effets de l'atorvastatine (figure 7). Cet effet réversible suite à l'ajout d'acide mévalonique souligne le fait que l'action des statines sur la protéine Rab4 n'est pas directe mais est due à une diminution de métabolites obtenus lors de la synthèse de cholestérol.

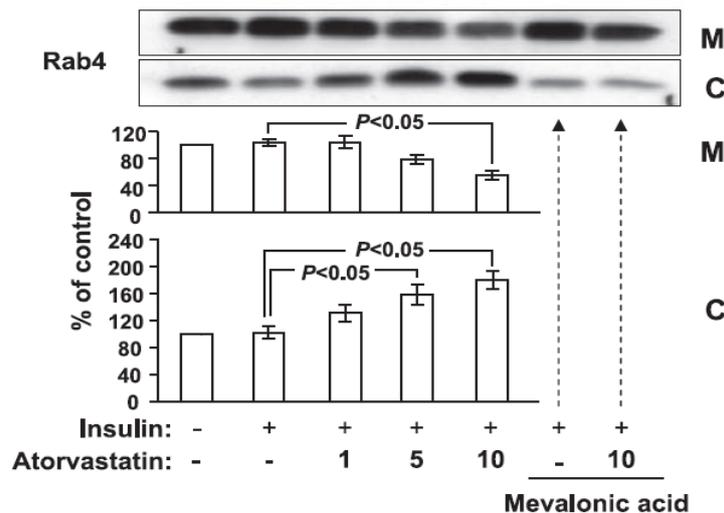


Figure 7. Effets de l'atorvastatine sur la distribution cellulaire de Rab4 en présence d'insuline. Après prétraitement des adipocytes 3T3-L1 par 1, 5 ou 10 μM pendant 24 heures, les cellules sont exposées à 0,1 μM d'insuline pendant 30 minutes. Les cellules sont fractionnées en fraction de membrane plasmique (M) et cytosol (C). Le taux de Rab4 est déterminé par Western blotting en utilisant des anticorps anti-Rab4 et est exprimé en pourcentage de variation par rapport au contrôle (cellules non traitées). L'effet de l'atorvastatine sur la distribution cellulaire de Rab4 est inhibé par l'ajout de 10 μM d'acide mévalonique (à droite). Source : (30).

Ainsi, la diminution de l'expression des transporteurs GLUT-4 au niveau de la membrane plasmique est due à l'augmentation des taux de Rab4 dans le cytosol.

- Distribution intracellulaire de RhoA

Pendant cette expérience, l'exposition des adipocytes à 0,1 μM d'insuline n'influence pas la distribution de RhoA au niveau de la membrane ou du cytosol. La pravastatine ne modifie pas cette distribution.

En revanche, le prétraitement des cellules par l'atorvastatine pendant 24 heures entraîne une diminution de l'expression de RhoA au niveau de la membrane plasmique et au contraire augmente sa présence dans le cytosol de façon concentration-dépendante. Ces modifications sont statistiquement significatives en comparaison aux cellules non traitées par l'atorvastatine (figure 8).

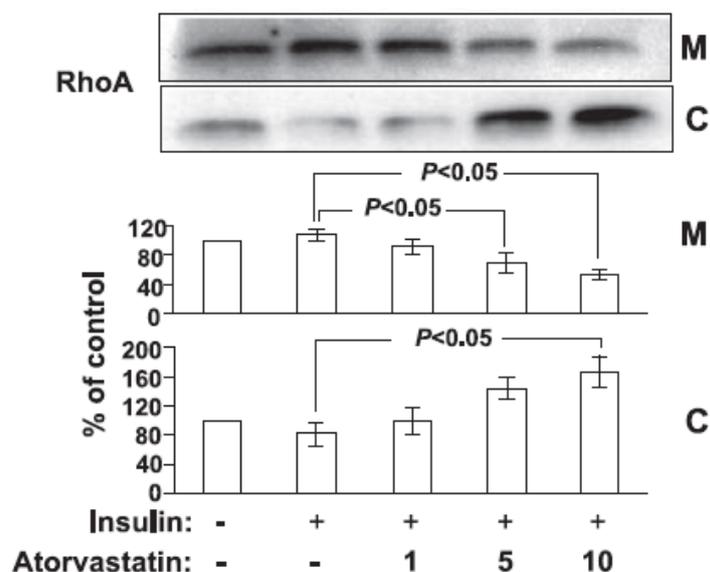


Figure 8. Effets de l'atorvastatine sur la distribution cellulaire de RhoA en présence d'insuline. Après le prétraitement des adipocytes 3T3-L1 par 1, 5 ou 10 μM d'atorvastatine pendant 24 heures. Le taux de protéine RhoA est déterminé par Western blotting au niveau de la membrane plasmique (M) et du cytosol (C). Le taux de RhoA est exprimé en pourcentage des cellules contrôles. Source : (30).

- Phosphorylation d'IRS-1 et d'Akt

L'exposition des adipocytes à 0,1 μM d'insuline augmente la phosphorylation d'IRS-1. Lors d'un prétraitement par 1, 5 et 10 μM d'atorvastatine, la phosphorylation d'IRS-1 décroît de façon concentration-dépendante alors qu'aucun effet n'est constaté lors de l'exposition des adipocytes à la pravastatine (figure 9).

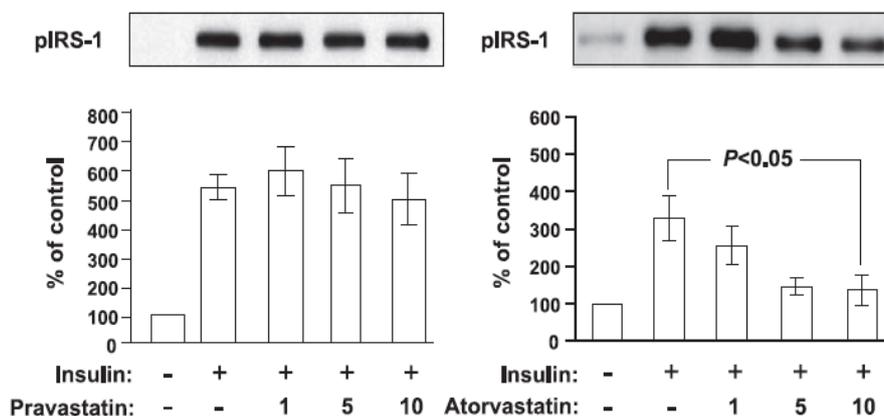


Figure 9. Effets de la pravastatine et de l'atorvastatine sur la phosphorylation d'IRS-1 induite par l'insuline. Après prétraitement des adipocytes 3T3-L1 par 1, 5 ou 10 μM de pravastatine ou d'atorvastatine pendant 24 heures, les cellules sont exposées à 0,1 μM d'insuline pendant 5 minutes. La totalité de la cellule lysée est précipitée et le pourcentage de phosphorylation d'IRS-1 est déterminé par Western blotting. Le taux d'IRS-1 phosphorylé est exprimé en pourcentage d'IRS-1 phosphorylé dans les cellules non traitées (moyenne \pm SEM de 3-4 observations indépendantes). Source : (30).

La phosphorylation d'Akt sur des sérines/thréonines a aussi été examinée. En effet, l'activation d'Akt se fait via la phosphorylation de deux sites : la serine 473 (Ser473) et la thréonine 308 (Thr308) par la PDK1 (31).

L'exposition des adipocytes à 0,1 μ M d'insuline induit la phosphorylation des résidus serine/thréonine d'Akt alors que l'exposition des adipocytes à l'atorvastatine diminue cette phosphorylation de façon concentration dépendante. Là encore, la pravastatine n'a aucun effet sur ces phosphorylations (figure 10).

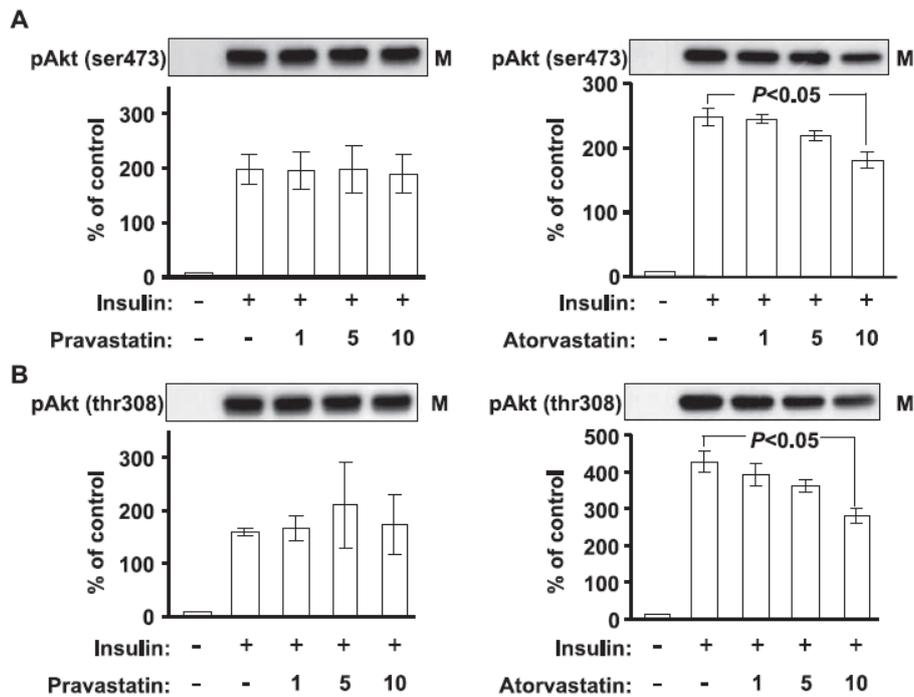


Figure 10. Effets de la pravastatine et de l'atorvastatine sur la phosphorylation de la serine et la thréonine d'Akt dans une fraction membranaire induite par l'insuline. Après un prétraitement des adipocytes 3T3-L1 par 1,5 ou 10 μ M de pravastatine ou d'atorvastatine pendant 24 heures, les cellules sont exposées à 0,1 μ M d'insuline pendant 10 minutes. Dans la fraction membranaire (M), la phosphorylation de la serine (A) et la thréonine (B) d'Akt est déterminé par Western blotting en utilisant des anticorps anti-phospho-Akt (308) et anti-phospho-Akt (473). Le taux d'Akt phosphorylé est exprimé en pourcentage d'Akt phosphorylé dans les cellules non traitées (moyenne \pm SEM de 3-4 observations indépendantes). Source : (30).

- Discussion

Le traitement par l'atorvastatine mais pas par la pravastatine des adipocytes 3T3-L1 diminue la capture de glucose induite par l'insuline dans ces cellules.

En effet, cette étude montre que l'atorvastatine diminue la capture de glucose induite par l'insuline dans les hépatocytes via la diminution de la localisation des transporteurs GLUT-4 au niveau de la membrane plasmique. L'impact de l'atorvastatine ne se fait pas via une inhibition des récepteurs à l'insuline mais via la transduction du signal déclenché par l'interaction de l'insuline et de son récepteur.

RhoA, est une petite protéine G nécessitant une isoprénylation, plus précisément une géranylgeranylation, afin de s'ancrer à la membrane plasmique et être active. Rho kinase est un effecteur de RhoA permettant la phosphorylation et l'activation d'IRS-1.

La localisation de RhoA à la membrane plasmique est diminuée par l'atorvastatine. Ainsi cette diminution se fait via l'inhibition de la formation d'isoprénoides puisque comme l'expérience l'a montré, l'ajout d'acide mévalonique permet d'inhiber les effets de l'atorvastatine.

Cet effet se retrouve avec la petite protéine G Rab4.

En conclusion, l'atorvastatine diminue la capture de glucose en agissant sur deux cibles :

- Rho A, qui n'est pas active et donc toute la voie de signalisation IRS-Pi3K-Akt-Rab4 n'a pas lieu.
- Rab4, qui en plus de ne pas être activée par l'Akt, ne peut pas s'ancrer à la membrane plasmique.

L'inhibition de ces deux protéines a pour conséquence d'inhiber la délocalisation du transporteur GLUT-4 du cytosol vers la membrane plasmique (schéma 4).

Enfin, bien que cette étude porte au départ sur l'atorvastatine et la pravastatine, seule l'atorvastatine joue un rôle dans l'insulinorésistance. Les auteurs mettent en avant le fait que l'atorvastatine est une statine lipophile qui peut facilement pénétrer de façon passive dans n'importe quelle cellule et inhiber l'HMG-CoA réductase alors que la pravastatine est hydrophile et ne peut pas pénétrer dans les cellules extra-hépatiques. Cependant, son action peut se faire dans les hépatocytes car la membrane plasmique de ces cellules contient un transporteur permettant le passage de substance hydrophile.

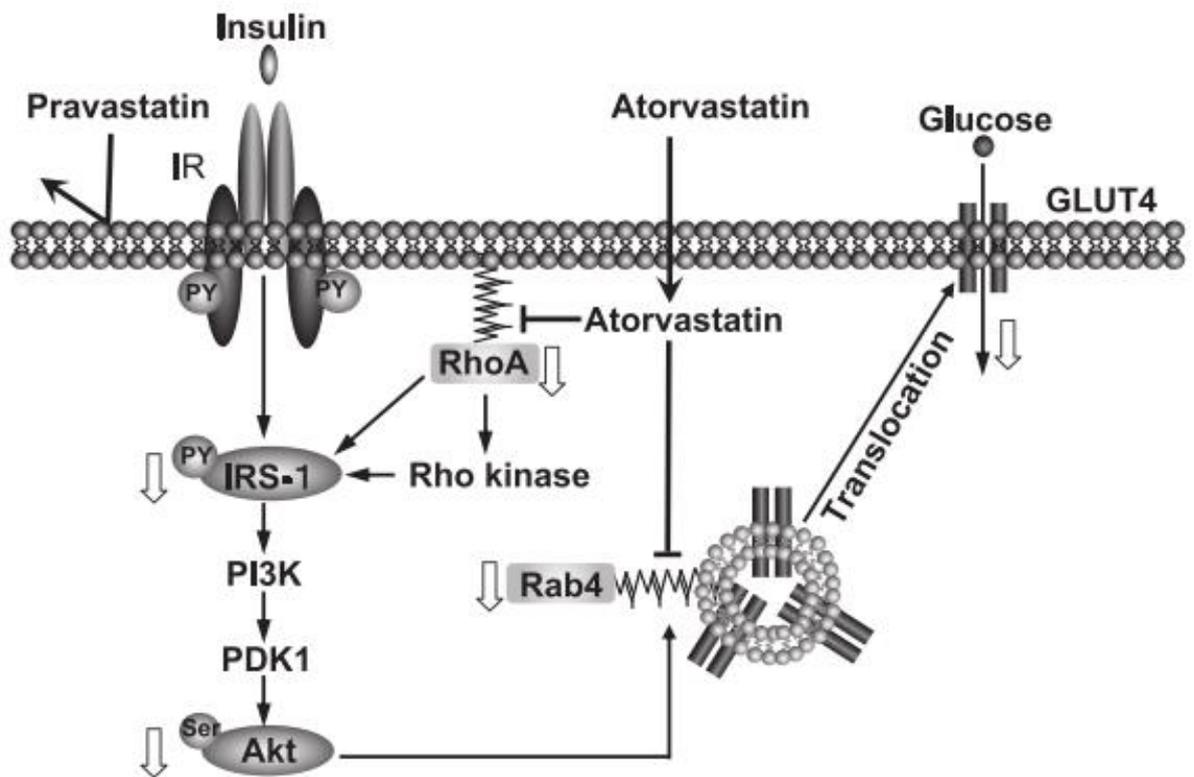


Schéma 4. Représentation schématique de l'inhibition par l'atorvastatine de la voie de signalisation de l'insuline dans les adipocytes 3T3-L1. L'atorvastatine pénètre dans la cellule et inhibe la synthèse de gényl-génylpyrophosphate entraînant le dysfonctionnement de RhoA et Rab4. Cela peut perturber toute la signalisation intracellulaire de l'insuline incluant IRS-1 et Akt. Les flèches ouvertes indiquent les molécules dont le fonctionnement a été altéré par l'atorvastatine. Source : (30).

c) Nakata et al 2006 (32)

Le but de cette étude est d'évaluer l'effet des statines sur les adipocytes jouant un rôle clé dans le métabolisme du glucose.

Les adipocytes sont l'une des cibles majeures pour l'action de l'insuline. En effet, en libérant des adipocytokines, les adipocytes peuvent améliorer ou détériorer le métabolisme du glucose. Les effets bénéfiques ou délétères dépendent du stade de différenciation des adipocytes.

Cette étude va examiner les effets de l'atorvastatine en 3 étapes :

- In vitro, en regardant les effets de l'atorvastatine sur la différenciation des cellules 3T3-L1 en adipocytes et sur l'expression des transporteurs GLUT-4 sur les cellules en cours de différenciation et sur les adipocytes différenciés.
- In vivo, chez les souris NSY, souris présentant une obésité modérée, une diminution de sécrétion d'insuline après stimulation par du glucose et une insulino-résistance.
- In vivo, chez des sujets japonais diabétiques présentant une hypercholestérolémie traitée par 10 mg d'atorvastatine par jour.

- Résultats

- Effets des statines sur la différenciation des cellules 3T3-L1

Les cellules 3T3-L1 ont été traitées pendant une période de 2 jours par 10 ng/ml d'atorvastatine. La différenciation de ces cellules a été déclenchée grâce à des composés présents dans le milieu de culture. La différenciation se fait en 8 jours.

Le traitement du jour 1 à 3 a eu une petite influence sur la différenciation des adipocytes. Cependant, le traitement depuis le jour 3 jusqu'au jour 5 inhibe la différenciation des adipocytes alors que les traitements des jours 5 à 7 inhibe modérément cette différenciation.

En revanche, ni la simvastatine ni la pravastatine n'ont eu d'effets significatifs pendant les jours 3 à 5 sur la différenciation des cellules. L'effet inhibiteur à cette dose est donc spécifique à l'atorvastatine. Cet effet est concentration dépendant puisque l'atorvastatine exerce son effet maximal à une concentration de 100 ng/ml.

Par la suite, l'effet des statines sur l'accumulation intracellulaire des lipides, associée à la maturation des adipocytes, est mesuré. L'accumulation des triglycérides a été inhibée d'environ 70% aux jours 3 à 5. Cet effet s'inverse lors de l'administration concomitante de mévalonate ou de GGPP. La simvastatine, statine lipophile, n'a pas d'effet sur l'accumulation intracellulaire de lipides à des concentrations allant de

l'ordre de 1 à 100 ng/ml. En revanche, cette accumulation est diminuée à une concentration de 1000 ng/ml. Cet effet n'est pas observé avec la pravastatine.

- Effets intracellulaires de l'atorvastatine sur la transduction du signal de l'insuline, sur la différenciation des adipocytes et sur la capture de glucose dans les cellules 3T3-L1 durant la période de différenciation (J3 à J5).

Le traitement par l'atorvastatine aux jours 3 à 5 de différenciation des adipocytes diminue l'expression de plusieurs protéines telles qu'IRS-1 et le transporteur GLUT-4. Les effets de l'atorvastatine sur IRS-1 et GLUT-4 sont là encore inhibés par l'administration concomitante de mévalonate ou GGPP. Cela suggère que l'effet inhibiteur est le résultat de l'inhibition de l'HMG Co-A réductase et de la synthèse d'isoprénoides.

La capture de glucose induite par 100 nM d'insuline dans les cellules 3T3-L1 a été significativement réduite par l'atorvastatine à des concentrations de l'ordre de 1 à 100 ng/ml durant les jours 3 à 5 de cultures. À l'inverse, la simvastatine et la pravastatine n'ont eu aucun effet sur la capture de glucose (figure 11).

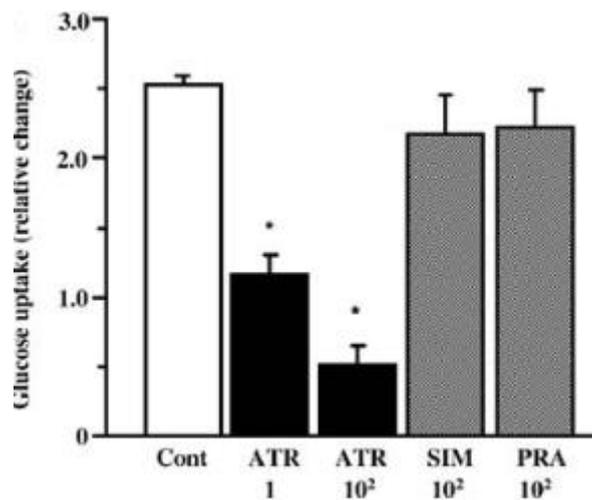


Figure 11. Effets du traitement d'atorvastatine, simvastatine ou pravastatine aux jours 3 à 5 de culture des cellules 3T3- L1 sur la capture du glucose induite par l'insuline. L'atorvastatine réduit la capture du glucose.*p<0,05 vs contrôle. ATR : atorvastatine, SIM : simvastatine, Pra : pravastatine. Source : (32).

L'activation de la protéine Akt (phosphorylation) induite par l'insuline dans les adipocytes a été inhibée dans les cellules traitées par l'atorvastatine (figure 12). Cette inhibition ainsi que la diminution de capture du glucose par l'atorvastatine est levée en présence de GGPP (figure 12).

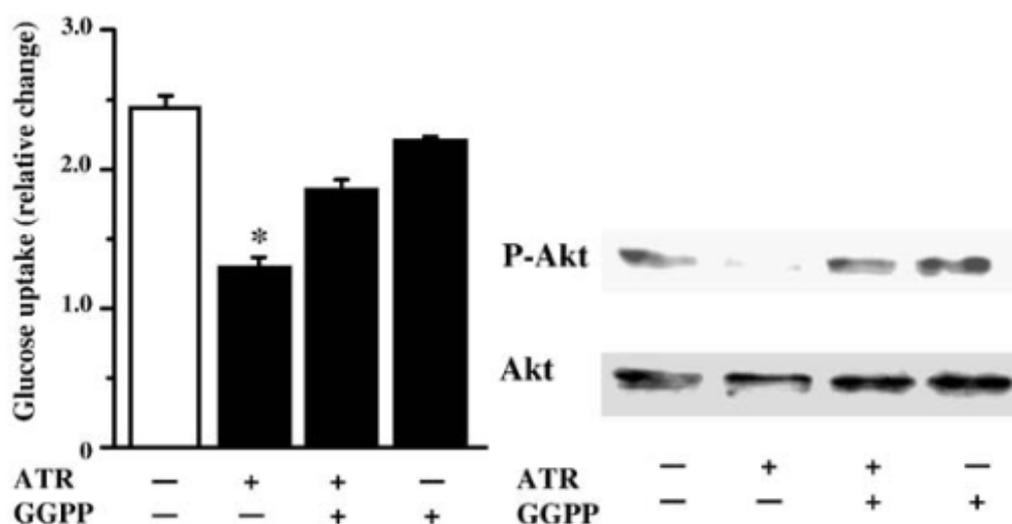


Figure 12. Traitement par l'atorvastatine des cellules 3T3-L1 en cours de différenciation. (A gauche) Le traitement par l'atorvastatine aux jours 1 à 8 de culture réduit la capture de glucose induite par 100 nM d'insuline. L'inhibition est levée par l'administration de 10 μ M de GGPP. (A droite) Le traitement par l'atorvastatine pendant les jours 1 à 8 de culture réduit la phosphorylation d'Akt (P-Akt) induit par 100 nM d'insuline et cette inhibition est levée par la co-administration de 10 μ M de GGPP. * $p < 0,05$ vs contrôle. Source : (32).

Ainsi, l'administration d'atorvastatine aux jours 3 à 5 de différenciation des cellules 3T3-L1 entraîne une diminution de la capture de glucose ainsi qu'une diminution de la phosphorylation d'Akt. L'ajout de GGPP inhibe les effets de l'atorvastatine. Son effet sur la capture de glucose se fait donc via l'inhibition de l'HMG-CoA réductase, ce qui a pour conséquence la diminution de production d'isoprénoides.

- Effets intracellulaires de l'atorvastatine sur la transduction du signal de l'insuline et sur la capture de glucose dans les adipocytes 3T3-L1 différenciés (J8 à J10)

Les changements observés dans les concentrations de protéines peuvent être dus à l'inhibition de la maturation des adipocytes par l'atorvastatine. Pour étayer cette hypothèse, les auteurs ont testé l'effet de l'atorvastatine sur des adipocytes différenciés (durant les jours 8 à 10 de culture).

Le traitement par l'atorvastatine à des concentrations allant de 1 à 100 ng/ml réduit la capture de glucose induite par 100 nM d'insuline, bien que l'ampleur de cette diminution soit plus faible que celle observée chez les cellules en cours de différenciation. La simvastatine et la pravastatine n'ont pas d'effet (figure 13).

Là encore, l'addition de GGPP inhibe les effets de l'atorvastatine (figure 13).

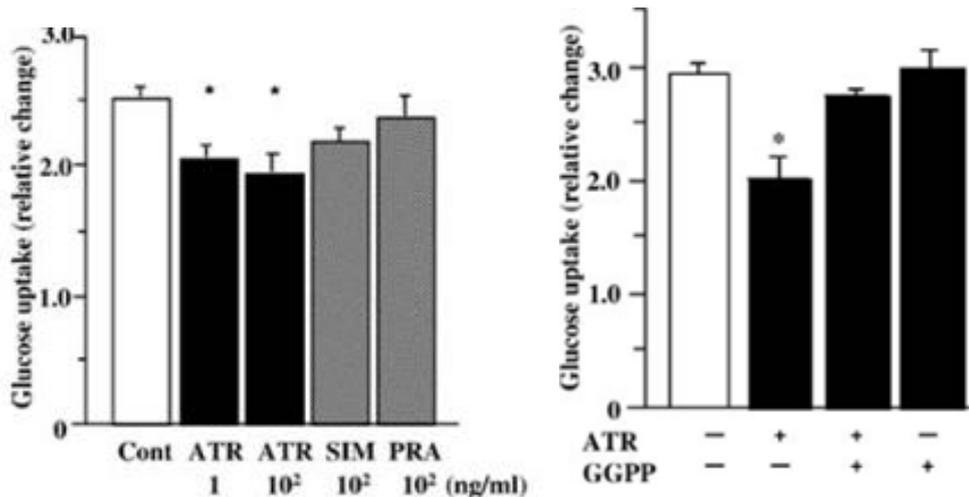


Figure 13. Effets du traitement par les statines sur la capture du glucose dans les adipocytes 3T3-L1 différenciés aux jours 8 à 10 de culture. (A gauche), la capture de glucose induite par 100 ng/ml d'insuline est significativement réduite par 1 et 100 ng/ml d'atorvastatine (ATR). Les effets de la pravastatine (PRA) et de la simvastatine (SIM) sont non significatifs. * $p < 0,05$ vs contrôle. (A droite) L'effet inhibiteur de l'atorvastatine (100 ng/ml) sur la capture de glucose induite par l'insuline est levé par la co-administration de 10 μ M de GGPP aux jours 8 à 10 de culture. * $p < 0,05$ vs contrôle. Source : (32).

Le taux de transporteur GLUT-4 au niveau de la membrane plasmique est réduit par le traitement des cellules par des concentrations d'atorvastatine allant de 1 à 100 ng/ml. La simvastatine réduit aussi le taux de transporteur GLUT-4 mais à des concentrations de l'ordre de 100 ng/ml alors que la pravastatine n'a aucun effet (figure 14).

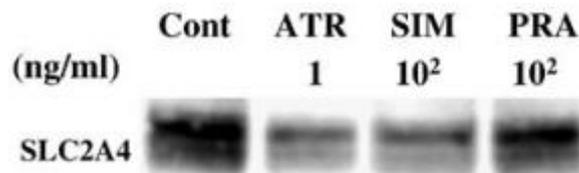


Figure 14. Effets du traitement des adipocytes 3T3-L1 différenciés aux jours 8 à 10 de culture par 1 ng/ml d'atorvastatine (ATR) 100 ng/ml de simvastatine (SIM) ou 100 ng/ml de pravastatine (PRA). L'atorvastatine et la simvastatine diminuent l'expression relative des transporteurs GLUT-4 (=SLC2A4) comparativement aux cellules contrôles.

- Effets de l'atorvastatine sur le métabolisme glucidique et l'expression des transporteurs GLUT-4 chez les souris NSY

Comme les expériences in vitro l'ont montré précédemment, l'atorvastatine diminue la différenciation des adipocytes et l'expression des transporteurs GLUT-4. L'étude a voulu par la suite examiner les effets de cette statine sur les souris NSY, un modèle de diabète de type 2.

Les souris sont divisées en deux groupes, un groupe contrôle observant un régime alimentaire normal et un groupe sous atorvastatine. Le poids et la glycémie à jeun durant la période de l'étude entre les groupes ne sont pas significativement différents. En revanche, dans le groupe atorvastatine, la glycémie à 30 et 60 minutes après injection de glucose est plus élevée et le retour à la glycémie de base est plus long que chez les souris du groupe placebo (figure 15).

Les souris sont soumises à un test de tolérance à l'insuline. C'est une méthode rarement utilisée en clinique permettant de déterminer la sensibilité à l'insuline. Ce test implique une perfusion intraveineuse d'insuline avec des mesures consécutives de glucose et d'insuline. Les résultats montrent que les glycémies à 60 et 90 minutes après injection d'insuline sont plus élevées dans le groupe atorvastatine montrant ainsi une diminution de la sensibilité à l'insuline (figure 15).

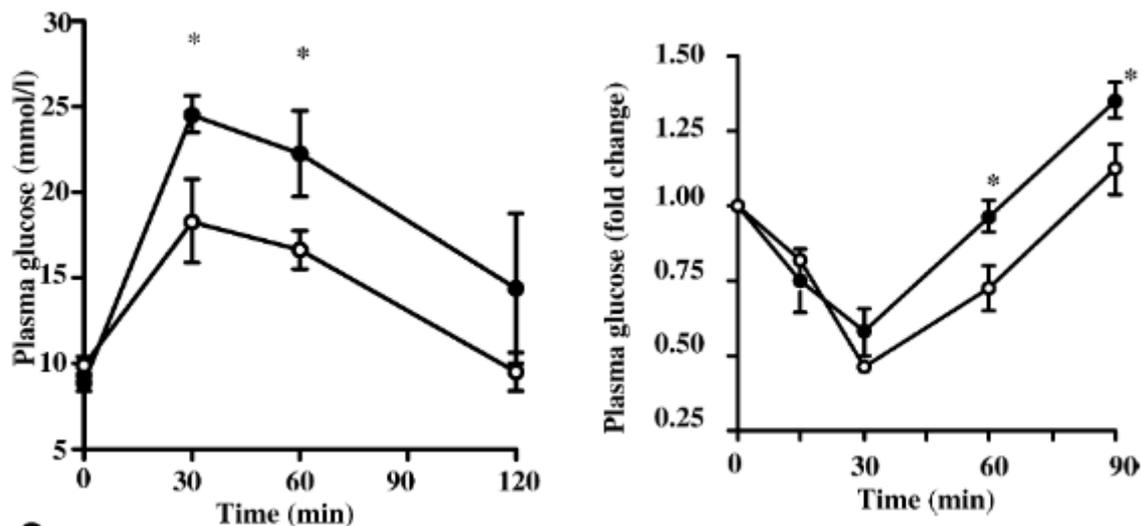


Figure 15. Effets du traitement par l'atorvastatine sur la glycémie chez la souris NSY. (A gauche) Résultats du test de tolérance au glucose chez les souris NSY nourries pendant 15 jours par un régime adapté (groupe contrôle, cercles blancs) ou prenant de l'atorvastatine (groupe ATR, cercles noirs). Le taux de glucose plasmatique est exprimé en moyenne \pm SEM, n=7 pour chaque groupe. (A droite), Résultats du test de tolérance à l'insuline dans le groupe contrôle (cercles blancs) et le groupe atorvastatine (ATR) (cercles noirs). La concentration plasmatique de glucose est exprimée en moyenne \pm SEM, n=5 pour chaque groupe. *p<0,05 vs groupe contrôle. Source : (32).

Ces résultats montrent donc que le traitement par atorvastatine affecte le métabolisme glucidique principalement en induisant une insulino-résistance.

- Résultats de l'étude clinique

Un total de 78 sujets japonais diabétiques a été recruté. Les critères d'inclusion étaient les suivants :

- Diagnostic de diabète de type 2 posé depuis au moins un an
- Age entre 30 et 80 ans
- Glycémie stable
- Cholestérolémie > 5,17 mmol/l

Tous les sujets ont été traités par de l'atorvastatine à raison de 10 mg par jour. 12 semaines après la mise en place du traitement, des analyses sanguines ont été faites afin d'évaluer le taux de cholestérol total, d'HDL, de triglycérides, d'HbA1c, ainsi que la glycémie. Le traitement par atorvastatine est suivi d'une augmentation significative d'HbA1c, alors que la glycémie à jeun reste inchangée.

- Discussion

Cette étude montre donc que le traitement par atorvastatine à des doses cliniques inhibe la différenciation des adipocytes, diminue l'expression des transporteurs GLUT-4 dans les adipocytes en cours de différenciation et dans les adipocytes matures et diminue la sensibilité à l'insuline.

La diminution de l'expression des transporteurs GLUT-4 au niveau de la membrane plasmique s'expliquerait par une diminution de la phosphorylation de la protéine Akt due à une moindre production d'isoprénoides par inhibition de l'HMG-CoA réductase par les statines.

Les concentrations d'atorvastatine utilisées par Nakata et al (32) peuvent être rapportées aux concentrations sanguines observées chez les patients traités par cette statine.

Dans cette expérience, l'atorvastatine ne montre que peu d'influence in vivo chez les souris NSY sur l'insulinosécrétion. Chez ces souris, l'administration orale diminue la tolérance au glucose et diminue l'expression des transporteurs GLUT-4 au niveau de la membrane plasmique des adipocytes. Ces résultats sont en accord avec les résultats d'Abel et al en 2001 (33) montrant que la diminution de l'expression des transporteurs GLUT-4 dans les adipocytes entraîne l'insulinorésistance dans ces cellules mais également dans le muscle et le foie. Ainsi, la diminution de l'expression de ces transporteurs dans les adipocytes peut mener à une insulinorésistance et donc à un diabète de type 2 chez ces souris.

Cette étude conclut donc que l'effet des statines sur les adipocytes et leur impact sur la glycémie doivent être pris en compte chez les patients diabétiques.

3) ADIPONECTINE ET LEPTINE

L'adiponectine est une protéine produite et sécrétée par les adipocytes matures. Une étude faite par Maeda et al en 2002 (34) montre que chez les souris dont la production d'adiponectine a été supprimée (en modifiant le gène codant pour la production de cette protéine), le taux sérique de TNF- α , cytokine pro-inflammatoire, est élevé, et que le catabolisme des acides gras est perturbé. Quand ces souris sont exposées à un régime riche en graisses et en sucres, les glycémies et le niveau d'insulinorésistance sont plus élevés que chez les souris du groupe contrôle. Le TNF- α et l'adiponectine ont des effets opposés : Le TNF- α réduit l'interaction IRS-1/PI3K alors que l'adiponectine la stimule mais seulement en l'absence de TNF- α .

L'hypoadiponectinémie est liée à l'insulinorésistance et l'obésité. L'action inhibitrice des statines sur le taux d'adiponectine pourrait être un des mécanismes potentiels de développement de diabète.

En effet, Koh et al en 2008 (35), montrent par exemple que la prise de simvastatine à différents dosages (10,20,40 et 80 mg par jour) chez des sujets présentant une hypercholestérolémie diminue significativement le taux d'adiponectine. Cette diminution a entraîné une diminution de la sensibilité à l'insuline.

Aucune conclusion n'est encore établie quant au lien entre statines et adiponectine. Cependant, comme nous l'avons vu précédemment, l'atorvastatine inhibe la différenciation des adipocytes et l'adiponectine est synthétisée par les adipocytes matures. Nous pouvons donc penser qu'une interaction a bien lieu.

La leptine est une autre adipocytokine. Cette hormone induit la lipolyse, inhibe la lipogénèse et augmente la sensibilité à l'insuline. De plus, elle induit une diminution de la sécrétion d'insuline. Une autre étude de Maeda et al en 2009 (36) a mis en avant la diminution de l'expression de la leptine lors de l'incubation de pré-adipocytes avec de la simvastatine. Cette action est inhibée lors de l'ajout de mévalonate et de GGPP dans le milieu de culture. D'après certaines études, la diminution du taux de leptine lors de la prise d'atorvastatine, de rosuvastatine et de simvastatine affecte la prolifération des cellules β et l'insulinosécrétion (37), ceci pouvant mener au diabète.

4) AUTRES EFFETS (38)

L'inhibition de l'HMG CoA réductase entraîne aussi une diminution de la production de Coenzyme Q10. Or ce métabolite intervient au niveau de chaîne respiratoire mitochondriale permettant la formation d'ATP. De ce fait la diminution de la production du Coenzyme Q10 entraîne une diminution de la production d'ATP. Au niveau des cellules β du pancréas, les canaux potassiques ATP-dépendants ne se ferment pas, la dépolarisation n'a pas lieu et à terme, la sécrétion d'insuline non plus.

De plus, la diminution de LDL-cholestérol a pour conséquence une augmentation du nombre de récepteurs aux LDLs afin de pouvoir augmenter le taux de LDL cholestérol intracellulaire. Cependant, cette augmentation a deux conséquences :

- Inhibition de la glucokinase ce qui aboutira à une diminution de la production d'ATP par la mitochondrie
- Le LDL-cholestérol va s'oxyder et entraîner une cascade inflammatoire menant à l'apoptose de la cellule β . De plus la présence de cytokines pro-inflammatoires va entraîner la surproduction de monoxyde d'azote (NO). Cette surproduction va induire via l'activation de la calpaïne, une protéase calcium-dépendante, l'apoptose des cellules β . Cependant, les statines exercent un effet protecteur sur l'endothélium en limitant justement la production de NO. L'effet pro-apoptotique de cette voie reste donc incertain.

F. RESUME (27)((30)(32)(37)

1) MECANISME D'ACTION

a) Sécrétion d'insuline

Nous avons vu précédemment que la sécrétion d'insuline est diminuée par les statines (à l'exception de la pravastatine). Cette inhibition se fait de différentes façons :

- La simvastatine exerce un effet direct sur les canaux calciques voltage-dépendants des cellules β du pancréas. Or l'augmentation de la concentration intracellulaire de calcium est nécessaire à l'exocytose d'insuline. Ainsi, en empêchant l'entrée de calcium dans la cellule, la simvastatine diminue la sécrétion d'insuline.
- Un autre effet commun aux statines menant à cette diminution de la sécrétion d'insuline est lié à l'inhibition de l'HMG-CoA réductase. En effet, en inhibant cette enzyme, de nombreux métabolites ne se forment pas. Ainsi, on note une diminution de la production de Coenzyme Q10 nécessaire à la chaîne respiratoire mitochondriale, et donc à une diminution de production d'ATP, menant à une diminution de sécrétion d'insuline.
- De plus, l'inhibition de la synthèse de cholestérol entraîne une diminution de LDL-cholestérol. Cette diminution va avoir pour conséquence une surexpression des récepteurs au LDL-cholestérol et une augmentation de l'entrée de ce LDL dans la cellule β pancréatique. Or, ce LDL va s'oxyder provoquant une inflammation et une apoptose de la cellule β
- Enfin, cette augmentation de LDL-cholestérol intracellulaire entraîne l'inhibition de la glucokinase nécessaire à l'entrée du glucose dans le

cycle de Krebs. Cette inhibition contribue à la diminution de la production d'ATP.

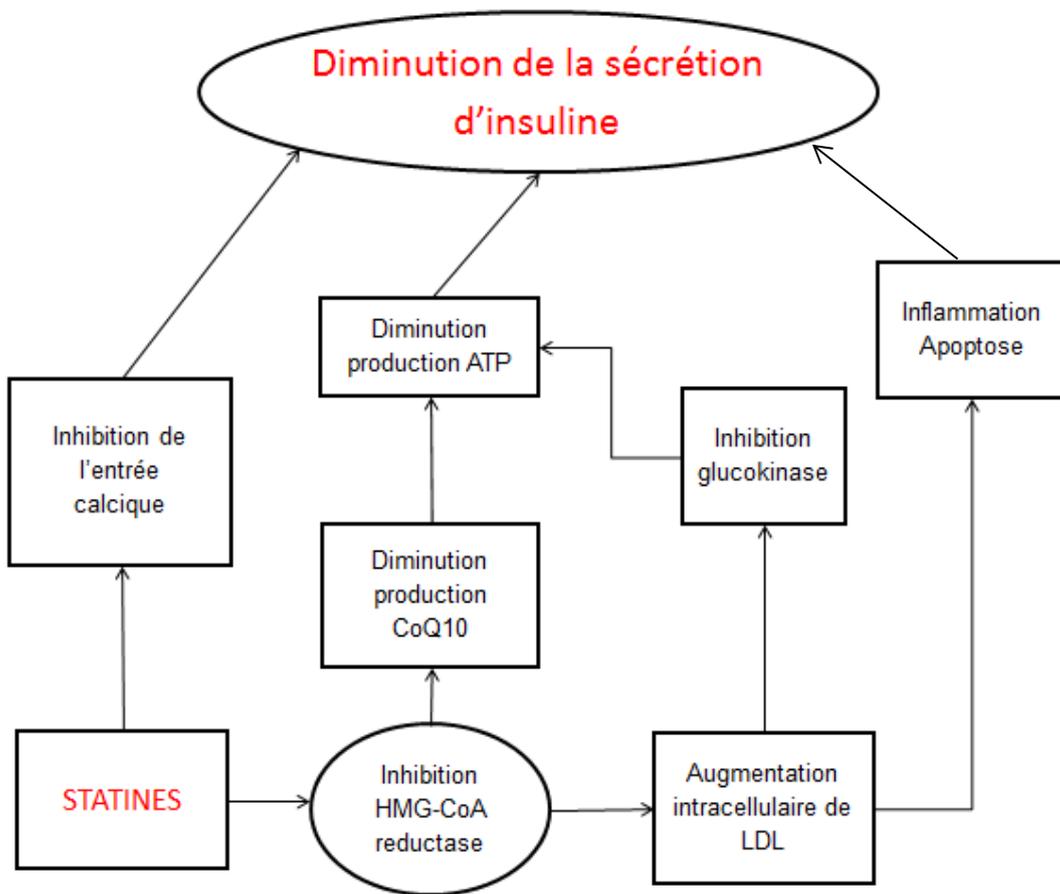


Schéma 5. Résumé de l'effet des statines sur la sécrétion d'insuline par les cellules β du pancréas.

b) Insulinorésistance

L'insulinorésistance est un autre aspect menant à un diabète de type 2. Là encore, les cibles vont être multiples :

- Les statines (hors pravastatine) vont entraîner une diminution de l'expression des transporteurs GLUT-4 au niveau de la membrane plasmique des myocytes et des adipocytes. Cette diminution est due à l'inhibition de la synthèse des isoprénoides, formés lors de la synthèse de cholestérol. L'entrée de glucose dans la cellule est donc diminuée suite à la stimulation de celle-ci par la fixation de l'insuline sur son récepteur.
- Les statines vont aussi diminuer la différenciation des adipocytes. De ce fait, on retrouvera une diminution de l'expression des transporteurs GLUT-4 au niveau de ces adipocytes. De plus, les adipocytes matures sécrètent des adipocytokines telles que la leptine et l'adiponectine. Or, la diminution de ces deux adipocytokines mène vers une insulinorésistance.

- Il est important de rappeler qu'un manque d'activité physique peut conduire à une insulino-résistance. Or, les statines peuvent provoquer des myalgies et des arthralgies. Ces douleurs ne sont pas toujours exprimées par les patients et peuvent nuire à la pratique d'une activité physique régulière.

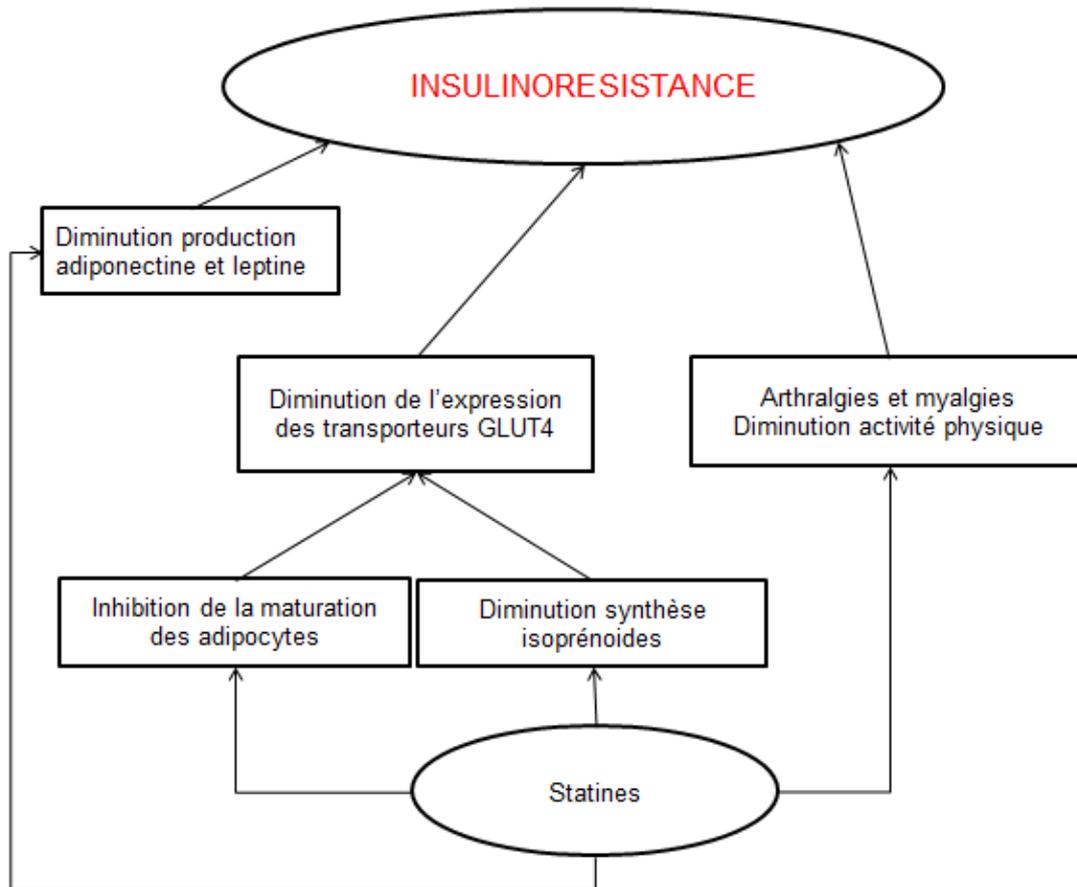


Schéma 6. Résumé de l'effet des statines menant à l'insulino-résistance.

2) EFFET SUR LA POPULATION

a) Populations à risque

Comme nous avons vu précédemment avec l'article de Waters et al examinant des études dont l'atorvastatine était la statine utilisée, il existe quatre facteurs prédictifs de diabète :

- Glycémie à jeun $>5,6$ mmol/l (1,00 g/l)
- Triglycéridémie à jeun $>1,7$ mmol/l (1,50 g/l)
- IMC >30 kg/m²
- Antécédent d'hypertension artérielle

Le risque de développement de diabète est déjà augmenté même sans prescription de statines. De plus, plus le nombre de ces facteurs augmente plus le risque est important. Ce risque est même particulièrement significatif à partir de trois facteurs cumulés. Bien entendu, le développement de diabète chez des personnes est parfaitement logique. Cependant, d'autres études montrent que les statines accélèrent le diagnostic de diabète. Il est possible que cet effet diabéto-gène des statines n'ait pas été décelé plus tôt en raison du fait que le diabète semblait être une conséquence évidente chez ce type de patients.

D'autres facteurs de risque ont aussi été identifiés dans d'autres études. En effet, comme l'a montré Sattar et al (39), les personnes âgées sous statines sont plus susceptibles de développer un diabète. Cette susceptibilité peut s'expliquer par un vieillissement du pancréas. Même si aucun âge limite n'est déterminé, Sattar (39) et al ont retrouvé cette susceptibilité dans un essai clinique où les patients avaient une moyenne d'âge supérieure à 70 ans.

Un autre facteur de risque de développement de diabète sous statine est le caractère asiatique.

En effet, les personnes d'origine Asiatique ont souvent une réponse thérapeutique aux médicaments plus élevée que chez les sujets d'origine caucasienne. Ainsi, les doses recommandées sont souvent moins importantes en Asie. Des études montrent que les statines administrées à faible dose chez la population asiatique entraînent des résultats comparables à l'administration de fortes doses dans la population caucasienne. Ainsi, il est tout à fait possible que les statines entraînent des effets indésirables plus précocement dans cette population particulière.

Enfin, les statines sont rarement prescrites seules. Elles font souvent partie d'une stratégie thérapeutique leur associant des antihypertenseurs. Or, certains antihypertenseurs sont bien connus pour leur effet sur le métabolisme glucidique. Il s'agit en particulier des β -bloquants et des diurétiques thiazidiques. Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion, les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II et les inhibiteurs calciques semblent n'avoir peu ou pas d'effet sur le diabète (même si l'étude de Currie et al (17) montre un résultat différent, mais pour des raisons expliquées précédemment).

b) Statines prescrites (40)

Comme nous l'avons vu précédemment, cinq statines sont prescrites en France (une sixième statine est disponible sous la forme de levure de riz rouge). Le risque de nouveau diabète n'est pas le même suivant les statines prises, bien que certaines études évoquent des résultats contradictoires. La pravastatine serait la statine présentant le plus faible potentiel diabéto-gène voir même un effet protecteur. En revanche, l'atorvastatine, la rosuvastatine et la simvastatine semblent être les plus diabéto-gènes. Dans mes recherches, j'ai retrouvé très peu de données sur la fluvastatine. Or, en France elle fait partie des statines les moins prescrites.

En effet, les statines les plus représentées sont :

- L'atorvastatine représentant 32,4% des statines prescrites
- La rosuvastatine avec 30,1% des prescriptions
- La pravastatine représentant 17,4% des prescriptions
- La simvastatine et la fluvastatine représentant respectivement 16,4 et 3,7 % des prescriptions

Il semblerait que cette différence d'effet entre les statines pourrait s'expliquer par leur balance hydrophile/lipophile. En effet, la pravastatine est une statine hydrophile qui pourrait avoir une meilleure affinité pour les hépatocytes. De plus, la simvastatine et l'atorvastatine sont deux statines lipophiles. Elles peuvent donc pénétrer par diffusion passive dans les cellules. Cependant, même si ces deux statines ont le même effet sur les adipocytes, leurs effets s'exercent à des concentrations différentes.

Enfin, la raison pour laquelle la rosuvastatine exerce un fort effet diabéto-gène alors qu'elle possède la meilleure balance hydrophile/lipophile n'est pas élucidée.

3) **PRESCRIPTION DE STATINES CHEZ UNE PERSONNE A RISQUE (39)**

En 2014, Sattar et al s'interrogent sur la conduite à tenir en matière de prescription de statines chez des personnes à haut risque de développer le diabète.

On rappelle que d'après Waters et al, quatre facteurs de risques sont identifiés :

- Glycémie à jeun > 5,6 mmol/l (1,00g/l)
- Triglycéridémie à jeun > 1,7mmol/l (1,50 g/l)
- IMC > 30 kg/m²
- Antécédent d'hypertension artérielle

Viennent s'ajouter à ces facteurs de risque, l'âge, l'ethnie (population asiatique), ainsi que la prise concomitante d'autres médicaments perturbant la glycémie comme les β -bloquants et les diurétiques thiazidiques.

a) Prévention et traitement de diabète de type 2 et de maladies cardiovasculaires chez les patients à haut risque de diabète

Dans la population à haut risque, la conversion en diabète de type 2 peut être retardée voire empêchée à l'aide de changement de mode de vie intensif et/ou des médicaments antidiabétiques oraux. Bien entendu, plus ces changements sont précoces, plus l'efficacité sera bonne. Le DPP (Diabetes Prevention Program) a montré que, chez les sujets intolérants au glucose, les changements de modes de vie ont été plus efficaces que le simple traitement par de la metformine (41). D'autres études ont montré ces résultats, c'est pourquoi le changement de mode de vie

intervient en première ligne de traitement dans la prévention du diabète de type 2, suivi par la prescription de metformine si besoin.

Concernant les risques cardiovasculaires, ils peuvent être diminués dans cette population toujours grâce au changement de mode de vie mais aussi en maîtrisant la dyslipidémie ainsi que la pression artérielle.

b) Recommandations pour l'utilisation des statines chez les patients à haut risque de diabète

Il est clair, comme nous l'avons vu dans les essais et analyses précédents, que le bénéfice de l'utilisation des statines en prévention cardiovasculaire surpasse nettement le risque de diabète chez les personnes à haut risque cardiovasculaire. Même si les patients développent le diabète, ce bénéfice est toujours retrouvé, bien que le diabète soit un autre facteur de risque cardiovasculaire.

D'après les recommandations actuelles, les statines doivent être prescrites seulement en cas de facteurs de risques cardiovasculaires importants. Pour Sattar et al, la prescription des statines doit continuer à se faire selon ces recommandations sans prendre en compte le risque diabéto-gène de ces molécules.

De même, il a été démontré que les fortes doses de statines sont associées à une meilleure prévention de maladies cardiovasculaires mais à une plus grande incidence de diabète en comparaison avec des doses moyennes (incidence augmentée de 12% d'après Preiss et al (22)). Mais là encore, le bénéfice des thérapies à fortes doses surpasse le risque de développer le diabète de type 2 chez les patients à haut risque cardiovasculaire. Cela suggère donc que les médecins doivent continuer de prescrire ces statines, même à fortes doses, en suivant les recommandations établies.

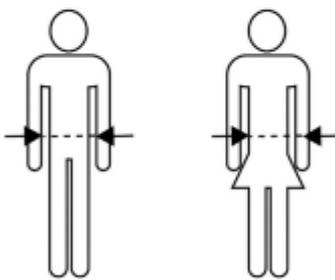
Malgré tout, Sattar et al recommandent qu'avant chaque prescription de statines, les médecins évaluent les risques cardiovasculaires et de diabète de chaque patient à l'aide d'une échelle comme celle présentée ci-dessous :

1. Age
 0p. Under 45 years
 2p. 45-54 years
 3p. 55-64 years
 4p. Over 64 years

2. Body mass index
 0p. Lower 25 kg/m²
 1p. 25-30 kg/m²
 3p. Higher than 30 kg/m²

3. Waist circumference measured below the ribs (usually at the level of the naval)

	MEN	WOMEN
0p.	Less than 94cm	Less than 80 cm
3p.	94-102cm	80-83cm
4p.	More than 102cm	More than 88cm



4. Do you usually have daily at least 30 min of physical activity at work and/or during leisure time (including normal daily activity)?
 0p. Yes
 2p. No

5. How often do you eat vegetables, fruit or berries?
 0p. Every day
 1p. Not every day

6. Have you ever taken anti-hypertensive medication regularly?
 0p. No
 2p. Yes

7. Have you ever been found to have high blood glucose (e.g. in a health examination, during an illness, during pregnancy)?
 0p. No
 5p. Yes

8. Have any of the members of your immediate family or other relatives been diagnosed with diabetes (type 1 or 2)?
 0p. No
 3p. Yes: grandparent, aunt, uncle or first cousin (but no own parent, brother, sister or child)
 5p. Yes: parent, brother, sister or own child

Total risk score
 The risk of developing type 2 diabetes within 10 years is

Lower than 7 **Low:** estimated 1 in 100 will develop disease

7-11 **Slightly elevated:** estimated 1 in 25 will develop disease

12-14 **Moderate:** estimated 1 in 6 will develop disease

15-20 **High:** estimated 1 in 3 will develop disease

Higher than 20 **Very high:** estimated 1 in 2 will develop disease

Figure 16. Echelle FINDRISC (FINish Diabete Risk Score) servant à évaluer le risque de diabète sur les 10 années suivantes. Source : (39).

Ensuite, un entretien au sujet des statines et des conséquences possibles entre médecin et patient doit être fait. Au cours de cet entretien, il est important de bien mettre l'accent sur les règles hygiéno-diététiques afin de réduire à la fois le risque de maladies cardiovasculaires et de diabète. Selon Sattar et al (39), tous les patients à haut risque cardiovasculaire doivent avoir leur niveau de risque de diabète déterminé à l'aide de l'échelle FINDRISC ou autre.

A partir de l'échelle FINDRISC, les recommandations sont différentes :

- Score FINDRISC < 15 : risque faible ou modéré. La glycémie à jeun et le taux d'HbA1c n'ont pas besoin d'être connues.
- Score FINDRISC ≥ 15 : haut risque ou très haut risque. La glycémie à jeun ou le taux d'HbA1c doivent être déterminées avant la prise de statine et contrôlées trois mois après l'initiation du traitement

Chez les patients avec un score élevé et une glycémie à jeun >100 mg/dl (soit 5,5 mmol/l) ou un taux d'HbA1c de l'ordre de 6,0-6,4%, des mesures hygiéno-diététiques appropriées doivent être mises en place pour éviter la conversion du prédiabète en diabète. Cela inclut une perte de poids et une diminution de la glycémie via un changement de mode de vie plus drastique associé ou non à prise d'un antidiabétique oral.

G. ALERTES (42)

En 2012, l'EMA (European Medicines Agency) et la FDA (Food and Drug Administration) ont commencé une actualisation des résumés des caractéristiques des produits et des notices de médicaments contenant une statine en raison d'une augmentation du risque de survenue de diabète.

Pour ces deux agences, cette augmentation du risque de survenue de diabète de l'ordre de 9 à 15% ne remet pas en cause la balance bénéfice/risque de la classe thérapeutique. Les statines restent essentielles dans la prévention cardiovasculaire. En effet, leur efficacité en prévention primaire et secondaire a été établie par de nombreuses études cliniques de grande ampleur. Toutes statines confondues, le traitement permet de réduire le risque d'évènements cardiovasculaires de 15 à 23% selon le type d'évènement et de 10% les risques de mortalité toutes causes.

Il faut rappeler qu'en dehors de la survenue d'un diabète, une augmentation modérée de la glycémie et du taux d'HbA1c peuvent aussi être observées.

PARTIE 3 : STATINES ET CANCER

A. CANCER DE LA PROSTATE (43)

1) DEFINITION ET DIAGNOSTIC

a) Définition

La prostate est une glande du système reproducteur masculin entourée par une capsule. Elle est située sous la vessie, en avant du rectum. La prostate sécrète le liquide qui compose le sperme. Elle fonctionne grâce aux androgènes, hormones sexuelles synthétisées par les testicules et les glandes surrénales. Le cancer de la prostate correspond à la transformation maligne progressive des cellules glandulaires qui se multiplient de façon anarchique.

Il existe deux stades d'évolution :

- le cancer de la prostate localisé ou « intracapsulaire ». Les cellules cancéreuses sont présentes uniquement dans la prostate.
- le cancer non localisé ou « extracapsulaire ». Les cellules cancéreuses s'étendent hors de la prostate, affectant les ganglions lymphatiques et les os, formant ainsi des métastases.

Le cancer de la prostate évolue lentement et reste longtemps localisé. Il est donc possible de le détecter tôt et d'éviter le stade des métastases. En France, le cancer de la prostate est le cancer le plus fréquent chez l'homme. En 2011, 71 220 nouveaux cas ont été diagnostiqués et 8 685 décès sont dus à ce cancer.

Les facteurs de risques sont les suivants :

- L'âge : ce cancer est exceptionnel avant 40 ans et l'âge moyen de diagnostic est de 70 ans
- Les antécédents familiaux
- Certaines origines : les hommes d'origine africaine ont un risque plus important de développer un cancer de la prostate en comparaison aux hommes de type caucasien, eux-mêmes étant plus à risque que les Asiatiques

b) Diagnostic

Le diagnostic se fait via le toucher rectal, le dosage de la PSA (Prostate Specific Antigen) par prise de sang et est confirmé par biopsie.

- Le toucher rectal

Le toucher rectal permet de vérifier le volume, la surface et la consistance de la prostate. Si la surface paraît irrégulière ou avec des nodules et si la consistance est dure, le médecin peut suspecter un cancer de la prostate.

- La prise de sang

En cas d'examen clinique anormal, le médecin peut prescrire un dosage sanguin de la PSA, substance produite par la prostate.

La valeur seuil retenue est de 4 ng/ml. Un taux supérieur n'est pas forcément synonyme de cancer. En effet d'autres situations peuvent expliquer un taux élevé de PSA comme une augmentation de la taille de la prostate, une éjaculation récente, une infection urinaire, une opération de la prostate, une endoscopie urinaire. Il est aussi possible que le taux de PSA soit normal, même en présence d'un cancer.

- La biopsie

La biopsie permet la confirmation du diagnostic. Il s'agit de biopsies pratiquées sous anesthésie locale.

D'autres examens peuvent être nécessaires : scanner, IRM (Imagerie par Résonance Magnétique), scintigraphie osseuse pour compléter le bilan d'extension du cancer.

2) ETUDES SUR LES STATINES ET LE CANCER DE LA PROSTATE

a) Geybels et al 2013 (44)

Cette étude examine l'effet de la prise de statines avant le diagnostic de cancer sur la mortalité spécifique par le cancer de la prostate ainsi que sa récurrence ou progression.

- Méthode

Les patients sont des hommes âgés de 35 à 74 ans dont le diagnostic de cancer de la prostate a été posé entre le 1^{er} janvier 2002 et le 31 décembre 2005. Ils ont été identifiés au travers d'un registre, le Seattle-Puget Sound Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program cancer registry. Ce registre contient des informations sur le score de Gleason, le stade tumoral et le taux de PSA au moment du diagnostic. Le score de Gleason permet de mesurer l'agressivité des

cellules cancéreuses. Ce score est mesuré par une étude au microscope des cellules cancéreuses obtenues par biopsies ou ablation de la prostate. La classification de Gleason est cotée du grade 1 à 5. Le score est obtenu par la somme des deux grades les plus fréquemment représentés dans la tumeur analysée. Il varie donc de 2 à 10. Plus le score est élevé, plus la tumeur est agressive.(45)

Cette étude regroupe au total 1 001 patients.

Les utilisateurs de statines sont définis comme des hommes prenant des statines au moins une fois par semaine pendant 3 mois ou plus. Les utilisateurs actuels sont définis comme patients prenant des statines dans l'année précédant le diagnostic de cancer de la prostate.

La récurrence ou la progression du cancer de la prostate sont définies sur la base du taux de PSA de la façon suivante :

- Une élévation de la PSA de 0,2 ng/ml ou plus chez les hommes ayant subi une prostatectomie
- Une augmentation du PSA nadir (correspondant au taux de PSA le plus faible) de 2ng/ml pour les hommes traités par radiothérapie
- Toute augmentation du taux de PSA chez les hommes traités par une thérapie antiandrogénique.

• Résultats

La cohorte inclut 1 001 patients atteints du cancer de la prostate parmi lesquels 289 appartiennent au groupe statines. Les statines les plus utilisées sont l'atorvastatine à 63%, la simvastatine à 31%, la lovastatine et la pravastatine à 14%. La prévalence d'utilisation des autres statines est faible (moins de 5%). Au total, 86% des patients ont pris exclusivement des statines lipophiles, 5% exclusivement des hydrophiles et 9 % ont pris des deux.

Le risque de récurrence ou de progression du cancer n'est pas différent chez les patients prenant des statines comparativement aux patients n'en prenant pas (22% vs 21% à 9 ans ; $p=0,64$).

Pendant la durée moyenne de suivi de 7,6 ans, 123 décès ont lieu parmi lesquels 39 sont imputables au cancer de la prostate. Comme nous pouvons le voir avec la figure 17, le risque de mort par cancer de la prostate est significativement plus faible parmi les utilisateurs de statines comparativement aux patients n'en prenant pas (1% vs 5% à 10 ans ; $p<0,01$).

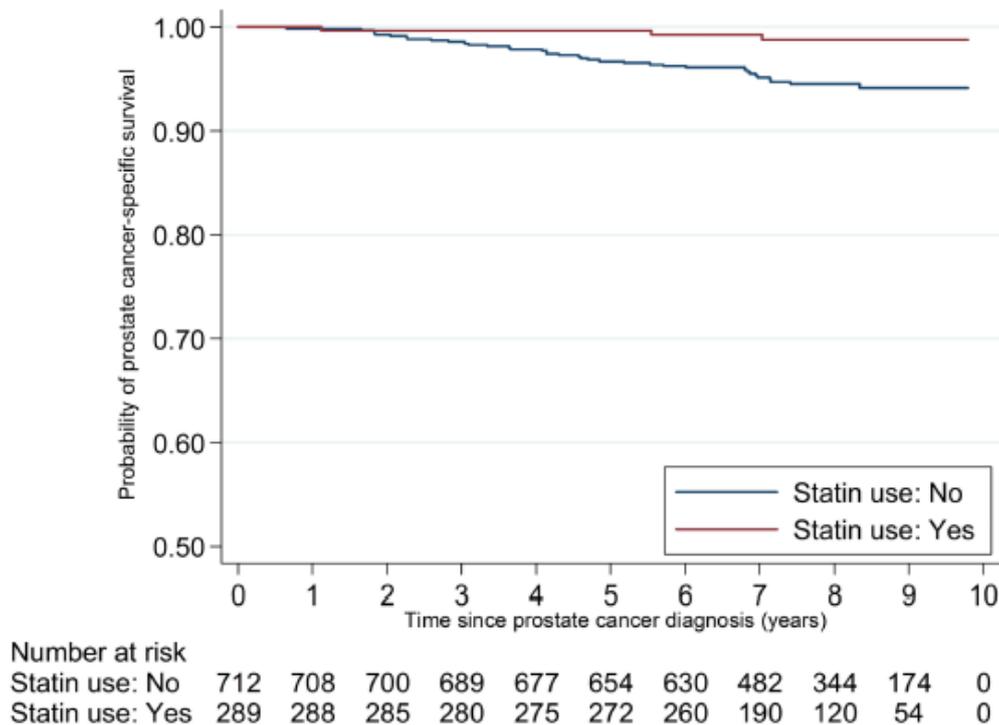


Figure 17. Probabilité de survie spécifique au cancer de la prostate selon l'utilisation de statines ou non. L'utilisation de statines est définie par au moins une prise par semaine pendant 3 mois ou plus. La valeur de p pour le test log rank est <0,01. Source : (44).

- Discussion

Dans cette étude, la prise de statine avant le diagnostic n'est pas associée à une diminution de la récurrence ou de la progression du cancer. Cependant, les auteurs observent une diminution significative de la mortalité due au cancer de la prostate chez ces mêmes utilisateurs.

L'effet des statines sur la récurrence est retrouvée dans la méta analyse de Scosyrev et al (46), cependant les auteurs de cette analyse ont retrouvé des hétérogénéités entre les différentes études. En revanche, concernant la mortalité, l'étude de Geybels rejoint celle de Nielsen et al (47). Il s'agit d'une étude portant sur l'association entre prise de statine et mort liée aux cancers. Cette étude se base sur la population danoise de plus de 40 ans qui s'est vue diagnostiquer un cancer entre 1995 et 2007 et avec un suivi jusqu'en 2009. Les auteurs de cette étude danoise ont montré une association entre prise de statines et diminution de la mortalité de 13 types de cancer incluant le cancer de la prostate. Cependant, l'étude danoise montre une réduction plus modeste dans la mortalité. Les auteurs attribuent cette différence au fait que les statines au Danemark sont prescrites à des personnes étant particulièrement en mauvaise santé ou possédant une mode de vie non sain ce qui les place dans une catégorie de risque supérieur de mort par cancer de la prostate.

- Force de cette étude

Tout d'abord, il s'agit d'une étude basée sur la population avec un suivi long concernant les causes spécifiques de mortalité. De plus, les auteurs possèdent des informations détaillées sur le mode de vie des patients et leur historique médical.

- Limites de cette étude

Il est possible que les hommes prenant des statines présentent des facteurs de morbidité significatifs et que cette compétition diminue l'observation de la mortalité due au cancer dans le groupe statine. De plus, les changements concernant l'utilisation des statines après le diagnostic n'ont pas été pris en compte. Cependant, les auteurs considèrent qu'il est peu probable que l'utilisation des statines diminue fortement après le diagnostic de cancer étant donné que les populations prenant les statines doivent les prendre à vie.

En conclusion, selon les auteurs, la prise de statines avant le diagnostic de cancer de la prostate diminue le risque de mort par ledit cancer. Ces résultats nécessitent cependant d'être reproduits avec une autre cohorte de patients possédant un suivi plus long pour une meilleure confirmation de mort par cancer de la prostate.

b) Yu et al 2013 (48)

Le but de cette étude est tout d'abord de déterminer si l'utilisation de statines après le diagnostic de cancer de la prostate est associée à une diminution de risque de mortalité par le cancer de la prostate puis de savoir si leur utilisation avant le diagnostic modifie la mortalité due au cancer.

- Méthode

Une cohorte de 11 772 hommes nouvellement diagnostiqués d'un cancer de la prostate non métastasé entre le 1^{er} avril 1998 et le 31 décembre 2009 et suivi jusqu'au 1^{er} octobre 2012 est examinée. L'âge moyen est de 71,3 ans avec une durée moyenne de suivi de 4,4 ans. Les cas sont recrutés à partir de 4 bases de données du Royaume-Uni (United Kingdom National Cancer Registry, Clinical Practice Research Datalink, Hospital Episode Statistics et l'Office for National Statistics).

Les critères d'exclusions sont les suivants :

- Patients avec cancers métastasés
- Patients ayant un suivi de moins d'un an avant le diagnostic de cancer de la prostate

Ainsi, l'inclusion démarre un an après le diagnostic de cancer et tous les patients sont suivis jusqu'à leur mort, la fin de suivi par le médecin généraliste ou fin de la période de l'étude (1^{er} octobre 2012). Pour cette étude, les statines observées sont la

pravastatine, la rosuvastatine, l'atorvastatine, la fluvastatine et la c rivasatine. Les doses sont converties en doses définies journalière (DDD) correspondant à 30 mg de simvastatine par jour. Les doses cumulées sont calculées et réparties en 4 catégories : moins de 365, de 365   731, de 731   1096 et plus de 1 096 DDDs.

Les patients sous statines de cette étude sont souvent anciennement fumeurs, obèses, prennent des antidiabétiques oraux, des antihypertenseurs et de l'aspirine.

- Résultats

L'utilisation de statines après le diagnostic de cancer est associée à une réduction de 24 % de la mortalité.

Les HR deviennent progressivement plus bas avec des prises de statines sur une longue période et dans les catégories de doses cumulées élevées (tableau 16). Une diminution de risque de mortalité de 24% est observée avec les statines lipophiles (atorvastatine, simvastatine, fluvastatine et c rivasatine) et une diminution de 35% avec les statines hydrophiles (pravastatine et rosuvastatine).

	HR ajusté	95% CI
Pas d'utilisation de statines après le diagnostic	1	Référence
Utilisation de statines après diagnostic	0,76	0,66 à 0,88
Durée cumulative en mois		
<12	0,99	0,79 à 1,24
12-24	0,82	0,68 à 0,99
24-36	0,66	0,52 à 0,83
�36	0,61	0,49 à 0,75
P	<0,01	
Doses cumulative, DDDs		
<365	0,84	0,70 � 1,02
365-731	0,80	0,66 à 0,97
731-1096	0,76	0,60 à 0,95
�1096	0,57	0,46 à 0,72
P	<0,01	

Tableau 16. L'HR ajusté pour l'association entre l'utilisation de statines après le diagnostic et risque de mortalité par le cancer de la prostate. HR est ajusté en fonction de l'âge, de l'année de diagnostic, de l'ethnie, de la consommation d'alcool et de tabac, de l'ob sitt , de l'insuffisance rénale chronique, d'infarctus du myocarde, d'AVC, d'AIT, de pathologies périphériques artérielles, de précédents cancers, du taux de PSA, du score de Gleason, de la prise de metformine, de sulfonyleur es, de thiazolidinediones, d'insuline, d'autres ADO, d'IEC, de sartans, d'antagoniste calcique, de à-bloquants, de diurétiques, d'autres antihypertenseurs, d'aspirine, d'AINS, d'inhibiteur de la 5-  réductase, de prise de statines avant diagnostic, de prostatectomie, de radiothérapie, de chimiothérapie. La DDD est basée sur une dose équivalente de 30 mg de simvastatine.

Cette étude conclut aussi que plus l'utilisation des statines est précoce, plus le risque de mortalité est diminuée, que cela concerne le cancer de la prostate ou toutes causes de mortalités confondues (tableau 17). De plus, l'utilisation de statines après le diagnostic de cancer est associée à une diminution de risque d'apparition de métastases (HR : 0,77 ; 95%CI ; 0,68 à 0,88).

	Prise de statines avant le diagnostic		Prise de statines après le diagnostic		p
	HR ajusté	95% CI	HR ajusté	95% CI	
Mortalité par cancer de la prostate	0,55	0,41 à 0,74	0,82	0,71 à 0,96	0,02
Toutes causes de mortalité	0,66	0,53 à 0,81	0,91	0,82 à 1,01	0,01

Tableau 17. Effet de l'utilisation des statines sur la mortalité avant et après diagnostic. L'HR est ajusté en fonction de l'âge, de l'année de diagnostic, de l'ethnie, de la consommation d'alcool ou de tabac, de l'obésité, de l'insuffisance rénale chronique, d'infarctus du myocarde, d'AVC, d'AIT, de pathologies périphériques artérielles, de précédents cancers, du taux de PSA, du score de Gleason, de la prise de metformine, de sulfonyles, de thiazolidinediones, d'insuline, d'autres ADO, d'IEC, de sartans, d'antagoniste calcique, de β -bloquants, de diurétiques, d'autres antihypertenseurs, d'aspirine, d'AINS, d'inhibiteur de la 5- α réductase, de prise de statines avant diagnostic, de prostatectomie, de radiothérapie, de chimiothérapie.

- Discussion

L'utilisation post-diagnostic des statines est associée à une diminution de 24 % de la mortalité due au cancer de la prostate avec une relation dose et temps-dépendantes. La plus grosse réduction se retrouve chez les patients prenant ce traitement avant le diagnostic du cancer.

À ce jour, de nombreuses études ont examiné l'association entre statine et issue du cancer avec des résultats partagés. Tout d'abord, la récurrence de la maladie est l'un des premiers résultats retrouvés avec un effet nul des statines, notamment dans l'étude de Geybels et al développée précédemment. D'autres rapportent une réduction de risque de développement de cancer allant de 30 à 43 % comme Gutt et al (49) ou Kollmeier et al (voir ci-dessous). Bien que la plupart de ces études évalue l'utilisation des statines au moment du diagnostic du cancer, aucune n'a spécifiquement quantifié l'association entre issue du cancer de la prostate et utilisation de statines après diagnostic.

Les auteurs concluent en précisant que bien que cette étude amène une preuve que l'utilisation des statines post-diagnostic diminue le risque de mort par cancer de la prostate, d'autres études observationnelles sont nécessaires pour confirmer ces résultats avant de démarrer des essais cliniques randomisés jugeant de l'effet des statines en tant qu'adjuvant thérapeutiques.

c) Kollmeier et al 2011 (50)

Le but de cette étude est d'examiner l'effet des statines sur la survie au cancer de la prostate après une radiothérapie à fortes doses.

- Méthode

Il s'agit d'une étude rétrospective concernant 1 711 patients traités pour un cancer de la prostate localisé aux stades T1 à T3 entre janvier 1995 et août 2007. Les stades T1 à T3 font partie de la classification TNM. Cette classification tient compte de la taille de la tumeur (T), de l'atteinte des ganglions par les cellules cancéreuses ou non (N) et de la présence ou non de métastases (M). Pour le cancer de la prostate, les stades T sont déterminés de la manière suivante :

- T0 : absence de tumeur.
- T1 : tumeur non palpable ou non visible en imagerie.
- T2 : tumeur limitée à la prostate.
- T3 : extension au-delà de la capsule.
- T4 : extension aux organes adjacents ou tumeur fixée à la paroi pelvienne.

947 patients, soit 56% d'entre eux, suivent aussi une thérapie antiandrogénique (ADT), consistant en la prise d'un agoniste de LHRH ou un antagoniste des récepteurs androgéniques, 2 ou 3 mois avant et pendant la radiothérapie.

Parmi ces 1711 patients, 1681 d'entre eux ont suivi une thérapie pré-radiation. 382 des 1681 patients (soit 23%) sont déjà sous statines durant le traitement pour une pathologie indépendante du cancer de la prostate. Ils forment le groupe statines. Les caractéristiques des patients sont résumées dans le tableau 18. La dose moyenne prescrite en radiothérapie est de 81 Gray (Gy). Les patients sont suivis régulièrement avec des dosages de la PSA et des examens médicaux.

Caractéristiques	Groupe contrôle	Groupe statine	P*
Age			0,66
<65	348 (27 %)	98 (26%)	
≥65	951 (73%)	284 (74%)	
Stade selon l'AJCC			0,0008
T1	621 (48%)	213 (56%)	
T2	522 (40%)	143 (37%)	
T3	156 (12%)	26 (7%)	
Score de Gleason			0,09
≤6	582 (45%)	184 (48%)	
7	490 (38%)	149 (39%)	
≥8	227 (17%)	49 (13%)	
PSA (ng/ml)			<0,0001
<10	786 (61%)	278 (73%)	
10-20	301 (23%)	74 (19%)	
>20	212 (16%)	30 (8%)	

Groupe de risque selon NCCN			<0,0001
Favorable	362 (28%)	133 (35%)	
Intermédiaire	525 (40%)	172 (45%)	
Haut	412 (32%)	77 (20%)	
Thérapie hormonale			0,0006
Non	538 (41%)	196 (51%)	
Oui	761 (59%)	186 (49%)	
Dose de radiothérapie (Gy)			<0,0001
≤75,6	222 (17%)	20 (5%)	
≥81	1077 (83%)	3 62 (95%)	

Tableau 18. Caractéristiques des 1681 patients et de leur traitement. Abréviations : AJCC=American Joint Commission on Cancer, PSA, NCCN=National Comprehensive Cancer Network, Gy=Gray, *par le test du Chi 2.

- Résultats

- Survie sans élévation de la PSA (PRFS= PSA Relapse-Free Survival)

Pendant le suivi, la nouvelle élévation de PSA est observée chez 301 patients. Le taux global de PRFS à 5 et 8 ans pour la cohorte entière est respectivement de 85% (CI 95%, 83%- 86%) et de 75% (CI 95%, 72-78%). Les résultats sont résumés dans le tableau 19.

	Taux de PRFS à 5 ans	Taux de PRFS à 8 ans
Groupe statine	89% (CI 95%, 85%-92%)	80% (CI 95%, 72%-86%)
Groupe contrôle	83% (CI 95%, 81%-85%)	74% (CI 95%, 71%-77%)

Tableau 19. Taux de PRFS à 5 et 8 ans. P<0,002.

Quand les résultats sont classés par groupe de risque, les survies globales à 5 et 8 ans pour les groupes à risque faible, intermédiaire et élevé (groupe statine versus groupe contrôle) sont respectivement de 95% (CI 95%, 93%-97%) et 89% (CI 95%, 84%-92%), 88% (CI 95%, 85%-90%) et 77% (CI 95%, 73%-81%), et 70% (CI 95%, 66%-74%) et 60% (CI 95%, 54%-65%).

Pour les patients à risque faible et intermédiaire, il n'y a pas de différence significative de PRFS observée parmi les patients prenant des statines et ceux n'en prenant pas (p=0,91 et p=0,43 respectivement). Cependant, pour les patients à haut risque, un bénéfice statistiquement significatif concernant le PRFS est observé pour les patients prenant des statines (p=0,02 ; HR ajusté 0,52 : 95% CI, 0,30-0,91). La figure 18 permet de montrer l'amélioration de la survie des patients à haut risque prenant des statines.

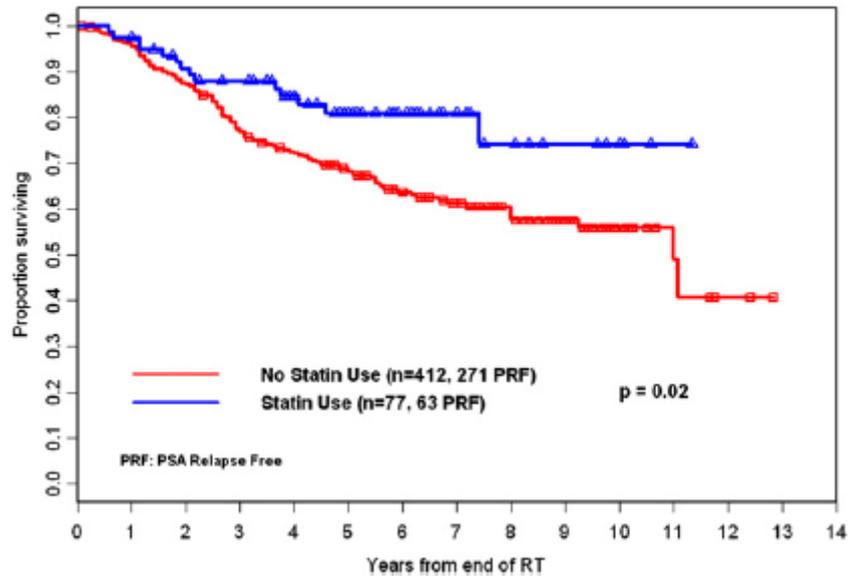


Figure 18. Courbe de Kaplan-Meier montrant la survie des patients sans nouvelle élévation de PSA classés par utilisation de statine ou non chez les patients à haut risque. RT : radiothérapie. Source : (50).

- Discussion

Cette étude reste limitée car il s'agit d'une étude rétrospective sur une petite cohorte de patients prenant des statines. De plus, il y a significativement plus de patients dans le groupe statines avec de faible risque. Le fait que l'effet favorable dans le groupe statine soit dû à l'effet protecteur des statines dans le cancer de la prostate reste à déterminer. Afin d'évaluer le rôle des statines dans la modification du pronostic de risque, des études supplémentaires impliquant des patients chirurgicaux et suivant une radiothérapie seraient bénéfiques. De plus, en regardant les patients à risque faible et intermédiaire, un suivi complémentaire serait nécessaire pour clarifier un effet bénéfique potentiel de l'utilisation des statines. Dans cette étude, le dosage et la durée d'exposition des patients aux statines ne sont pas disponibles. Ainsi, l'impact de ces variables reste inconnu.

La conclusion de cette étude est donc que l'association des statines avec de fortes doses de radiothérapie permet d'améliorer la PRFS. Cet effet reste limité aux patients souffrant de cancers de la prostate à haut risque. Là encore, un essai randomisé est nécessaire afin de confirmer l'effet des statines et leur implication dans la thérapeutique.

d) Hamilton et al 2008 (51)

Des données suggèrent que l'utilisation des statines est associée à une diminution de risque de cancer de la prostate avancé. Cependant, l'influence des statines sur le taux de PSA et l'effet des statines sur le diagnostic de cancer est inconnue. Le but de cette étude est donc d'évaluer l'effet des statines sur le taux de PSA.

- Méthode

Les données médicales utilisées sont celles du Durham Veterans Affairs Medical Center (DVAMC). Parmi tous les hommes ayant eu une prescription de statine entre le 1^{er} janvier 1990 et le 10 septembre 2006, seuls les hommes avec au moins une valeur de PSA dans les 2 ans avant et au moins une valeur dans l'année suivant la prescription de statines sont inclus.

Les critères d'exclusion sont les suivants :

- Homme dont le diagnostic de cancer de la prostate est posé.
- Homme ayant subi une prostatectomie ou une résection de la prostate.
- Homme traité par une thérapie antiandrogénique ou ayant subi une orchietomie bilatérale.
- Homme prenant du finastéride, du dutastéride ou une supplémentation androgénique pendant l'étude.
- Hommes pour lesquels une prostatite est diagnostiquée.
- Homme arrêtant la statine un mois avant l'évaluation de leur taux de PSA ou prenant des agents hypocholestérolémiants d'une autre famille que les statines dans les 3 mois précédant la prise de statines.
- Homme avec un taux de PSA avant la prise de statines supérieur à 10 ng/ml ou un taux indétectable (inférieur à 0,1 ng/ml).
- Homme dont le taux de LDL-cholestérol n'est pas connu avant le début des statines ou dans les 2 ans après le début de la prise des statines.

Pour cette étude, les doses prescrites sont traduites en dose équivalente à 20 mg de simvastatine. Ainsi 20 mg de simvastatine équivaut à 1. Ici, les doses équivalentes sont réparties en 3 groupes : <1, 1 et >1.

- Résultats

Au total, 1 214 patients sont inclus dans l'étude. L'âge moyen au début de l'étude est de 60 ans. La plupart des patients sont en surpoids ($25 < \text{IMC} < 29,9 \text{ kg/m}^2$) ou sont obèses ($\text{IMC} \geq 30$). La statine la plus prescrite est la simvastatine et la dose de départ la plus commune utilisée est de 20 mg.

Le taux de PSA médian avant l'utilisation de statine est de 0,9 ng/ml et le taux de LDL est de 144 mg/dl. La diminution moyenne de LDL est de 27,5% et le temps médian entre le début de la prise de statine et la mesure du taux de LDL est de 227

jours. La diminution de la médiane du taux de PSA est de 4,1% ($p < 0,001$) en comparaison au taux de PSA avant l'utilisation de statines. Le temps médian entre les deux mesures (pré-statines et post-statines) est de 214 jours.

Les doses égales ou supérieures à 20 mg de simvastatine sont respectivement associées à une diminution du taux de PSA plus grande de 8,4% (95% CI : 2,7% à 14,4% ; $p = 0,05$) et 9,4% (95% CI : 3,3 à 15,5% ; $p = 0,03$) que celles observées avec des doses de simvastatine inférieures à 20 mg.

La diminution du taux de PSA après l'initiation des statines est corrélée à la diminution du taux de LDL d'une manière linéaire (figure 19). En effet, pour toute diminution de 10% du taux de LDL après le début de la prise de statine, le taux de PSA diminue de 1,64% (95% CI = 0,64% à 2,65%, $p = 0,001$).

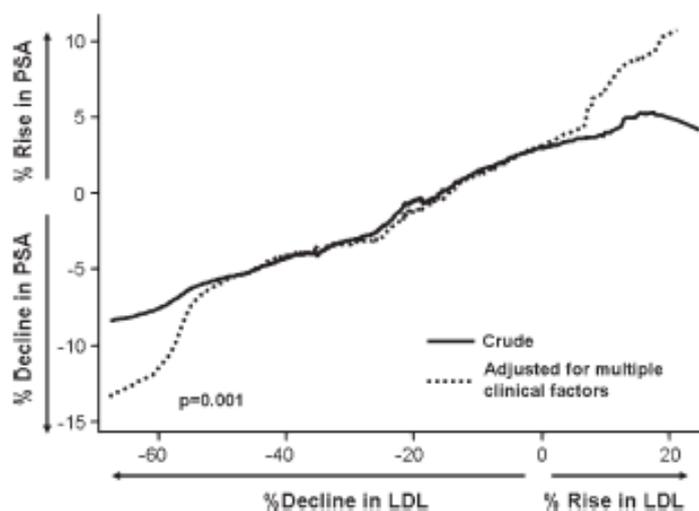


Figure 19. Association entre la diminution de la concentration de PSA et la diminution du taux LDL-cholestérol après la prise de statine. P est obtenu par une analyse de régression linéaire bivariée. $P = 0,01$. Source : (51).

• Discussion

Cette étude possède quelques limites. Les hommes avec une prostatite ou une valeur de PSA > 10 ng/ml sont exclus. Ainsi l'effet des statines n'est pas mesurable dans ces sous-groupes. Les auteurs n'ont pas non plus d'informations concernant le changement de mode de vie des hommes ayant débuté une statine. Cependant, étant donné la forte corrélation entre la diminution de PSA et de LDL, il est très probable que le déclin de la PSA soit dû à la prise de statine.

En conclusion, cette étude menée dans un groupe d'hommes sans cancer de la prostate démontre que le taux de PSA diminue significativement après le traitement par une statine. Cette réduction est plus prononcée parmi les hommes pour lesquels la diminution de LDL-cholestérol est la plus forte et la dose de statine est élevée. Les auteurs de cette étude soulèvent un point important, la diminution du taux de PSA

pourrait compliquer la détection du cancer de la prostate. D'autres études sont toutefois nécessaires pour quantifier l'impact au niveau clinique.

3) CONCLUSION

En conclusion, selon les études développées, les statines permettent l'amélioration de la survie au cancer de la prostate sans toutefois permettre la diminution des récurrences de ce cancer. Nous avons pu voir aussi que plus la durée d'exposition et la gravité du cancer sont importantes, plus l'efficacité est grande.

Il reste maintenant à savoir si les statines peuvent être utilisées en complément des thérapeutiques actuelles existantes ou si elles sont une alternative à elles seules aux autres traitements comme l'ont montré Kim et al (52) dans une expérience in vitro. Cette étude a montré que la simvastatine permet de diminuer la concentration en cellules cancéreuses résistantes à la déplétion androgénique.

Afin de répondre à ces questions, de plus amples recherches sont nécessaires.

B. CANCER COLORECTAL

1) DEFINITION ET DIAGNOSTIC (53)

a) Définition

Le cancer du côlon et le cancer du rectum sont regroupés sous le nom de cancer colorectal. Ils se développent à partir de cellules qui tapissent la paroi interne du côlon ou du rectum, le plus souvent par transformation progressive d'une tumeur bénigne. Le cancer colorectal se développe d'abord localement, puis les cellules cancéreuses peuvent migrer dans l'organisme par la circulation sanguine et le système lymphatique pour constituer des métastases. Les plus fréquentes se localisent au niveau du foie et des poumons.

Le cancer colorectal est le troisième cancer le plus fréquent. Il est la deuxième cause de mortalité par cancer. Dans 95 % des cas, le cancer colorectal survient chez des personnes de plus de 50 ans. Grâce au dépistage et à l'amélioration des traitements, la mortalité décroît.

Il existe plusieurs facteurs de risque :

- Un régime riche en viande rouge et charcuterie
- Le surpoids ou l'obésité
- Une consommation excessive d'alcool
- Le tabagisme
- Les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin comme la maladie de Crohn ou les rectocolites hémorragiques

- L'hérédité. Le risque est important si un parent ou membre de la fratrie a eu un cancer colorectal avant l'âge de 45 ans. Les formes familiales génétiques sont cependant rares (moins de 5 %)

- Diagnostic

Au début, le cancer colorectal passe inaperçu faute de symptômes et seul le dépistage proposé entre 50 et 74 ans permet de le détecter.

Si le test de dépistage du cancer colorectal est positif, cela signifie que du sang a été retrouvé dans les selles. Cela ne veut pas dire pour autant qu'il s'agisse d'un cancer. Une coloscopie (sous anesthésie générale) est donc réalisée afin de vérifier si des anomalies sont présentes ou non dans le côlon ou le rectum. En cas d'antécédent familial, une surveillance par coloscopie à partir de 45 ans est recommandée. Si des lésions sont détectées lors de la coloscopie, une biopsie est réalisée.

Si des lésions cancéreuses sont détectées, un bilan complémentaire est réalisé : dosage sanguin de marqueur tumoral, examens radiologiques.

b) Classification (54)

La classification TNM est aussi utilisée. Pour le cancer colorectal, les stades au moment du diagnostic sont indiqués en chiffres romains allant de 0 à IV (schéma 7).

- Stade 0 : La tumeur est superficielle et n'envahit pas la sous muqueuse.
- Stade I : La tumeur envahit la sous-muqueuse ou la musculuse de la paroi du côlon ou du rectum.
- Stade II : Les cellules cancéreuses ont traversé plusieurs couches de la paroi du côlon ou du rectum mais aucun ganglion n'est atteint.
- Stade III : Les cellules cancéreuses ont envahi les ganglions lymphatiques proches de la tumeur.
- Stade IV : Le cancer s'est propagé au-delà du côlon ou du rectum, vers des organes éloignés, généralement le foie et les poumons.

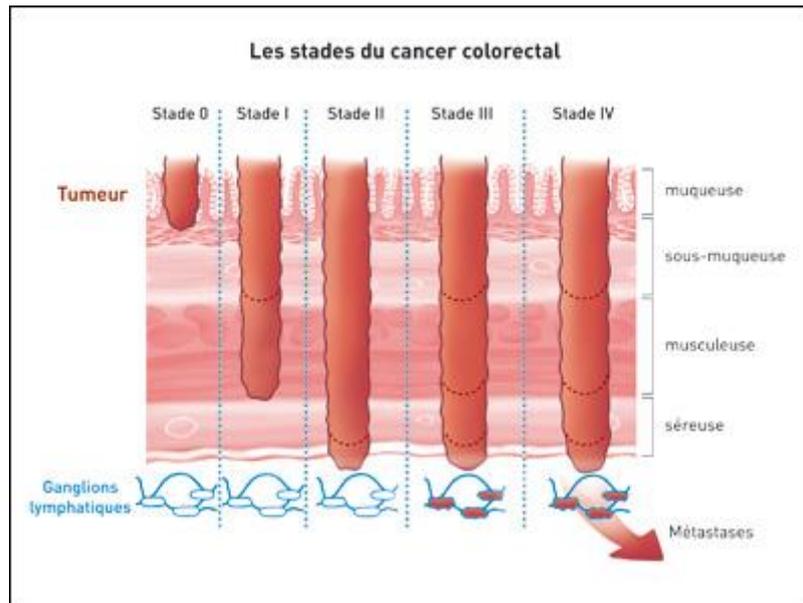


Schéma 7. Les stades du cancer colorectal. Source : (54).

2) ÉTUDES SUR LES STATINES ET LE CANCER COLORECTAL

a) Lytras et al 2014 versus Poynter et al 2005 (55)(56)

Ces deux méta-analyses montrent une réduction du risque de cancer colorectal chez les personnes prenant des statines. Cependant, les résultats quant au pourcentage de réduction de risque restent différents.

En effet, Poynter et al montrent une réduction de 47% du risque de développer un cancer colorectal alors que pour Lytras et al, il s'agirait d'une modeste réduction de risque. Pour les deux auteurs, des études supplémentaires sont nécessaires afin de clarifier ces résultats.

b) Cai et al 2015 (57)

Cette méta-analyse a pour but d'étudier la relation entre l'utilisation des statines et la survie des patients avec un cancer colorectal.

- Méthode

Les critères d'inclusion des études sont les suivants :

- Les patients inclus ont un cancer du côlon (4 études), un cancer rectal (1 étude) ou un cancer colorectal (2 études).
- L'association entre prise de statine et pronostic vital est analysée.
- Les patients ont pris des statines avant ou après le diagnostic de cancer colorectal.
- Les HRs et 95% CI sont fournis, ou les données permettant de les calculer le sont.

Au total, 7 études comprenant 70 608 patients sont retenues. 4 d'entre elles évaluent l'utilisation des statines après le diagnostic de cancer colorectal (toutes évaluent la survie totale, 3 la survie spécifique au cancer colorectal, 2 la survie sans cancer, et 2 l'absence de récurrence du cancer). 5 des études examinent la prise de statines avant le diagnostic du cancer du côlon.

3 études incluent des patients avec des cancers colorectaux de stade I à IV, une des stades I à III, une des stades I à II, une des stades III et une autre ne rapporte pas les différents stades. Les durées moyennes de suivis sont de 5 ans pour 5 études ; 2,6 pour une autre et la dernière ne rapporte pas de durée moyenne de suivi.

- Résultats

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

	Survie globale	Survie spécifique au cancer colorectal
Utilisation pré-diagnostic des statines	Bénéfice HR 0,70; 95% CI : 0,54 à 0,91, p=0,007	Bénéfice HR 0,80 ; 95% CI : 0,74 à 0,86, p<0,01
Utilisation pré et post-diagnostic des statines	Bénéfice HR 0,76 ; 95% CI : 0,61 à 0,95, p=0,016	Bénéfice HR 0,80 ; 95% CI : 0,75 à 0,85, p<0,001
Utilisation post-diagnostic des statines	Bénéfice HR 0,76 ; 95% CI : 0,68 à 0,85, p<0,001	Bénéfice HR 0,70 ; 95% CI : 0,60 à 0,81, p<0,001

Tableau 20. Effet de l'utilisation des statines sur la survie globale et la survie spécifique au cancer comparativement aux patients ne prenant pas de statines.

- Limites

Il n'y a pas eu d'analyse de sous-groupes car les données n'ont pas été suffisantes et le nombre d'étude est limité. De plus, les auteurs n'ont pas examiné l'impact des associations de médicaments sur la survie car plusieurs études ont rapporté que les patients ne prenaient pas seulement de statines mais aussi de l'aspirine ou des AINS. Ainsi, l'impact des différentes combinaisons sur le cancer colorectal nécessite d'autres études. Ensuite, cette analyse ne prend pas en compte le type de statines prescrite, leur durée d'utilisation ainsi que les doses utilisées.

- Forces

Cette méta-analyse est la première à examiner la relation entre utilisation de statine et pronostic du cancer colorectal avec un échantillon si large. De plus, une analyse de sensibilité a été menée et les résultats sont robustes.

En conclusion, les utilisations pré et post-diagnostic sont associées à une amélioration du taux de survie globale et de survie spécifique au cancer chez les

patients atteints de cancers colorectaux sans avoir d'incidence sur la récurrence du cancer.

c) Siddiqui et al 2009 (58)

Il s'agit d'une étude rétrospective ayant pour but d'examiner l'influence de la prise de statines à long terme sur le pronostic des cancers colorectaux.

- Méthode

Les patients sont recrutés à partir de la base de données des Veterans Affairs North Texas Health Care System. Il s'agit d'hommes dont le diagnostic de cancer colorectal date d'entre janvier 1997 et décembre 2003 et dont les informations sur le suivi sont disponibles jusqu'à leur mort ou jusqu'à 5 ans après le diagnostic.

Les sujets sont séparés en deux catégories : les utilisateurs de statines (patients prenant des statines au moins trois fois par semaine pendant au moins 3 ans avant le diagnostic de cancer colorectal) et les non utilisateurs de statines (aucune prise de statines).

- Résultats

Au total, 1 309 hommes sont recrutés. Leurs principales caractéristiques sont résumées dans le tableau suivant.

Age moyen	67±1,1
Ethnie	
Caucasienne	72%
Afro-américaine	24%
Hispanique	4%
IMC moyen (kg/m²)	29,2±2
Prise d'aspirine ou d'AINS (Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien)	28%
Stade moyen du cancer colorectal au moment du diagnostic	2,5±0,3
Patients présentant des métastases au moment du diagnostic	28%

Tableau 21. Principales caractéristiques des patients inclus dans l'analyse.

Les utilisateurs de statines présentent moins de métastases (OR ajusté=0,7, 95% CI : 0,4-0,9 ; p=0,004) et présentent un risque de mort diminué de 27 % dans les 5 ans (OR=0,7 ; 95% CI : 0,6 à 0,9 ; p=0,021) comparativement au groupe ne prenant pas de statines. De plus, l'utilisation de statines est associée à un plus faible stade de développement tumoral même après ajustement avec l'utilisation d'AINS et d'aspirine.

Concernant la survie, les sujets prenant des statines présentent une survie à 5 ans significativement supérieure aux sujets n'en prenant pas ($p=0,009$, figure 20).

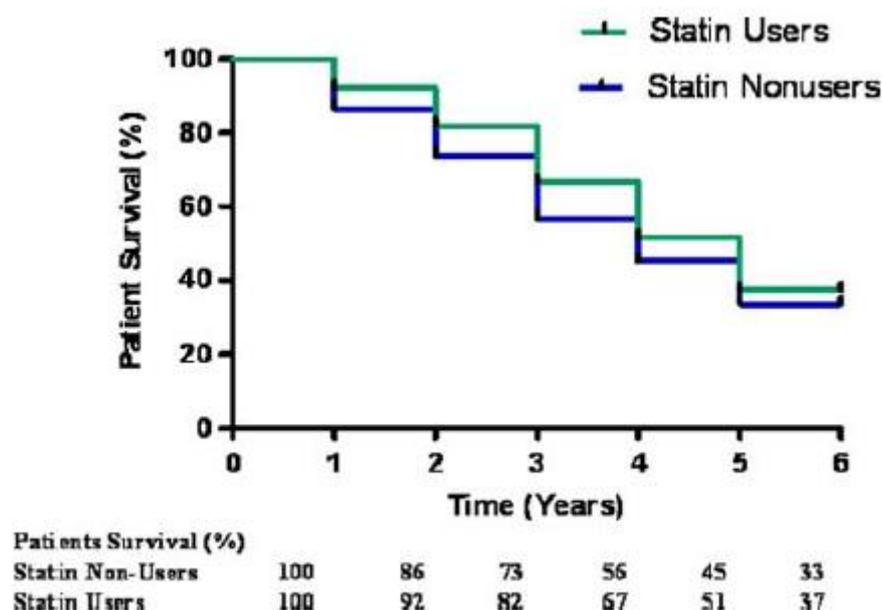


Figure 20. Le test log rank comparant la survie en année montre que les patients sous statines survivent plus longtemps que les patients n'en prenant pas. $P=0,009$. Source : (58).

- Limites de l'étude

Il y a plusieurs limites à cette étude. Tout d'abord, concernant les données sur les prises de statines, elles ont été obtenues à partir des archives de la pharmacie où les sujets prennent leurs médicaments. Ainsi, il n'y a aucune garantie quant à l'observance du traitement.

Ensuite, cette étude n'a examiné l'effet des statines que chez des hommes âgés. Il n'est donc pas certain que les résultats de cette analyse s'appliquent aux femmes ou à des hommes plus jeunes.

De plus, les patients prenant des statines sont susceptibles d'avoir eu des contrôles médicaux plus réguliers permettant ainsi une détection plus précoce du cancer, d'où un meilleur pronostic.

Enfin, les données concernant le régime alimentaire ainsi que l'activité physique n'ont pas pu être mesurées.

En conclusion, les auteurs ont montré que l'utilisation des statines à long terme est associée à une plus faible incidence de métastase, une meilleure survie et à un stade tumoral moins avancé comparativement aux patients ne prenant pas de statines. Cette relation reste significative même après ajustement en fonction de l'IMC (le surpoids et l'obésité sont des facteurs de risque du cancer colorectal) et la

prise d'AINS. Cet ajustement est important puisque dans l'analyse de Cai et al (57) citée précédemment, ce facteur faisait partie des limites de leur analyse.

3) CONCLUSION

La conclusion se rapproche de celle faite pour le cancer de la prostate.

En effet, l'utilisation des statines est liée à une meilleure survie, une plus faible incidence de métastase et à un stade tumoral moins avancé. Là encore, l'utilisation à long terme améliore ces résultats.

C. CANCER DU SEIN

1) DEFINITION ET DIAGNOSTIC

a) Définition

Le cancer du sein est le plus fréquent chez la femme.

Chaque sein contient une glande mammaire composée de quinze à vingt compartiments séparés par du tissu graisseux. Chacun de ces compartiments est constitué de « lobules » et de « canaux ». Le rôle des lobules est de produire le lait en période d'allaitement, les canaux transportent ensuite le lait vers le mamelon. La glande mammaire est entourée d'un tissu de soutien composé de fibres, de graisse et de vaisseaux sanguins et lymphatiques.

Les adénocarcinomes sont les cancers du sein les plus fréquents. Ils se développent à partir des cellules des canaux, on parle alors de cancer canalaire, ou plus rarement à partir des cellules des lobules, on parle de cancer lobulaire.

On distingue deux types de cancer du sein :

- Le cancer du sein non infiltrant ou in situ : les cellules sont confinées aux canaux et lobules.
- Le cancer du sein infiltrant : les cellules cancéreuses envahissent le tissu mammaire et peuvent s'étendre et affecter les tissus avoisinants. Elles peuvent atteindre d'autres parties du corps.

Plusieurs facteurs de risques existent :

- L'âge : près de 10% se développent avant 35 ans et plus de 50% après 65 ans.
- Antécédents familiaux.
- Facteurs hormonaux tels que les règles précoces, ménopause tardive (après 50 ans), absence de grossesse ou grossesse tardive (après 35 ans), absence d'allaitement.
- Densité mammaire : plus le sein est dense, plus le risque est important

- Surpoids et obésité
- Consommation régulière d'alcool et tabac
- Antécédents personnels de cancer du sein

Il est à noter que l'implication des contraceptifs et des traitements substitutifs hormonaux sont débattus.

- Diagnostic

Un bilan est effectué pour affirmer le diagnostic. Il comporte :

- Un examen clinique
- Une mammographie des deux seins
- Une échographie des deux seins
- Parfois une IRM mammaire
- Un prélèvement au niveau de la lésion

Un bilan complémentaire comporte des examens adaptés à chaque cas : dosages de marqueurs tumoraux, bilan sanguin, autres examens radiologiques...

- Classification

La classification TNM s'applique. Les stades du cancer du sein vont de 0 à IV.

2) ETUDES SUR LES STATINES ET LE CANCER DU SEIN

a) Murtola et al 2014 (59)

Cette étude évalue le risque de mort par cancer du sein parmi des patients prenant des statines et dont le cancer du sein a été diagnostiqué.

- Méthode

31 114 femmes sont incluses dans l'étude. Il s'agit de femmes dont le diagnostic de cancer du sein a été posé entre 1995 et 2003. Les statines les plus communément prescrites dans cette étude sont la simvastatine (48,9 %), l'atorvastatine (36,3%) et la fluvastatine (20,2%).

Au total, 1 801 femmes ont pris des statines avant le diagnostic de cancer et 2 350 femmes ont commencé les statines après le diagnostic.

Durant le suivi médian de 3,25 ans après le diagnostic, 6 011 morts sont observées dont 3 619 à cause du cancer.

- Résultats

En comparaison au groupe contrôle (ne prenant pas de statines), les personnes prenant des statines après le diagnostic montrent un risque plus faible de mort par cancer du sein (HR ajusté 0,46, 95% CI 0,38 à 0,55) alors que les femmes ayant arrêté les statines après le diagnostic ont un risque plus élevé comparativement au groupe contrôle (HR 1,67, 95% CI : 1,22-2,27). Le risque décroissant parmi les utilisateurs de statines est observé dans les cancers localisés et métastasés.

Les femmes prenant des statines avant le diagnostic et les prenant encore au moment du diagnostic ont un risque plus faible de mort par cancer comparativement au groupe contrôle (HR 0,54, 95% CI : 0,44 à 0,67) alors que les femmes ayant arrêté les statines avant l'année du diagnostic ne sont pas associées à cette diminution (HR 0,70 ; 95% CI : 0,46 à 1,07). Cette diminution de risque augmente avec la durée d'exposition et l'augmentation de la dose totale d'exposition.

Les trois statines les plus utilisées sont associées à une diminution de risque de mort chez les participants avec une tumeur localisée que ce soit en usage pré ou post-diagnostic. Bien que l'utilisation post-diagnostic de pravastatine soit liée à une diminution de risque, son utilisation pré-diagnostic ne l'est pas. De plus, parmi les participants ayant des métastases au diagnostic, seule la simvastatine montre une diminution de la mort par le cancer (tableau 22). Cependant, le manque de significativité pour les autres statines peut venir du fait que l'échantillon soit faible.

Statin type*	Breast cancer mortality					
	Localized			Metastatic		
	n of cases	n of deaths	HR (95% CI) multivar. adjusted ⁻	n of cases	n of deaths	HR (95% CI) multivar. adjusted ⁺
No post-diagnostic statin use	23,098	2,129	Reference	1,930	1,011	Reference
Simvastatin						
Post-diagnostic use	1,612	45	0.40 (0.28–0.57)	50	8	0.31 (0.14–0.69)
Pre-diagnostic use	693	28	0.67 (0.46–0.98)	41	8	0.36 (0.18–0.73)
Atorvastatin						
Post-diagnostic use	1,241	20	0.23 (0.13–0.40)	47	9	0.68 (0.34–1.36)
Pre-diagnostic use	420	7	0.42 (0.20–0.87)	35	9	1.00 (0.12–8.61)
Fluvastatin						
Post-diagnostic use	548	22	0.33 (0.17–0.63)	17	5	0.53 (0.20–1.44)
Pre-diagnostic use	246	10	0.57 (0.30–1.05)	12	4	0.73 (0.27–1.99)
Pravastatin						
Post-diagnostic use	374	14	0.45 (0.21–0.94)	10	1	-
Pre-diagnostic use	121	9	1.20 (0.62–2.32)	6	0	-

Tableau 22. Mortalité spécifique par cancer du sein chez les utilisateurs pré et post-diagnostic de statines. * Les différentes statines ne sont pas mutuellement exclusives. Ainsi, si une personne a pris deux types de statines, elle est comptée dans les deux catégories. L'HR ajusté multivariable est calculé en utilisant le modèle de régression de Cox ajusté en fonction de l'âge, du stade tumoral et de la morphologie, de la sélection du traitement et l'utilisation pré-diagnostic de statine. Source : (59).

- Discussion

Cette étude démontre donc la diminution de risque de mort par cancer du sein. Cette diminution est observée pour les cancers localisés et métastasés pour les personnes prenant des statines avant et après le diagnostic. L'association est dose-dépendante, particulièrement pour l'utilisation de statine avant le diagnostic.

La diminution de la mortalité dans cette étude apparaît dans une période à court terme dans la prise de statine post-diagnostic. Ce résultat est retrouvé dans d'autres analyses que nous allons développer plus tard.

Il paraît cependant étonnant que les femmes ayant arrêté les statines après le diagnostic aient un risque de mort plus élevé que le groupe contrôle, mais les auteurs ne développent pas plus ce point.

- Forces

Une des forces principales est que cette étude a pu recenser tous les cancers de seins diagnostiqués en Finlande de 1995 à 2003 permettant ainsi de réduire la possibilité de biais de sélection. Un autre aspect important est le fait que les auteurs ont pu connaître en détail les doses et durées d'utilisation des statines permettant ainsi de faire des estimations de dose-dépendance.

- Limites

Cette étude a plusieurs limites. En effet, elle n'a pas pu évaluer si l'effet des statines sur la mortalité est modifié par le statut des récepteurs hormonaux. De plus, les auteurs n'ont pas eu d'informations sur l'historique des dépistages du cancer du sein pouvant entraîner un diagnostic plus précoce du cancer du sein. Cette étude n'a pas pu recueillir les informations portant sur le mode de vie comme la prise d'autres médicaments en plus des statines.

En conclusion, la prise de statines diminue le risque de mort par cancer du sein qu'il s'agisse d'un cancer localisé ou métastasé. De plus, les auteurs mettent en lumière que la pravastatine pourrait être la moins efficace et la simvastatine la plus efficace. Il est possible qu'une fois encore, cela soit lié au profil lipophile/hydrophile des statines.

Ces résultats doivent cependant être confirmés par un essai clinique randomisé avant que les statines soient recommandées dans le traitement de cancer du sein.

b) Garwood et al 2010 (60)

Le but de cette étude est de déterminer l'impact biologique de l'utilisation d'une statine lipophile à court terme in situ et sur les cancers du sein invasifs.

Cette étude se focalise sur une statine lipophile car l'action des statines hydrophiles est limitée par le fait qu'il faille un transporteur pour pénétrer dans les cellules. L'hypothèse est que la prolifération décroît plus dans les tumeurs à haut grade (grade III) que dans les tumeurs à faible grade (grade I à II). Les auteurs ont donc mené une étude péri-opératoire dans laquelle une statine lipophile est prescrite dans l'intervalle entre le diagnostic par biopsie et la résection chirurgicale.

Le premier résultat mesuré est le biomarqueur Ki-67, qui est un antigène spécifique présent dans les cellules prolifératives. C'est un marqueur recherché dans les cancers du sein. Le taux de caspase 3 clivé (marqueur de l'apoptose) est aussi mesuré.

- Méthode

Les femmes sont incluses si le diagnostic de carcinome canalaire in situ (CCIS) ou de stade I de cancer du sein est confirmé par un diagnostic histologique.

Les critères d'exclusion sont la chimiothérapie néoadjuvante ou une thérapie hormonale, l'utilisation actuelle de statine, une contre-indication aux statines, ou une élévation significative des enzymes du foie ASAT (Aspartate Amino Transférase) et ALAT (Alanine Amino Transférase). Au total, 20 participants prennent 20 mg de fluvastatine et 20 autres prennent 80 mg (figure 21).

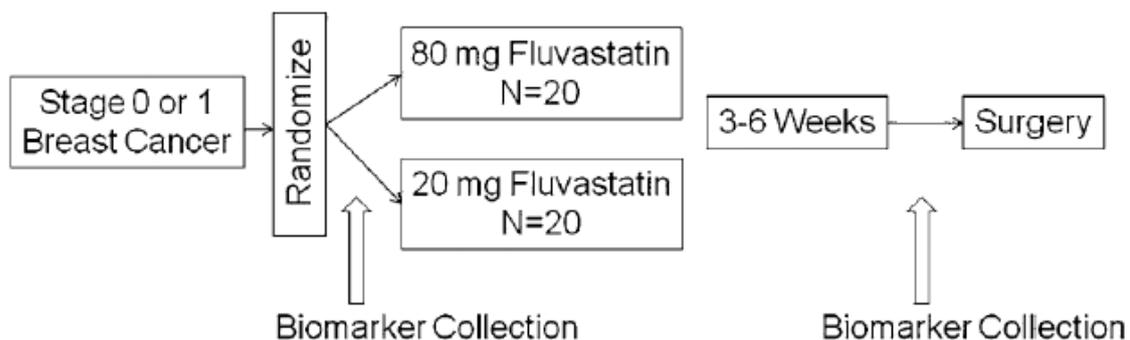


Figure 21. Organisation de l'essai avant opération. Source : (60).

La prolifération de tumeur à haut grade, estimée par le taux de Ki-67, est diminuée d'une médiane de 7,2% ($p=0,008$) lors d'un traitement par la fluvastatine pendant une période de 21 à 50 jours. Cette diminution est significativement plus grande que celle observée dans les tumeurs à faible grade ($p=0,04$). Il n'y a aucune différence d'effets entre les différentes doses de fluvastatine utilisées en termes de changement des taux de Ki-67 avant et après l'exposition aux statines.

Concernant la caspase 3 clivée, les résultats montrent que l'apoptose tumorale augmente chez 38 % des sujets traités, reste stable dans 41 % et diminue dans 21 % des cas. Les tumeurs à haut grade montrent une augmentation de l'apoptose supérieure à celle des tumeurs de faible grade (60 vs 13% respectivement, $p=0,015$. Figure 22). Il n'y a pas de différence significative au niveau de l'apoptose entre les tumeurs exprimant des récepteurs oestrogéniques ou non ($p=0,48$).

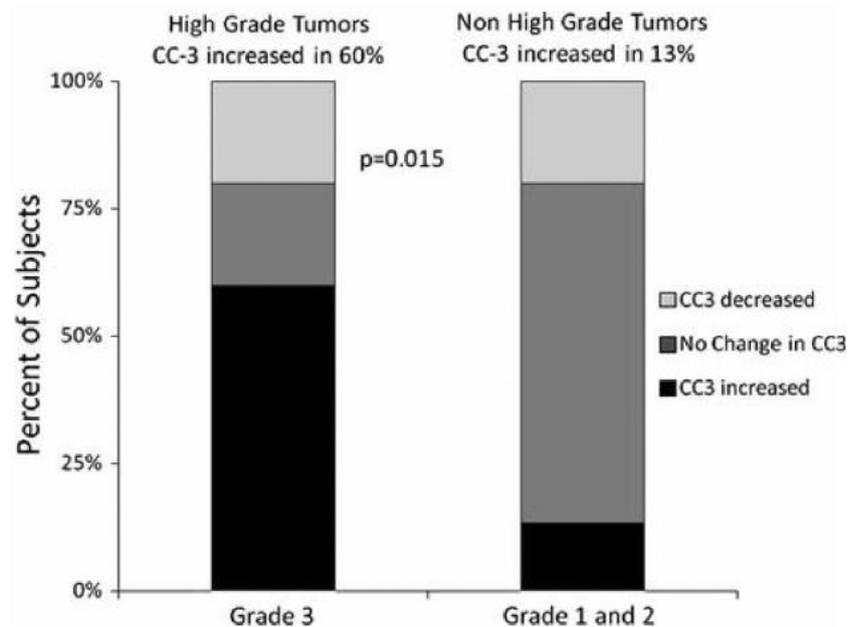


Figure 22. Modification du taux de CC-3 (caspase 3 clivée) par grade de tumeur. Source : (60).

- Discussion

Etant donné que le taux de cholestérol des patients prenant des statines a diminué pendant cette étude, cela montre bien qu'ils ont pris la fluvastatine pendant la période demandée.

L'hypothèse de départ de cette étude est que les statines sont plus efficaces sur les cancers du sein de haut grade et sur les tumeurs n'exprimant pas de récepteurs oestrogéniques. Les résultats obtenus soutiennent bien cette hypothèse.

Dans un essai similaire, Bjarnadottir et al (61) rapportent une réduction de la prolifération (par mesure du Ki-67) lors de l'utilisation d'atorvastatine à raison de 80 mg par jour pendant deux semaines. Ce résultat se limite aux tumeurs qui surexpriment l' HMG-CoA réductase.

En conclusion, les auteurs suggèrent que la fluvastatine diminue la prolifération et augmente l'apoptose des cellules tumorales. Une fois encore, la fluvastatine semble plus efficace sur les tumeurs les plus agressives.

D. CONCLUSION

En conclusion, les statines semblent avoir un effet bénéfique sur la survie des patients atteints de cancer. L'efficacité dépend de la durée d'utilisation, de la dose cumulée et de la statine. En effet, on retrouve les mêmes caractéristiques qu'avec le diabète : les statines lipophiles peuvent pénétrer dans les cellules de façon passive alors que les statines hydrophiles nécessitent la présence d'un transporteur.

À ce jour, les statines ne font pas partie de l'arsenal thérapeutique anticancéreux. Leur utilisation semble prometteuse puisque des études ont montré que les cellules cancéreuses peuvent surexprimer l'HMG-CoA réductase comme Bjarnadottir et al (61). Cependant, la question qui se pose est de savoir à quelle dose les utiliser ? Les doses administrées en clinique dans la prévention cardiovasculaire suffisent-elle ? La question de la durée se pose aussi.

Enfin, par quel mécanisme les statines exercent-elles un effet antitumoral ? C'est ce que nous allons aborder dans la partie suivante.

E. MECANISME D'ACTION ANTICANCEREUX DES STATINES

1) RAPPEL SUR LE ROLE DU METABOLISME DE L'ACIDE MEVALONIQUE DANS LES CANCERS (62)

Les caractéristiques principales d'un cancer malin sont les suivantes :

- Prolifération cellulaire
- Echappement aux suppresseurs de croissance
- Résistance à la mort cellulaire
- Réplication immortelle
- Capacité d'induire la néoangiogenèse et l'invasion cellulaire menant aux métastases
- Echappement à la surveillance des cellules immunitaires
- Reprogrammation du métabolisme énergétique

Sur ce dernier point, il a été noté que chez les cellules tumorales, la génération de deux molécules d'ATP à partir de glucose a lieu même dans des conditions aérobies inférieures à celles rencontrées dans les cellules non tumorales.

De plus, il y a aussi une augmentation de l'exportation d'Acétyl coA dans le cytosol servant de base à la synthèse de médiateur servant à la prolifération cellulaire. Ainsi, l'acétyl Coenzyme A est rendu disponible pour le métabolisme de l'acide mévalonique.

La voie du mévalonate est impliquée dans plusieurs aspects de la progression et du développement du cancer.

En effet, la voie du mévalonate permet la synthèse du FPP (Farnésyl PyroPhosphate) et GGPP (GéranylGéranylPyroPhosphate) permettant la prénylation de protéines menant à des cascades de signalisation intracellulaires aboutissant à une croissance cellulaire, une différenciation, une transcription de gènes.

La voie du mévalonate permet aussi la synthèse du cholestérol, précurseur des hormones stéroïdes telles que les œstrogènes et la testostérone. Respectivement, ces hormones sont impliquées dans les cancers du sein et de la prostate. Ainsi, une suractivité de la production du mévalonate et de cette voie participe au développement de ces cancers.

2) APOPTOSE (63)(64)

a) Rappel sur l'apoptose

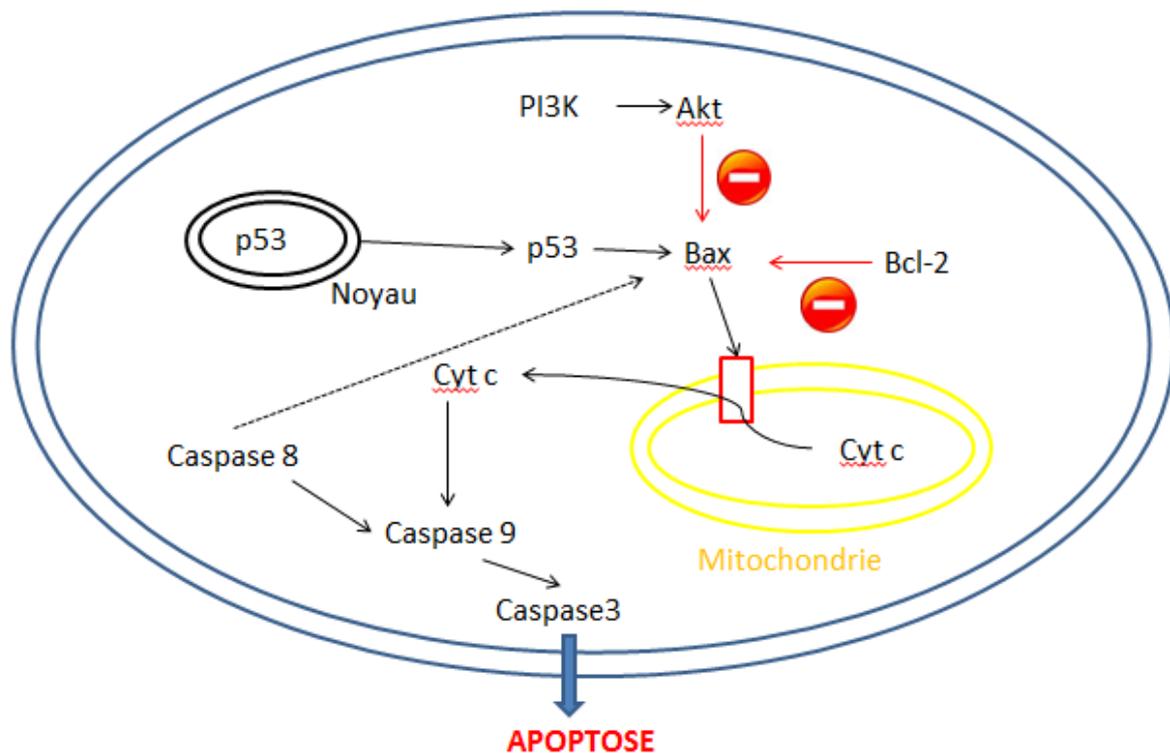


Schéma 8. Voie d'activation de l'apoptose. P53 est exprimée dans le cytosol permettant l'activation de la protéine apoptotique Bax. Celle-ci migre vers la membrane de la mitochondrie et permet le relargage de cytochrome c (cyt c) permettant l'activation de la voie des caspases menant à l'apoptose. La PI3K active Akt. Akt et la protéine Bcl-2 inhibent l'action de Bax. La caspase 8 a une action à la fois sur la protéine Bax de façon indirecte et une action directe sur la caspase 9 menant à l'apoptose.

b) Spampanato et al 2011 (65)

Le but de cette étude est de montrer que la simvastatine, à une concentration de 20 μM pendant 24 à 72h, entraîne chez les cellules cancéreuses, mais pas chez les cellules saines, une fragmentation de l'ADN, la surexpression du gène pro-apoptotique Bax et l'inhibition de Bcl-2 (B-cell lymphoma 2), gène protecteur de l'apoptose cellulaire.

Les cellules utilisées sont les suivantes :

- Cellules humaines du cancer du sein MCF7 (Michigan Cancer Foundation-7)
- Cellules humaines saines épithéliales des voies respiratoires SAEC (Human Small Airway Epithelial Cell)
- Cellule humaine de carcinome hépatocellulaire NCI-987
- Cellule de cancer du poumon non à petites cellules NCIH12299

• Résultats

Le traitement par la simvastatine induit une fragmentation de l'ADN. La fragmentation de l'ADN internucléosomique est un événement arrivant au cours de l'apoptose.

La dégradation de l'ADN se retrouve dans les cellules MCF7 traitées par de la simvastatine à raison de 20 μM alors qu'elle ne se rencontre pas chez les cellules non traitées ou chez les cellules SAEC traitées par la même concentration de simvastatine pendant 3 jours.

L'induction de l'apoptose est temps-dépendante et est minimale après 1 jour de traitement mais atteint une intensité maximale chez les cellules traitées après 3 jours (figure 23).

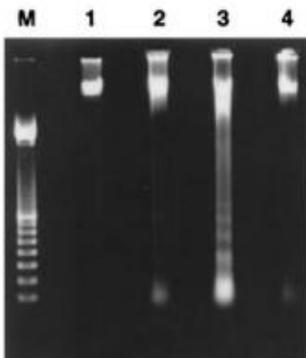


Figure 23. Fragmentation internucléosomique de l'ADN. Le traitement des cellules MCF7 par 20 μM de simvastatine pendant 24 heures induit la fragmentation internucléosomique. La ligne 1 représente les cellules MCF7 non traitées. La ligne 2 et 3 représente ces cellules traitées par la simvastatine pendant 1 et 3 jours respectivement. La ligne 4 représente les cellules SAEC traitées par la simvastatine pendant 3 jours. La ligne M sert de marqueur. Source : (65).

L'analyse TUNEL montre clairement qu'un traitement de 72 heures par de la simvastatine à 20 μM entraîne une apoptose dans cinq différents types de cellules cancéreuses mais pas chez les cellules non tumorale SAEC qui ne montrent aucun

signe d'apoptose même lorsque le traitement est prolongé au-delà de 72 heures. La méthode TUNEL est courante et permet de détecter la fragmentation de l'ADN notamment lors des cascades de signalisations apoptotiques. Cette fragmentation est visible par le marquage de l'extrémité des acides nucléiques.

Cette analyse montre que l'apoptose est évidente avec les cellules MCF7, HepG2, NCH et NCI. Là encore, plus le temps d'exposition est long, plus la mortalité cellulaire est importante.

L'analyse PCR démontre que le traitement par la simvastatine, dans cinq différents types de cellules cancéreuses, entraîne la mort par apoptose caractérisée par une augmentation de l'expression du gène pro-apoptotique Bax et en même temps, la diminution de l'expression du gène antiapoptotique Bcl-2 en comparaison avec les cellules non traitées. Dans les cellules SAEC non cancéreuses, il n'y a pas de différence d'expression de ces deux gènes après le traitement par la simvastatine (figure 24).

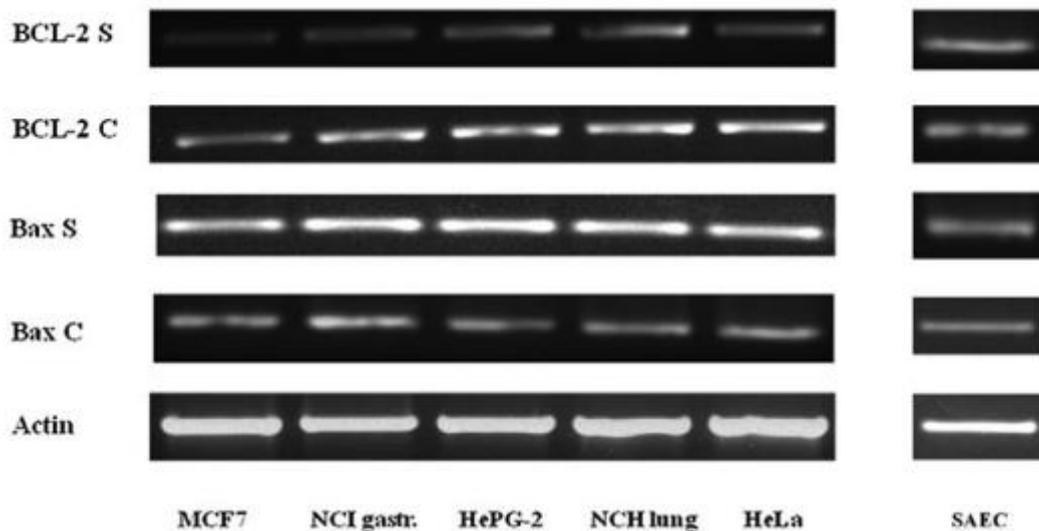


Figure 24. Analyse PCR de l'expression de Bax et Bcl-2. Le profil d'expression des gènes de Bax et Bcl-2 démontre que dans toutes les cellules cancéreuses traitées, il y a une augmentation de l'expression de Bax et une diminution de l'expression de Bcl-2 comparativement aux cellules contrôle non traitées. Au contraire, il n'y a pas de différence d'expression dans les cellules SAEC normales. L'Actine sert de contrôle interne. S : simvastatine, C : contrôle. Source : (65).

La variation de l'expression des gènes apoptotiques est confirmée par une PCR en temps réel (figure 25).

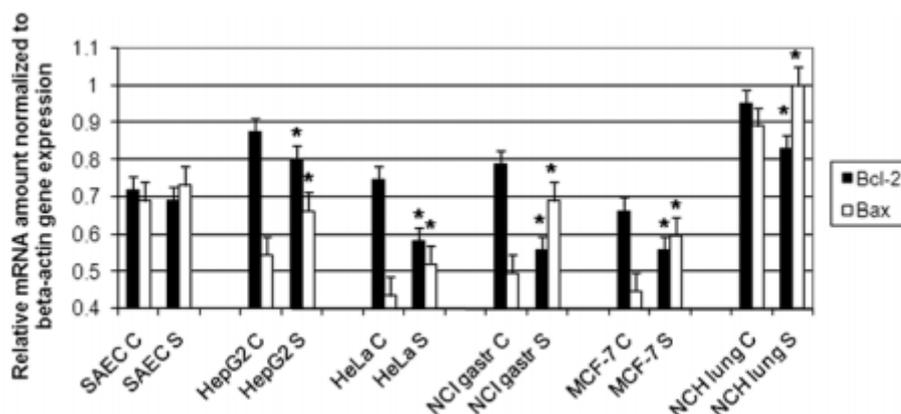


Figure 25. Analyse PCR en temps réel des gènes Bax et Bcl-2. Cette analyse montre que dans toutes les cellules cancéreuses traitées (S), il y a une augmentation de l'expression de Bax et diminution de l'expression de Bcl-2 comparativement aux cellules contrôles (C). * $p < 0,05$ vs contrôles. Au contraire, il n'y a pas de différences avec les cellules SAEC. Source : (65).

Une analyse par Western blotting est faite afin de voir les taux de protéines Bax et Bcl-2 dans cellules MCF7 traitées par la simvastatine.

Les résultats rejoignent l'analyse PCR. En effet, l'augmentation de l'expression du gène Bax entraîne une augmentation de l'expression de la protéine correspondante (figure 26).

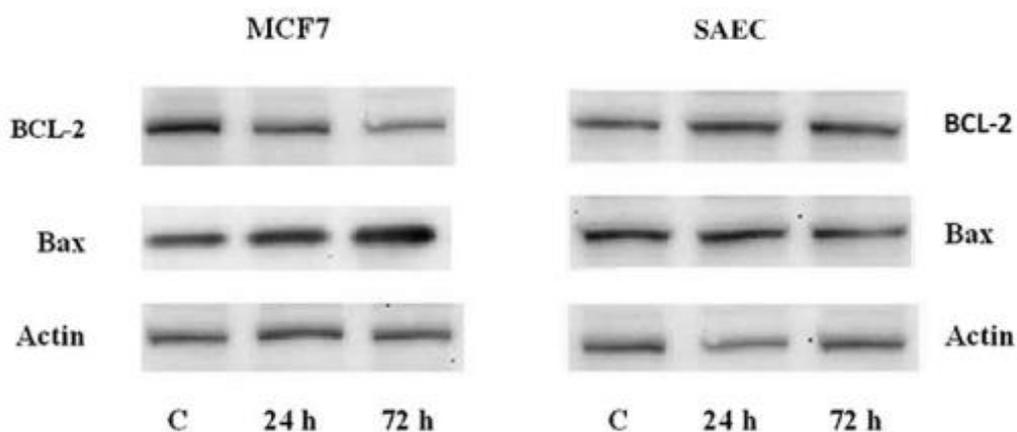


Figure 26. Analyse des protéines de l'apoptose. Le taux des protéines Bax et Bcl-2 est déterminé par Western blotting après 24 et 72 heures de traitement par la simvastatine des cellules MCF7 et SAEC. L'actine sert de témoin. C signifie que les cellules ne sont pas traitées pendant 72 heures. Cela montre bien que l'incubation avec la simvastatine entraîne une augmentation de l'expression de la protéine Bax et une diminution de l'expression de la protéine Bcl-2 de façon temps-dépendante pour les cellules cancéreuses MCF7. Source : (65).

- Conclusion

Cette étude montre que les statines sont capables d'induire l'apoptose dans différentes cellules cancéreuses et que le mécanisme de cet effet implique la régulation de l'expression des gènes Bax et Bcl-2.

Il est intéressant de voir que la statine n'a aucun effet sur les cellules normales, ce qui n'est pas le cas de l'arsenal thérapeutique actuel utilisé lors des cancers.

c) Agarwa et al 1999 (66)

Le postulat de cette étude est que les statines, en inhibant la production de FPP et GGPP, ont une influence importante sur la prolifération, l'apoptose et la différenciation des cellules. Seulement, les doses nécessaires à ces effets, en particuliers sur les tumeurs solides, ne peuvent être atteintes sans toxicité. La question est donc de savoir si, à des doses plus faibles, les statines augmentent l'efficacité des médicaments utilisées en chimiothérapie et peuvent donc leur être associés.

Pour cette étude, 4 lignées cellulaires du cancer du côlon humain sont étudiées : SW480, HCT116, LoVo et HT29. La statine évaluée est la lovastatine, et elle est utilisée en complément de cisplatine et de 5-FU.

- Résultats

- Effet de la lovastatine sur l'apoptose.

Pour déterminer la sensibilité relative de chaque lignée vis-à-vis de l'apoptose induite par la lovastatine, les cellules à 50% de confluence sont exposées pendant 48 heures à des concentrations de lovastatine de 10 à 30 μM .

L'apoptose est ensuite quantifiée par cytométrie de flux. La lovastatine entraîne une augmentation de l'apoptose de façon dose-dépendante dans les 4 lignées cellulaires. La lignée HT29 est plus résistante à la lovastatine mais subit quand même l'apoptose à des concentrations de 100 μM de lovastatine (figure 27).

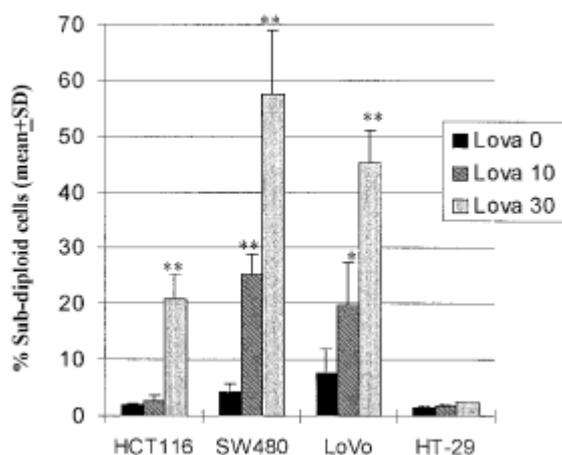


Figure 27. Induction de l'apoptose dans les cellules cancéreuses du côlon. Les cellules HCT116, SW480, LoVo et HT29 sont portées à 50% de confluence, incubées avec de la lovastatine (10 et 30 μM) pendant 48 heures et récoltées pour quantifier l'apoptose par cytométrie de flux. L'apoptose est déterminé par le pourcentage de cellules subdiploïdes (cellules dont le matériel génétique n'est pas complet). Les données sont représentées en moyenne \pm écart type (SD).*, $p < 0,05$;**, $p < 0,01$ vs Lova 0. Source : (66).

- Effet du prétraitement par la lovastatine sur l'apoptose induite par le 5-FU et le cisplatine

Pour déterminer si la lovastatine améliore l'apoptose induite par la chimiothérapie, les cellules sont pré-traitées pendant 48 heures avec de la lovastatine, suivi par un traitement de lovastatine et 5-FU ou cisplatine pendant 48 heures (tableau 23).

Etant donné que les sensibilités des différentes lignées face à la lovastatine sont différentes, les concentrations utilisées ne sont pas les mêmes. De même pour l'utilisation de 5-FU et cisplatine (figure 28).

Lignées cellulaires	SW480	HCT116	LoVo	HT29
Concentration en Lovastatine	0, 5 et 10 μ M		0,10 et 30 μ M	
Concentration en 5-FU et cisplatine	50 μ g/ml ou 20 μ g/ml respectivement		75 μ g/ml ou 30 μ g/ml respectivement	
Effets sur l'apoptose				
5-FU + lovastatine	\nearrow 22 \pm 3% à 35 \pm 3%	\nearrow 45 \pm 5% à 62 \pm 3%	\nearrow 28 \pm 15% à 75 \pm 7%	\nearrow 17 \pm 1% à 62 \pm 9%
Cisplatine+ lovastatine	\nearrow 15 \pm 2% à 22 \pm 5%	\nearrow 9 \pm 2% à 37 \pm 5%	\nearrow 44 \pm 12% à 86 \pm 10%	\nearrow 36 \pm 10% à 81 \pm 8%

Tableau 23. Effets de l'association de lovastatine et de 5-FU ou cisplatine sur l'apoptose des différentes lignées cellulaires.

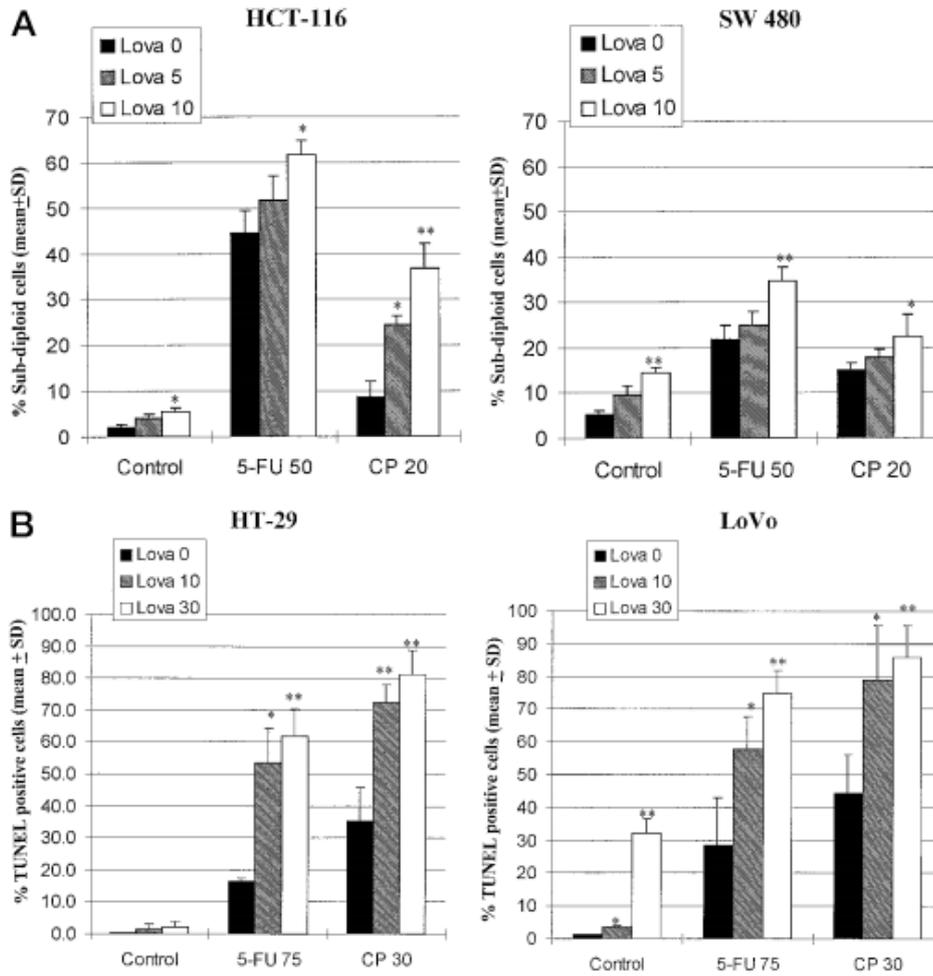


Figure 28. Le prétraitement par la lovastatine augmente l'apoptose induite par le 5-FU ou le cisplatine. Les cellules HCT116, SW480, LoVo et HT29 sont portées à 50% de confluence et traitées par de la lovastatine pendant 48 heures. Les cellules sont ensuite incubées pendant 48 heures avec la lovastatine (5 et 10 μ M pour HCT116 et SW480, 10 et 30 μ M pour HT29 et LoVo) \pm 5-FU (50 ou 75 μ g/ml) ou cisplatine (CP ,20 ou 30 μ g/ml), récoltées et l'apoptose est quantifiée par cytométrie de flux. Les cellules contrôles sont traitées par la lovastatine mais pas par le 5-FU ou le cisplatine. Le prétraitement par la lovastatine augmente l'apoptose de façon dose-dépendante. A, apoptose quantifiée par le pourcentage de cellules subdiploïdes avec SW-480 et HCT-116. B, apoptose quantifiée comme le pourcentage de cellules positives au marquage TUNEL dans les cellules HT-29 et LoVo.*, $p<0,05$;** $p<0,01$. Source : (66).

À titre de comparaison, dans les cellules HT29, une concentration de 400 μ g/ml de 5-FU entraîne 60 \pm 9% d'apoptose alors que l'association de 75 μ g/ml de 5-FU à 30 μ M de lovastatine entraîne 61 \pm 9% d'apoptose.

Le prétraitement par la lovastatine décroît ainsi le nombre de cellules cancéreuses viables par le 5-FU ou le cisplatine (figure 29). Ainsi la lovastatine permet d'augmenter la cytotoxicité des chimiothérapies testées. Cependant, le mécanisme de cette action synergique est à déterminer.

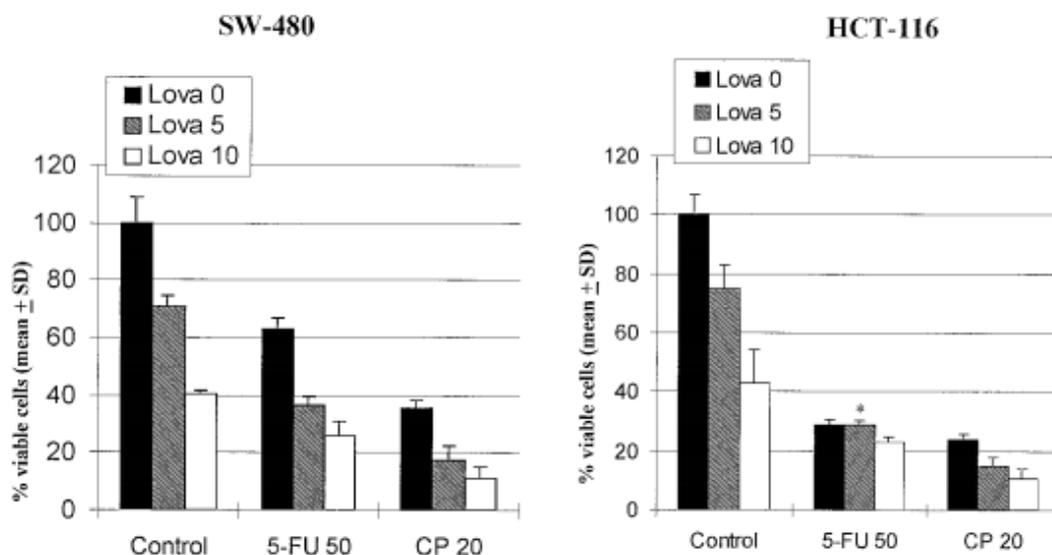


Figure 29. Le prétraitement par la lovastatine réduit la viabilité des cellules après traitement par le 5-FU ou le cisplatine. Les cellules SW-480 et HCT116 sont incubées avec de la lovastatine (0,5 et 10 μ M) pendant 48 heures. Le 5-FU (50 μ g/ml) ou le cisplatine (20 μ g/ml) sont ajoutés et les cellules sont incubées 48 heures de plus. Les cellules contrôles sont traitées par la lovastatine avec ou sans 5-FU ou cisplatine.

*, non significatif vs Lova 0. Source : (66).

- L'ajout de GGPP empêche les effets synergiques du cisplatine et 5-FU avec la lovastatine.

Pour élucider le mécanisme d'action par lequel la lovastatine améliore l'apoptose déclenchée par le 5-FU ou le cisplatine, des expériences supplémentaires sont faites en utilisant des métabolites intermédiaires produits lors de la synthèse de cholestérol.

Seule, la lovastatine entraîne l'apoptose et augmente l'apoptose induite par le 5-FU et le cisplatine dans les cellules SW480 et HCT116. L'ajout de mévalonate et de FPP à raison de 100 μ M n'entraîne pas d'effet sur l'apoptose. En revanche, l'ajout de 10 μ M de GGPP empêche l'action synergique de la lovastatine avec le 5-FU ou le cisplatine (figure 30).

Ce résultat peut sembler étonnant. En effet, le mévalonate est un précurseur du GGPP. De plus, dans les expériences qui seront développées à la suite, le mévalonate permet l'inhibition de l'effet des statines. Cependant, il est possible que les éléments nécessaires à la synthèse du GGPP depuis le mévalonate ne soient pas présents dans le milieu.

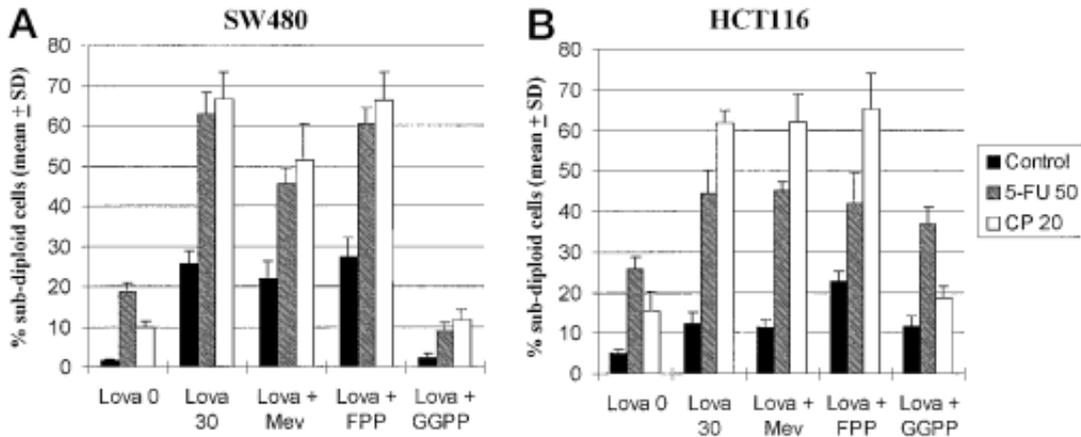


Figure 30. Le GGPP mais pas le FPP empêche l'augmentation par la lovastatine de l'apoptose induite par le 5-FU ou le cisplatine. Les cellules SW480 et HCT116 sont cultivées jusqu'à 50% de confluence, ensuite, est administré à 30µM de lovastatine 100 µM de mévalonate (Mev), 100 µM de FPP ou 10 µM de GGPP. Les cellules sont incubées pendant 48 heures. Ensuite 50 µg/ml de 5-FU ou 20 µg/ml de cisplatine sont administrés aux cellules traitées par la lovastatine et les isoprénoides, les cellules sont par la suite incubées et collectées pour la cytométrie de flux. Les cellules contrôles sont traitées par la lovastatine et les isoprénoides mais pas par le 5-FU ou le cisplatine. L'apoptose est quantifiée par le pourcentage de cellules subdiploïdes. La lovastatine entraîne l'augmentation de l'apoptose induite par le cisplatine ou le 5-FU et son effet est inhibé par l'addition de GGPP mais pas par l'ajout de mévalonate ou FPP. Source : (66).

- La lovastatine altère l'expression de Bax et Bcl-2

Dans les cellules HT29, un Western blotting est effectué après exposition à la lovastatine.

L'apoptose induite est accompagnée par une diminution par huit de la concentration en protéine antiapoptotique Bcl-2 et une augmentation par 3 de la concentration de la protéine pro-apoptotique Bax (figure 31).

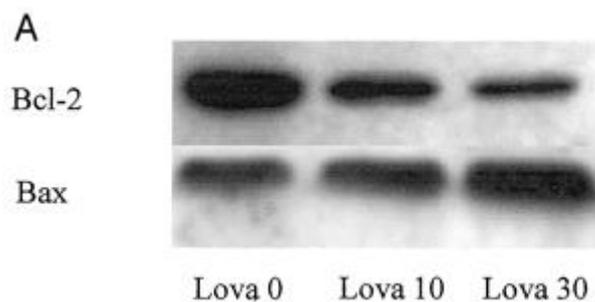


Figure 31. Western blotting pour l'expression des protéines Bax et Bcl-2 dans les cellules traitées par la lovastatine. Les cellules HT29 sont traitées par la lovastatine pendant 48 heures puis collectées. Lova 0 :cellules non traitées. Lova 10, Lovastatine à 10 µM. Lova 30, Lovastatine à 30 µM. La lovastatine augmente l'expression de Bax et diminue l'expression de Bcl-2. Source : (66).

- Conclusion

Le traitement des cellules par la lovastatine entraîne l'apoptose dans les 4 lignées cellulaires.

De plus, le prétraitement de ces cellules cancéreuses du côlon par la lovastatine a pour résultat l'augmentation de l'effet pro-apoptotique du 5-FU et de cisplatine.

Cette augmentation est réversible par l'ajout de GGPP mais pas de mévalonate ni de FPP. De plus, le traitement par la lovastatine a pour conséquence l'augmentation de la concentration de la protéine Bax et la diminution de la protéine Bcl-2.

Cependant, nous avons vu que la sensibilité des cellules à la lovastatine est différente.

En effet, les cellules HT29 sont les moins sensibles à l'apoptose déclenchée par la lovastatine. Ces cellules expriment une protéine Ras normale alors que les cellules SW480, HCT116 et LoVo possèdent une mutation de cette protéine, exprimant une protéine K-Ras oncogène. Les protéines Ras appartiennent à la famille des petites protéines G (au même titre que la protéine Rho). Ces protéines possèdent des isoformes formés à partir d'une mutation du gène Ras. K-Ras est l'un de ses isoformes. Ainsi, la présence d'une mutation pourrait améliorer l'efficacité de lovastatine vis-à-vis de l'apoptose.

Malgré tout, les cellules HT29 subissent l'apoptose, ceci permettant de penser que l'apoptose induite par la lovastatine n'est pas entièrement dépendante de la mutation de Ras.

Cette étude montre aussi que le prétraitement des cellules par la lovastatine augmente l'apoptose induite par le cisplatine ou le 5-FU. Cependant, elle ne conclut pas quant au comportement de cette association sur les cellules non cancéreuses. Cette conclusion rejoint l'analyse de Katz et al (67) montrant l'effet des statines en association à une chimiothérapie néo-adjuvante sur des cancers rectaux. Cette étude ne pouvait conclure en raison d'une valeur de $p < 0,05$ ne pouvant être atteinte mais les résultats semblaient montrer que l'association entraînait une meilleure réponse à la chimiothérapie.

L'augmentation de l'apoptose est dose-dépendante. Les auteurs suggèrent donc que la lovastatine soit utilisée lors des cycles de chimiothérapie pour améliorer la mort des cellules tumorales plutôt qu'au long cours pour éviter les proliférations tumorales.

De plus, cette utilisation cyclique permettrait de minimiser les effets indésirables ayant lieu sous haute dose de lovastatine administrée sur une longue période.

En conclusion, la lovastatine permet d'augmenter l'apoptose induite par le cisplatine et le 5-FU. Il semblerait que cette action soit due à une inhibition de la géranylgéranylation des protéines de la famille Rho (principalement géranylgéranylée). Cette augmentation est aussi due à la surexpression de la protéine Bax et la sous-expression de la protéine Bcl-2.

Il est possible que la voie intracellulaire déclenchée par Rho diminuant l'activité de Bcl-2 soit la voie PI3K-Akt.

d) Lee et al 2010 (68)

L'effet pro-apoptotique des statines est médié par la diminution d'isoprénoides comme le FPP et le GGPP.

Il a aussi été montré que l'apoptose induite par les statines implique la régulation des membres de la famille Bcl-2 que l'on retrouve dans la voie de l'apoptose mitochondriale.

Cette étude s'intéresse aux effets de la simvastatine sur les cellules de fibrosarcome MethA de souris.

- Résultats

- Simvastatine et voie du mévalonate dans l'apoptose

La fragmentation de l'ADN et l'activation de la caspase-3 causées par la simvastatine sont inhibées par la supplémentation en mévalonate et l'ajout d'un inhibiteur de caspase. De même, l'ajout de GGPP et FPP inhibe cet effet apoptotique.

Tout cela indique donc que l'apoptose déclenchée par la simvastatine implique la voie du mévalonate et dépend de l'activation de la caspase-3.

- Simvastatine et p53

Comme nous l'avons évoqué précédemment, p53 joue un rôle essentiel par induction de protéines pro-apoptotiques comme Bax. En condition de stress, l'accumulation de p53 dans le cytosol joue un rôle critique dans la perméabilisation de la membrane mitochondriale. P53 active directement la protéine Bax cytosolique qui est redistribuée vers la mitochondrie et permet le relargage du cytochrome c depuis la mitochondrie vers le cytoplasme.

Par Western blotting, l'étude montre que la translocation de p53 et Bax vers la mitochondrie est significativement améliorée après l'exposition des cellules MethA à la simvastatine et est accompagnée par le relargage de cytochrome c dans le cytoplasme (figure 32).

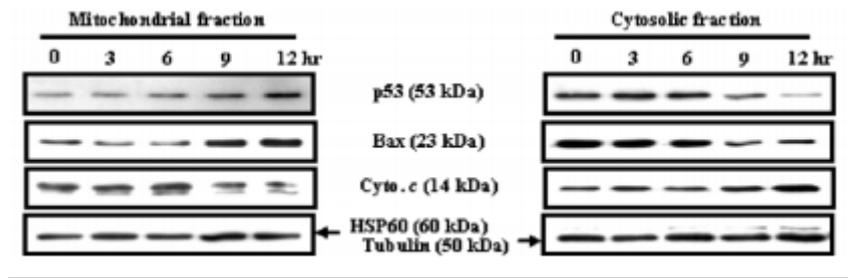


Figure 32. La simvastatine entraîne la migration de p53 du noyau vers la mitochondrie s'accompagnant de la migration de la protéine Bax vers la mitochondrie et du relargage de cytochrome c. Pour déterminer la localisation de p53, les cellules MethA sont traitées par 1 μ M de simvastatine et les taux des protéines p53, Bax, Cytochrome c (cyto.c) sont déterminés par Western blotting dans les fractions cytosoliques et mitochondriales. Les protéines HSP60 et tubuline servent de contrôles internes. Source : (68).

- Discussion

Cette étude montre donc que la simvastatine entraîne la translocation de p53 et celle de la protéine Bax du cytosol vers la mitochondrie des cellules MethA. On retrouve aussi une augmentation du relargage du cytochrome c de la mitochondrie vers le cytoplasme.

La déplétion en FPP et GGPP est responsable de la voie de l'apoptose mitochondriale. Ainsi, il est possible que les petites protéines G Rho et Ras soient impliquées puisqu'elles nécessitent une isoprénylation pour être actives.

Ce résultat rejoint les études précédentes en mettant en avant le fait que la simvastatine permet l'augmentation de la concentration de la protéine Bax via l'action de p53. Cette action se ferait via la diminution de l'activation des petites protéines G Rho et Ras par déplétion en isoprénoides.

e) Kaneko et al 2007 (69)

D'après Kaneko et al, l'apoptose induite par la lovastatine se joue via l'inhibition de la protéine Ras et de la voie Ras-PI3K-Akt.

Cette étude a pour but de regarder les effets de la lovastatine sur trois lignées cellulaires humaines du cancer du côlon (SW480, LS180 et HT-29) et de voir son influence sur la survivine. La survivine est une protéine de la famille des inhibiteurs de l'apoptose. Elle a pour rôle d'inhiber l'activation des caspases permettant ainsi d'empêcher la mort programmée par apoptose.

Nous allons voir les effets de la lovastatine sur la régulation de cette protéine, sur l'apoptose et par quel mécanisme moléculaire la lovastatine permet ces effets.

- Résultats

- La lovastatine entraîne l'apoptose dans les cellules du cancer du côlon

Afin de voir l'effet de la lovastatine sur l'apoptose, les cellules SW480, LS180 et HT-29 sont cultivées avec différentes concentrations de lovastatine (5 à 20 μM) pendant 96 heures. La croissance des trois lignées cellulaires est inhibée de façon dose-dépendante. Les CI_{50} sont 7,1 , 25,3 et 46,8 μM pour les cellules SW480, LS180 et HT-29 respectivement.

L'ajout de mévalonate à des concentrations supérieures à 50 μM inhibe les effets de lovastatine. Cette expérience rejoint les résultats décrits précédemment. Les effets des statines sur l'apoptose se font via la déplétion de métabolites de la voie du mévalonate.

- La Lovastatine diminue l'expression de survivine dans les cellules du cancer du côlon

Afin d'identifier le mécanisme moléculaire par lequel la lovastatine induit l'apoptose, Kaneko et al examinent l'expression de protéines antiapoptotiques, incluant les membres de la famille IAP (Inhibitor of Apoptosis Protein) (survivine, XIAP, cIAP-1 et cIAP-2) et de la famille Bcl-2 (Bcl-2 et Bcl-X1) par Western blotting dans les cellules SW480 traitées par la lovastatine.

Comme le montre la figure 33, seule l'expression de survivine est atténuée par la lovastatine. Son expression devient même indétectable 48 heures après le début du traitement.

Cependant, l'addition de mévalonate inhibe les effets de la lovastatine (figure 33).

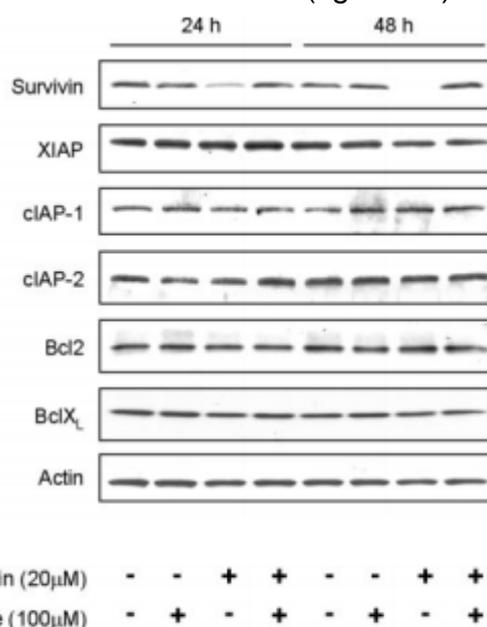


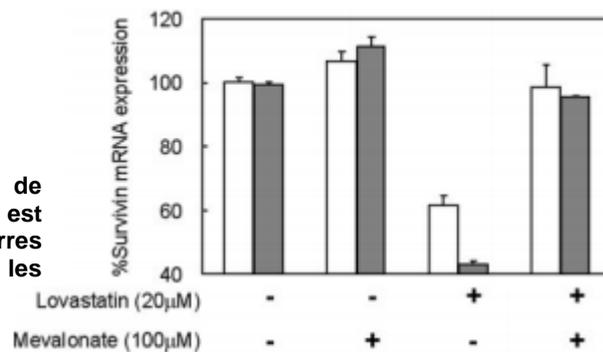
Figure 33. La lovastatine diminue les taux de la protéine survivine. Les cellules SW480 sont cultivées avec 20 μM de lovastatine en présence ou absence de 100 μM de mévalonate pendant 24 ou 48 heures. Le taux d'expression des protéines antiapoptotiques est examiné par Western blotting. L'actine sert de contrôle. Source : (69).

La lovastatine n'a aucun effet sur l'expression de la protéine Bax (données non montrées).

Afin de savoir, si la diminution du taux de la protéine survivine se fait via une inhibition de la transcription, une PCR en temps réel est faite afin de quantifier l'ARNm (Acide ribonucléique messager) de la survivine dans les cellules SW480 traitées par 20 μ M de lovastatine.

L'expression de l'ARNm dans les cellules traitées par la lovastatine décroît de 60 % en comparaison avec les cellules non traitées à J+2. Là encore, l'effet de la lovastatine est inhibé par l'addition de mévalonate (figure 34).

Figure 34. La lovastatine diminue l'expression de l'ARNm de la survivine. L'ARNm de la survivine est quantifié en faisant une PCR en temps réel. Les barres blanches représentent 24 heures de traitement et les barres grises 48 heures. Source : (69).



Afin de vérifier que l'apoptose induite par la lovastatine est due à la diminution de la survivine, les auteurs transfectent un gène aux cellules cancéreuses permettant la surexpression de la survivine. Les effets de la lovastatine sont inhibés, cela confirme donc que l'apoptose est due à la diminution de l'expression de la survivine. Ainsi, la première partie de cette étude montre que l'inhibition de la survivine par la lovastatine entraîne l'apoptose dans les cellules du cancer du côlon, et que cette inhibition est due à la déplétion en mévalonate ou en un de ses métabolites.

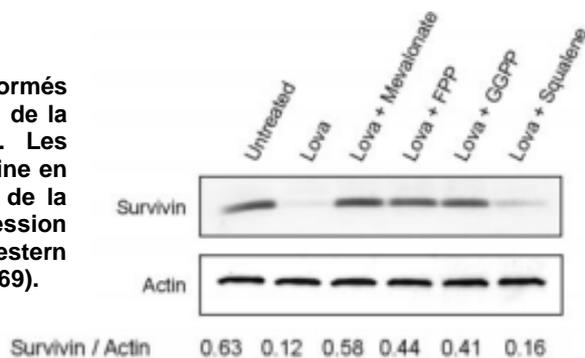
Il reste donc à déterminer quels métabolites entrent en jeu.

- La déplétion en FPP et GGPP contribue à la diminution de l'expression de la survivine.

Les cellules SW480 sont incubées avec 20 μ M de lovastatine pendant 48 heures en présence, ou non, de mévalonate, FPP, GGPP et squalène.

Comme nous pouvons le voir dans la figure 35, la présence de mévalonate, de FPP et de GGPP reverse l'inhibition de l'expression de la survivine induite par la lovastatine alors que le squalène n'a aucun effet.

Figure 35. Effets des métabolites intermédiaires formés lors de la synthèse du cholestérol sur l'expression de la protéine survivine en présence de lovastatine. Les cellules SW480 sont traitées par 20 μ M de lovastatine en présence ou absence de plusieurs intermédiaires de la synthèse du cholestérol pendant 48 heures. L'expression de la protéine survivine est examinée par Western blotting. L'actine sert de contrôle interne. Source : (69).



Puisque la synthèse de GGPP nécessite du FPP et un isopentényl pyrophosphate (autre intermédiaire de la voie de synthèse du cholestérol), l'addition seule de FPP ne peut entraîner la production de GGPP. Ainsi, la déplétion en FPP et GGPP pourrait contribuer à cette inhibition d'expression de la survivine.

À présent, il est intéressant de savoir par quel biais le FPP et le GGPP participent à ce mécanisme d'action.

- L'action de la lovastatine implique l'inhibition de la PI3K par inhibition de l'isoprénnylation de Ras.

Les protéines Ras (H-Ras, N-Ras, K-Ras) jouent un rôle important dans la prolifération et la survie cellulaire. Pour cela, les protéines Ras doivent être localisées au niveau de la membrane plasmique. Cette localisation est uniquement possible par une isoprénnylation.

Les cellules SW480 sont traitées par 20 μ M de lovastatine pendant 48 heures. Son effet sur Ras est analysé par Western blotting. Le taux de protéine Ras isoprénnylée est diminué en présence de lovastatine. L'addition de mévalonate, FPP et GPP mais pas de squalène inhibe cet effet.

Puisque les changements dans les taux d'isoprénnylation de Ras correspondent avec ceux de l'expression de survivine, l'inhibition de l'isoprénnylation de Ras pourrait être liée à la diminution de l'expression de la survivine (figure 36 A et B).

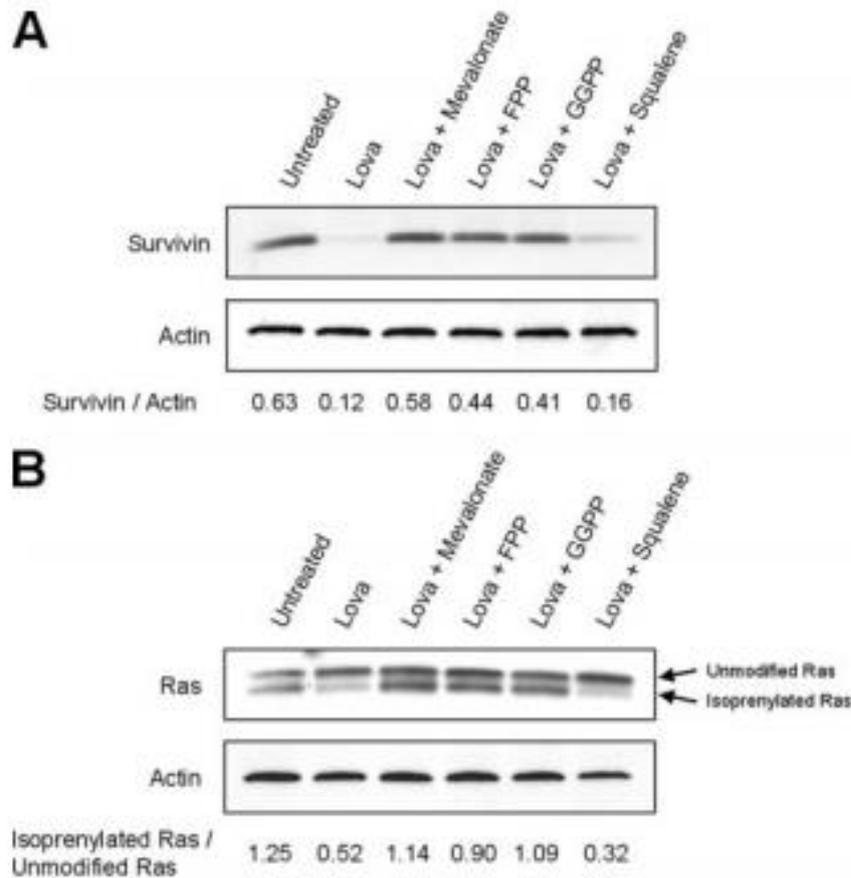


Figure 36. La diminution du taux de la survivine implique l'inhibition de l'isoprénnylation de Ras. Effet des métabolites intermédiaires formés lors de la synthèse du cholestérol sur l'expression de la protéine survivine (A) et l'isoprénnylation de Ras (B) dans les cellules SW480 traitées par la lovastatine. Les cellules sont traitées par 20 μM de lovastatine en présence ou absence d'intermédiaires de la synthèse de cholestérol pendant 48 heures. L'expression de la protéine survivine (A) et le taux de protéine Ras isoprénnylée (B) sont examinés par Western blotting. L'actine sert de contrôle interne. Source : (69).

Puisque la protéine Ras isoprénnylée permet la signalisation de la voie PI3K-Akt, les auteurs traitent les cellules SW480 avec 20 μM de LY294002, qui est un inhibiteur de la voie PI3K-Akt, pendant 24 heures. L'ajout de cette molécule diminue l'expression de survivine. La voie de la PI3K-Akt est donc bien responsable de la régulation de la protéine survivine.

Ainsi, le mécanisme par lequel la lovastatine diminue l'expression de survivine implique l'inhibition de l'isoprénnylation de Ras empêchant ainsi l'activation de la voie PI3K-Akt. Par ce biais, la lovastatine induit une apoptose des cellules cancéreuses.

- Discussion

Cette étude montre donc que la lovastatine inhibe l'expression de la survivine et entraîne ainsi l'apoptose des cellules cancéreuses du côlon.

On rappelle que le blocage de la signalisation de l'apoptose par la survivine implique l'inhibition de l'activation de la caspase 9. La caspase 9 active elle-même d'autres caspases telles que la caspase 3 menant à l'apoptose.

La voie PI3K-Akt est essentielle à l'expression de la survivine.

De plus, des études ont démontré que l'expression de la survivine est médiée par la voie de NFκB (Nuclear Factor-kappa B) (70) et que la protéine Akt permet l'activation de ce facteur par phosphorylation de IκB (Inhibiteur du facteur nucléaire κ B) (71). Ainsi, la lovastatine pourrait inhiber ce facteur via l'inhibition de la voie PI3K-Akt.

Cependant, NFκB permet la synthèse de facteurs antiapoptotiques. Or, il n'y a pas de diminution de l'expression de protéines antiapoptotiques. L'inhibition de ce facteur n'est donc pas le seul mécanisme par lequel la diminution de l'expression de survivine s'effectue.

La voie PI3K-Akt est régulée par la protéine Ras. Cette dernière a besoin d'être farnésylée afin de s'ancrer à la membrane et d'être active. Cette étude montre cependant que même l'ajout de GGPP permet l'activation de la protéine Ras. Il est possible que dans ces cellules cancéreuses du côlon, la protéine Ras soit mutée, et que la présence du mutant K-Ras puisse être activée par le GGPP.

Ainsi le GGPP et le FPP permettent d'inactiver la protéine Ras menant au final à l'apoptose par inhibition de l'expression de la molécule antiapoptotique survivine.

Cette étude conclut cependant en précisant que les doses de lovastatine devant être administrées *in vivo* pour obtenir l'apoptose est impossible. Les auteurs pensent, par contre, que si la lovastatine était administrée de façon intraveineuse ou dans les artères irriguant les tumeurs, une alternative aux traitements du cancer pourrait apparaître.

f) Herrero-Martin et al 2008 (72)

Cette étude a pour but d'examiner la voie mitochondriale de l'apoptose induite par les statines et sa régulation par la prénylation de protéines dans des cellules cancéreuses du sein (MDA-MB435S et MDA-MB-231) et dans des cellules cancéreuses surexprimant le facteur oncogène ErbB2 (Erythroblastosis oncogene B 2). Le facteur ErbB2 code pour le récepteur HER-2 (Human Epidermal growth factor Receptor 2). La surexpression d'ErbB2 est retrouvée dans 25 à 30 % des cancers du sein et est associée à un pronostic de survie faible. En thérapeutique, le trastuzumab, anticorps monoclonal humanisé, est utilisé contre le récepteur HER-2.

- Résultats

- La lovastatine induit l'apoptose dans les cellules humaines du sein cancéreuses.

Les cellules sont traitées par la lovastatine à différentes concentrations pendant 24 à 48 heures puis l'apoptose est déterminée en mesurant le nombre de cellules subdiploïdes présentes dans le milieu de culture.-

La lovastatine entraîne l'apoptose des cellules MDA-MB-231 (M.D. Anderson - Metastatic Breast) et MDA-MB435S (qui est une lignée cellulaire hautement métastatique) (figure 37 A et B). En revanche, les cellules surexprimant ErbB2 (BT474 et SKBr-3) se montrent résistantes aux effets de la lovastatine aux concentrations utilisées pendant l'expérience.

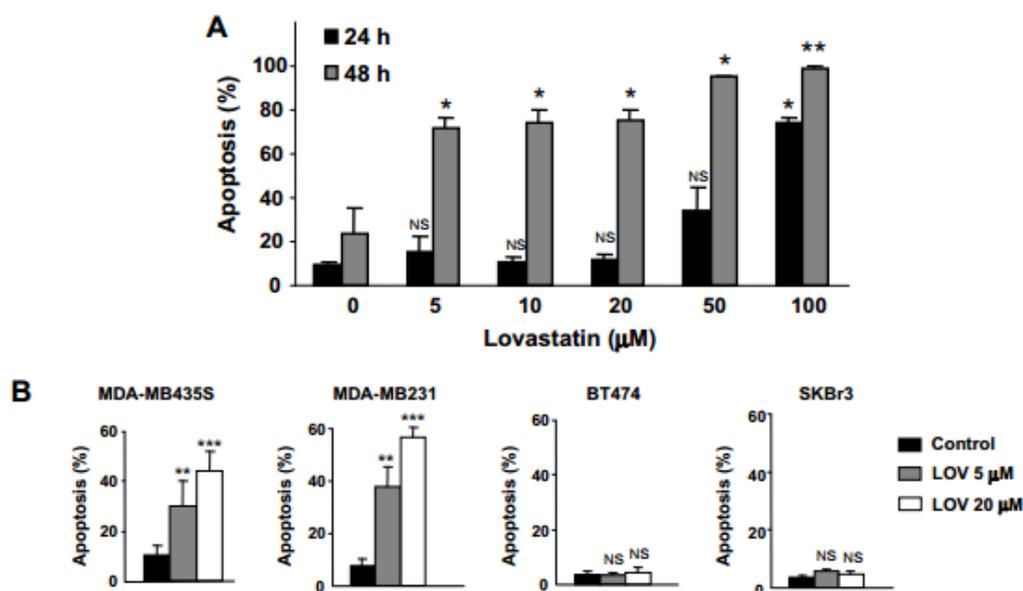


Figure 37. La lovastatine entraîne l'apoptose dans les cellules tumorales du cancer du sein. A, les cellules MDA-MB-231 sont traitées par différentes concentrations de lovastatine pendant 24 ou 48 heures. Après incubation, l'apoptose est évaluée. B, les cellules MDA-MB-231, MDA-MB435S, BT474 et SBr3 sont traitées par 5 ou 20 µM de lovastatine. *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001 Source : (72).

- La lovastatine entraîne l'activation de l'apoptose, via les caspases, dans les cellules du sein cancéreuses

Les chercheurs montrent que l'apoptose déclenchée par la lovastatine est dépendante de l'activation des caspases. Pour cela, des cellules MDA-MB-231 sont incubées avec ou sans Z-VAD-fmk, inhibiteur général des caspases, une heure avant l'addition de lovastatine. L'apoptose est alors inhibée par la présence de cet inhibiteur (figure 38 A).

Afin de confirmer que la cascade apoptotique est bien active dans ces cellules traitées par la lovastatine et que les caspases sont bien impliquées, les chercheurs

analysent le PARP (Poly(ADP-Ribose) Polymérase), substrat clivé par les caspases lors de l'apoptose. Comme nous pouvons le voir dans la figure 38 B, le clivage de PARP est augmenté dans les cellules traitées par la lovastatine.

De plus, les auteurs remarquent que les caspases initiatrices de l'apoptose (caspase 8 et 9) sont activées par la lovastatine dans les cellules MDA-MB-231 (figure 38 C) et les cellules MCF-7.

Enfin après 48 heures de traitement, la caspase 3 est aussi activée dans la lignée cellulaire MDA-MB-231 (figure 38 C).

Ainsi, l'apoptose induite par la lovastatine semble impliquer une augmentation d'activité des caspases.

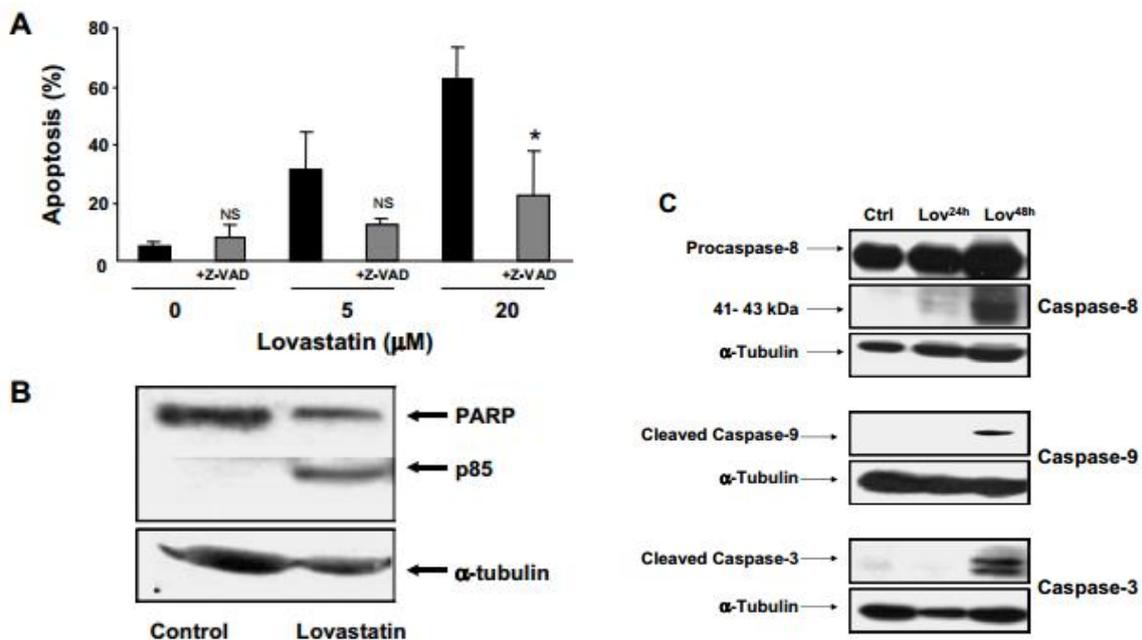


Figure 38. L'activation caspase-dépendante de l'apoptose est induite par la lovastatine dans les cellules cancéreuses du sein. A, Les cellules MDA-MB-231 sont incubées avec ou sans 100 µM de Z-VAD-fmk une heure avant l'addition de lovastatine. Après 48 heures, l'apoptose est mesurée en pourcentage. *p<0,05 ; NS : non significatif en comparaison aux cellules non exposées au Z-VAD-fmk. B, Les cellules MDA-MB-231 sont traitées par 100 µM de lovastatine pendant 48 heures. Les cellules sont ensuite lysées et analysées par Western blotting pour le clivage de PARP. p85 est un fragment de PARP. C, les cellules MDA-MB-231 sont traitées par 100 µM de lovastatine pendant 24 ou 48 heures. Les taux de caspase-8 (ainsi que la procaspase-8), 3 et 9 sont déterminés par Western blotting. L'α-tubuline sert de contrôle interne. Source : (72).

Afin de comprendre le mécanisme de l'apoptose déclenchée par cette statine, les auteurs se concentrent sur l'activation de la voie mitochondriale de l'apoptose. Ainsi, ils cherchent à déterminer la délocalisation de la protéine Bax vers la mitochondrie et le relargage du cytochrome c dans le cytoplasme.

Pour cela, les cellules MCF-7 sont traitées par 100 µM de lovastatine. Ces cellules sont réparties en deux catégories, les cellules surexprimant Bcl-2, protéine antiapoptotique (MCF-7^{bcl-2}), et des cellules contrôles MCF-7^{neo}.

Dans les cellules MCF-7^{bcl-2}, la délocalisation de Bax et le relargage de cytochrome c sont inhibés comparativement aux cellules contrôles. Ainsi Bcl-2 semble être un élément clé pour l'action de la lovastatine (figure 39 A).

Par la suite, les cellules MCF-7 et MDA-MB-231 sont traitées par la lovastatine à raison de 100 µM pendant 24 ou 48 heures. L'expression de Bcl-2 est ensuite déterminée. Les auteurs notent une diminution de l'expression de Bcl-2 dans les cellules tumorales MCF-7 et MDA-MB-231 (figure 39 B).

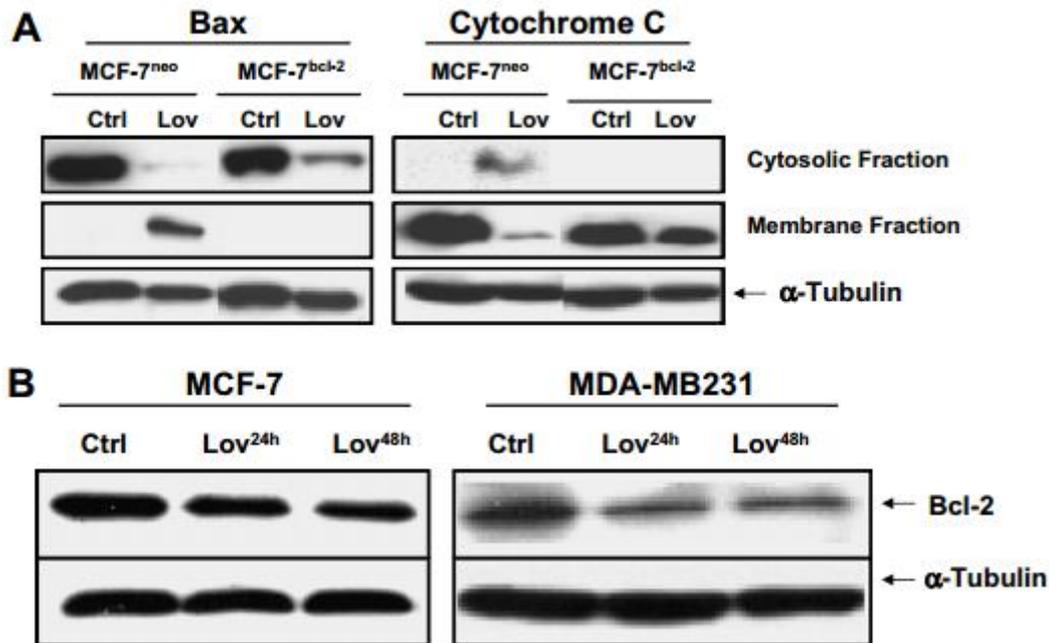


Figure 39. La lovastatine entraîne l'apoptose dans les cellules cancéreuses du sein. À, les cellules MCF-7 sont traitées par 100 µM de lovastatine pendant 48 heures. Les taux de protéines Bax et cytochrome c sont analysés par Western blotting. B, les cellules MCF-7 et MDA-MB-231 sont traitées par 100 µM de lovastatine pendant 24 ou 48 heures. Les taux de protéine Bcl-2 sont déterminés par Western blotting. L'α-tubuline sert de contrôle interne. MCF-7^{neo} est la cellule MCF-7 servant de contrôle. Source : (72).

Ces résultats suggèrent donc que les statines causent la diminution de l'expression de la protéine antiapoptotique Bcl-2. Cette protéine inhibant Bax, les statines permettent donc une délocalisation de Bax vers la mitochondrie et ainsi le relargage de cytochrome c, permettant l'activation des caspases. Cela rejoint l'étude de Spampinato et al (65) qui démontre que la simvastatine diminue l'expression de Bcl-2 et induit l'augmentation de Bax menant ainsi à l'apoptose.

Il reste maintenant à déterminer s'il s'agit d'un effet direct ou si la statine agit en amont.

- L'apoptose due aux statines nécessite la géranylgéranylation et la farnésylation des protéines

Les cellules MDA-MB-231 sont prétraitées par 20 μ M de FPP ou GGPP une heure avant l'addition de lovastatine pendant 48 heures.

Comme nous pouvons le voir dans la figure 40, l'apoptose lors du prétraitement des cellules par GGPP ou FPP est fortement réduite.

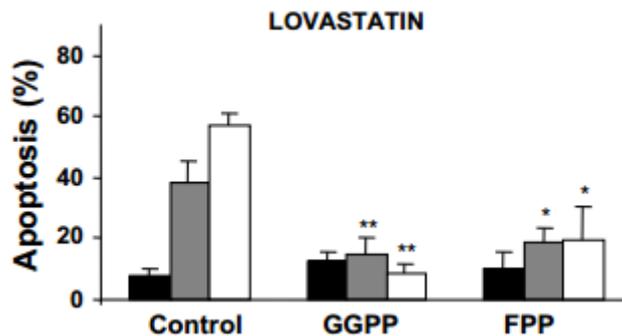


Figure 40. L'apoptose induite par les statines est dépendante de la prénylation des protéines Ras et Rho. Les cellules MDA-MB-231 sont pré-traitées par 20 μ M de GGPP ou FPP 1 heure avant l'addition de lovastatine pendant 48 heures. Les barres noires correspondent à 0 μ M de lovastatine, les barres grises à 5 μ M et les barres blanches à 20 μ M de lovastatine. *p<0,05 ; **p<0,01 en comparaison aux cellules non traitées. Source : (72).

Là encore les isoprénoides sont essentiels pour l'activation des protéines Ras et Rho. Ainsi, l'apoptose déclenchée par la lovastatine pourrait être juste le fait de la diminution de ces molécules dans les cellules.

- Discussion

Là encore on retrouve les rôles essentiels de FPP et GGPP pour l'activation des protéines Ras et Rho. Ainsi l'apoptose déclenchée par la lovastatine pourrait être juste le fait de la diminution de ces molécules dans les cellules.

L'inhibition de ces protéines entraîne une diminution de l'activité de la voie PI3K-Akt et ainsi une augmentation de l'apoptose. C'est par ce biais que l'expression des protéines antiapoptotiques Bcl-2 est diminuée et que leur effet est levé, permettant l'activation des caspases via le relargage de cytochrome c depuis la mitochondrie.

g) Relja et al 2010 (73)

Le but de l'étude menée par Relja et al est de voir si la simvastatine exerce un effet anticancéreux sur deux lignées cellulaires HepG2 et Huh7, deux lignées cancéreuses du foie, et par quel moyen. Pour cela, les cellules sont mises en contact avec de la simvastatine à différentes doses et pendant des temps différents.

- Rappel sur le cycle cellulaire

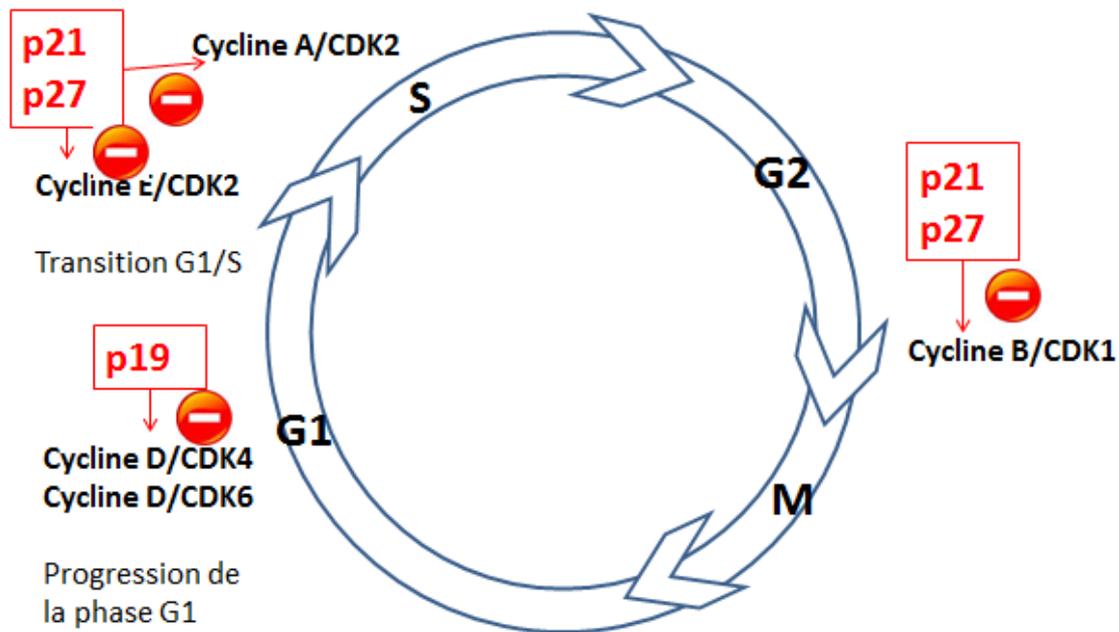


Schéma 9. Le cycle cellulaire. Le cycle cellulaire se repartie en 4 phases. Ce cycle est sous le contrôle de complexes cyclines/kinase cyclines-dépendantes (CDK). Ces complexes sont essentiels pour passer d'une phase à l'autre. L'inhibition de ces complexes se fait par l'intermédiaire des inhibiteurs de kinase cycline-dépendante : p19, p21 et p27.

- Résultats

La simvastatine ,à des doses de 32 et 64 μM , montre un effet inhibiteur de la croissance des cellules tumorales significatif comparativement au groupe contrôle ($p < 0,05$). Cet effet est temps-dépendant (figure 41).

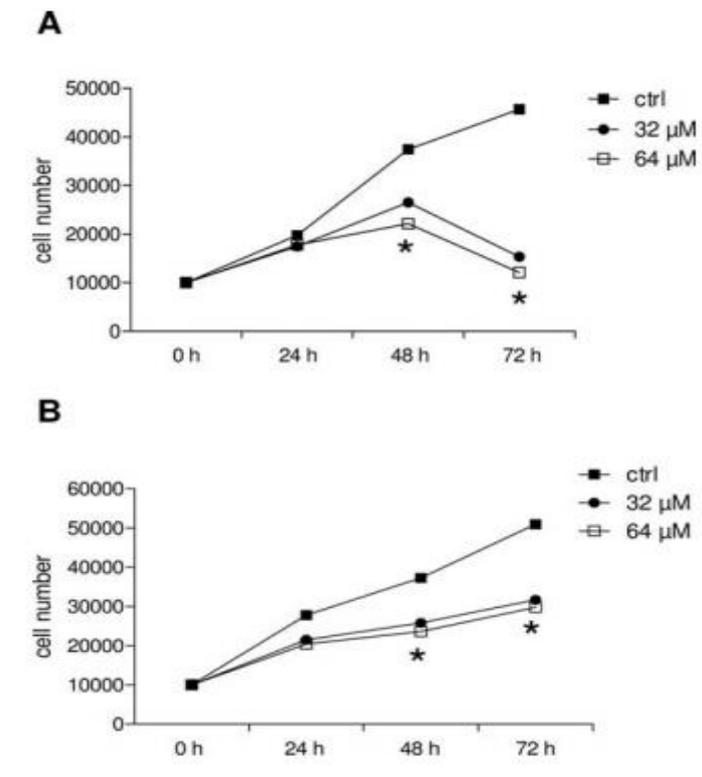


Figure 41. Effets de la simvastatine sur la croissance cellulaire. Les cellules HepG2 (A) et Huh7 (B) sont traitées par de la simvastatine à des concentrations de 32 et 64 μ M pendant 24, 48 et 72 heures. * $p < 0,05$ vs contrôle (ctrl). Source : (73).

Afin de voir l'effet de la simvastatine sur la survie des cellules HepG2 et Huh7, celles-ci sont traitées par des concentrations de 32 ou 64 μ M de simvastatine pendant 48 heures.

La simvastatine entraîne l'apoptose des deux lignées cellulaires de façon concentration dépendante (figure 42 A et B).

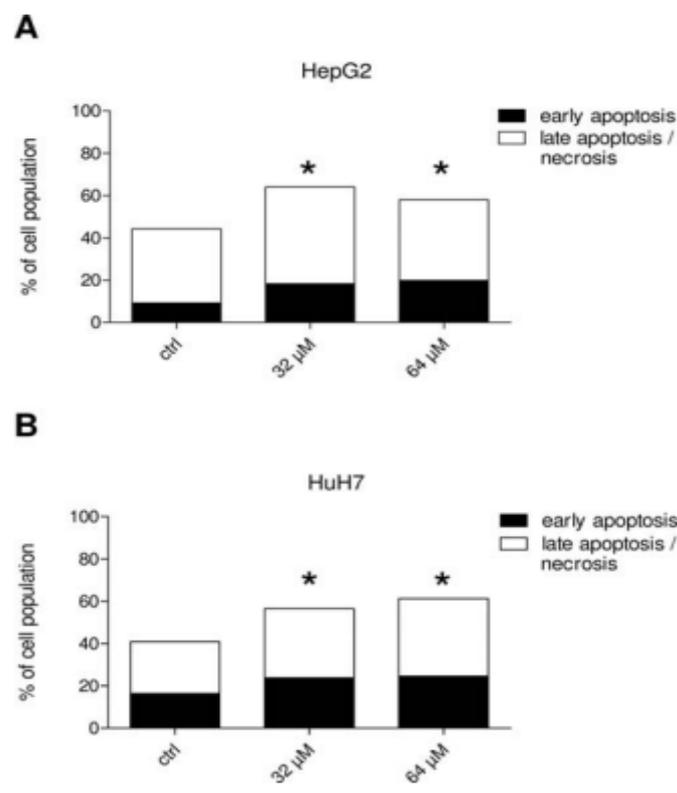


Figure 42. La simvastatine entraîne la mort cellulaire par apoptose dans les cellules HepG2 (A) et Huh7 (B). Les cellules sont traitées par de la simvastatine à des concentrations de 32 ou 64 μM . * $p < 0,05$ vs contrôle (ctrl). Source : (73).

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau suivant (tableau 24) :

	Apoptose précoce	Apoptose tardive, nécrose
HepG2		
32 μM simvastatine	↗ de 9% (cellules contrôle) à 18%. $P < 0,05$	↗ de 35% (cellules contrôle) à 57%. $P < 0,05$
64 μM simvastatine	↗ de 9% (cellules contrôle) à 20%. $P < 0,05$	↗ de 35% (cellules contrôle) à 48%. $P < 0,05$
Huh7		
32 μM simvastatine	↗ de 16% (cellules contrôle) à 24%. $P < 0,05$	↗ de 25% (cellules contrôle) à 33%. $P < 0,05$
64 μM simvastatine	↗ de 16% (cellules contrôle) à 25%. $P < 0,05$	↗ de 25% (cellules contrôle) à 37%. $P < 0,05$

Tableau 24. Effets de la simvastatine sur l'apoptose des cellules HepG2 et Huh7.

Afin d'identifier le mécanisme par lequel la simvastatine inhibe la croissance cellulaire, les auteurs examinent son effet sur le cycle cellulaire par cytométrie de flux. Le résultat est que la simvastatine entraîne un arrêt du cycle cellulaire en phase G1 après 48 heures de traitement (figure 43).

Une autre indication de l'arrêt des cellules en phase G1 est l'expression des CDK et plus particulièrement CDK1, CDK2, CDK4, des cyclines D1 et E et des inhibiteurs de

CDK p19 et p27. En effet, le complexe D/E-CDK2/4 est le premier régulateur de la phase de reconstruction G1/S.

Ainsi leur diminution permettrait de montrer l'arrêt des cellules en phase G1. Les cellules HepG2 exposées à la simvastatine pendant 48 à 72 heures montrent une diminution des taux de CDK1, CDK2, CDK4 et des cyclines D1 et E en comparaison aux cellules contrôles. En revanche, on note une augmentation de l'expression des inhibiteurs de CDK p19 et p27. Cette augmentation est temps-dépendante. Ces résultats confirment l'arrêt cellulaire en phase G1 (figure 44).

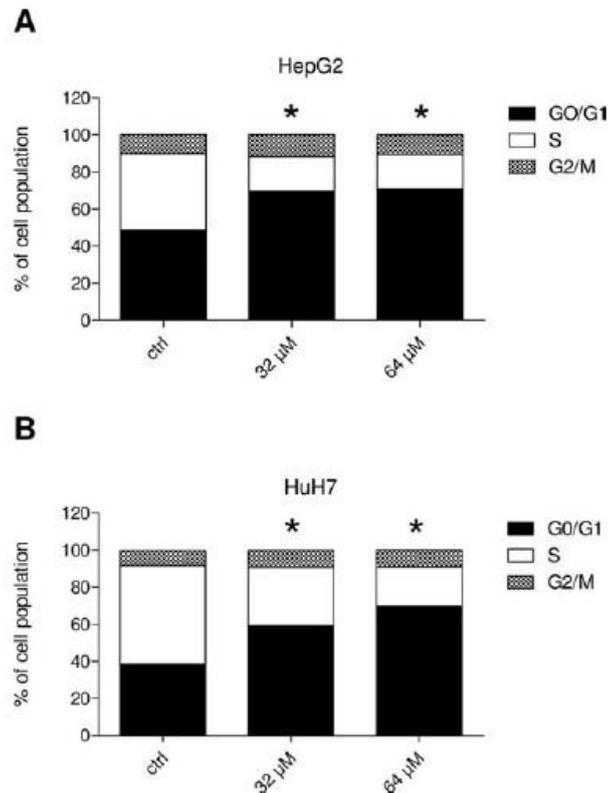


Figure 43. Effet de la simvastatine sur le cycle cellulaire de HepG2 et Huh7. Les cellules sont traitées par la simvastatine à 32 ou 64 µM ou par le solvant de la simvastatine servant de contrôle. Arrêt du cycle cellulaire en phase G0/G1= $p < 0,05$ vs ctrl. Source : (73).

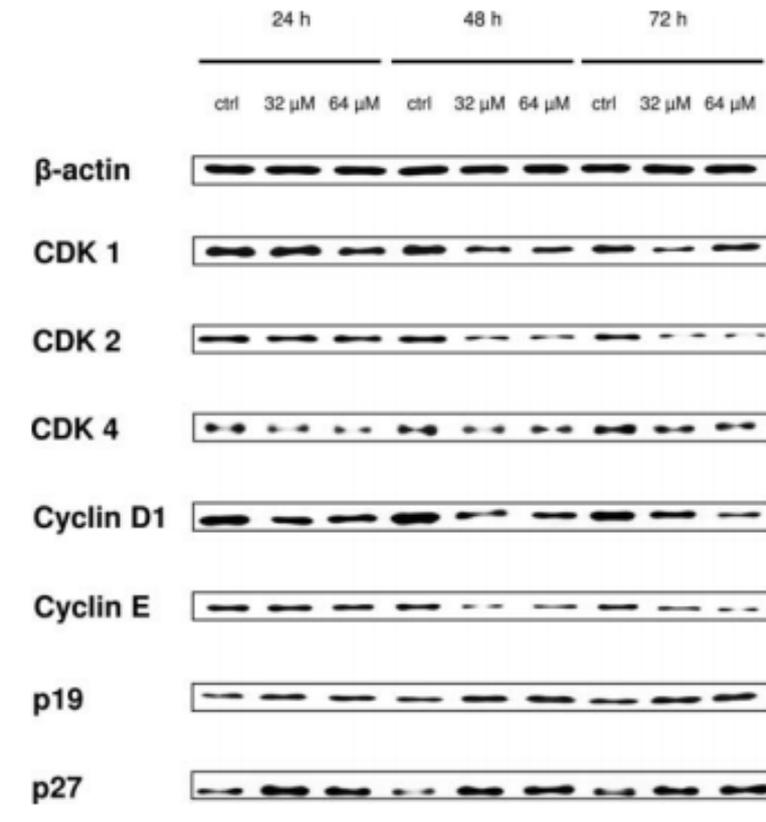


Figure 44. Effet de la simvastatine sur l'expression des protéines régulant le cycle cellulaire, CDK1, CDK2, CDK4, cyclines D1 et E, p19 et p 27 par Western blotting. Les cellules HepG2 et Huh7 sont traitées par la simvastatine à 32 ou 64 μ M pendant 24, 48 ou 72 heures ou par le solvant de la simvastatine servant de contrôle. La β -actine sert de contrôle interne. Seul le résultat sur les cellules HepG2 est représenté ici. Source : (73).

Ainsi la simvastatine inhibe la croissance cellulaire par arrêt du cycle cellulaire en phase G1. Cette inhibition est dose et temps-dépendante. Elle se fait via l'inhibition des cyclines D1 et E et des CDK 1,2 et 4 et l'augmentation des inhibiteurs de CDK p19 et p27.

Par la suite, la cellule restant bloquée dans son cycle cellulaire subit une apoptose.

h) Résumé : Action des statines sur le cycle cellulaire (73)(74)

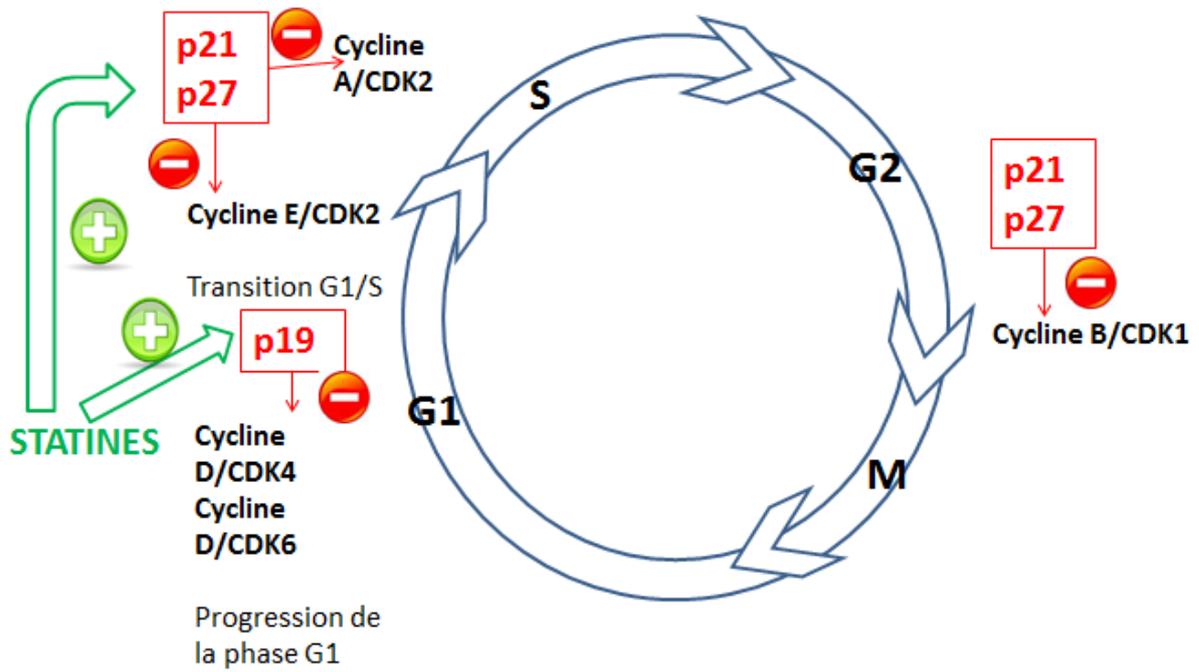


Schéma 10. Action des statines sur le cycle cellulaire. En stimulant l'activité de p19, p21 et p27, les statines permettent l'arrêt du cycle cellulaire menant ainsi à l'apoptose.

i) Résumé : Action des statines sur l'apoptose
(65)(66)(68)(69)(72)(75)(76)

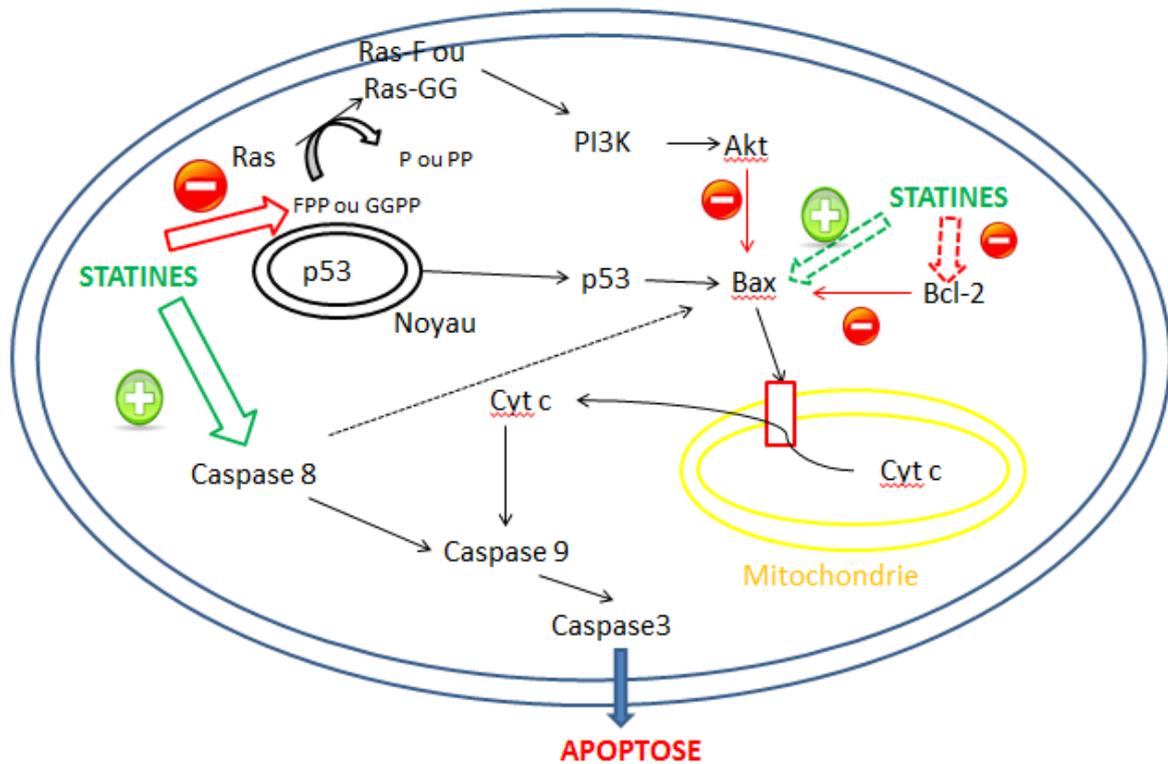


Schéma 11. Action des statines sur l'apoptose. Les statines activent la caspase 8, la protéine Bax et inhibent la production de FPP et GGPP. Elles inhibent aussi les protéines Bcl-2. Tout cela amène à leur action pro-apoptotique.

3) ANGIOGENESE (77)

a) Rappels sur l'angiogénèse

L'angiogénèse est le processus de croissance de nouveaux vaisseaux sanguins à partir de vaisseaux préexistants.

C'est un processus physiologique normal, que l'on retrouve notamment lors du développement embryonnaire. Mais c'est aussi un processus pathologique, primordial dans la croissance des tumeurs malignes et le développement des métastases.

L'angiogénèse est contrôlée par différents activateurs et inhibiteurs produits par les cellules saines et tumorales. Les activateurs sont des molécules proangiogéniques (VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor par exemple). L'angiogénèse requiert la migration, la multiplication et la différenciation des cellules endothéliales issues des vaisseaux préexistants (schéma 12).

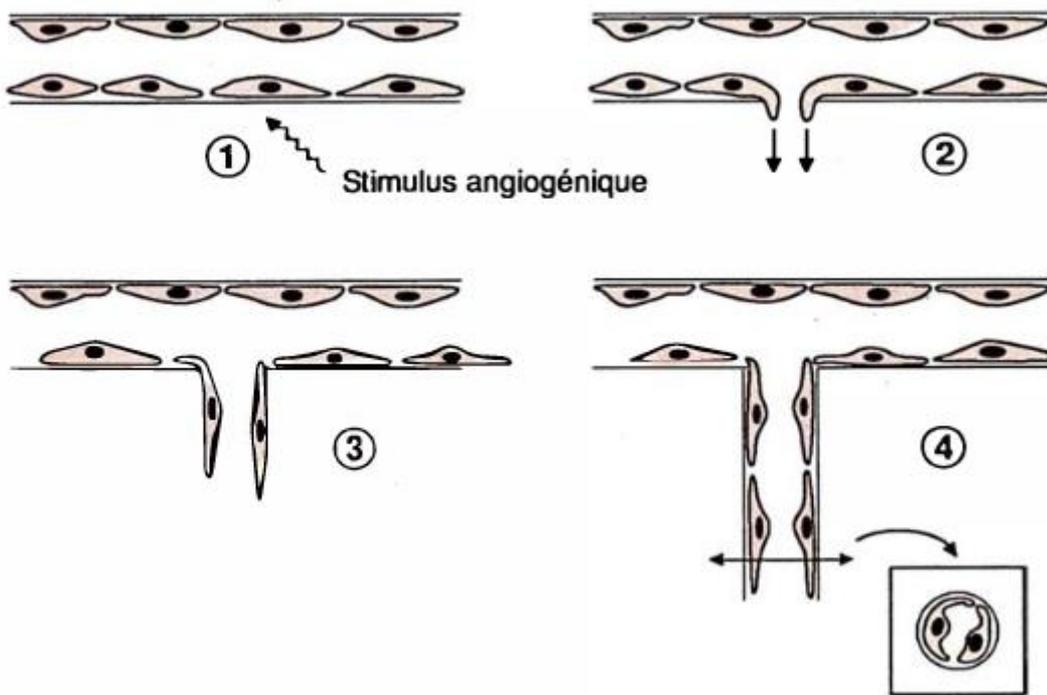


Schéma 12. Principales étapes de l'angiogenèse. Les capillaires sont soumis à une stimulation angiogénique (1). Ensuite, les cellules endothéliales commencent à migrer à travers la membrane basale (2) avant de migrer, de s'allonger et de se différencier (3). Enfin il y a formation des tubes capillaires dans (l'espace encadré) et prolifération (4). Source : (77).

b) Urbich et al 2002 (78)

Le but de cette étude est de voir les effets dose-dépendants de l'atorvastatine sur la migration cellulaire endothéliale et l'angiogenèse.

Les cellules utilisées sont des cellules HUVECs (Human Umbilical Vein Endothelial Cells).

- Résultats

- Effets des statines sur la migration des cellules endothéliales

Les cellules HUVECs sont incubées avec différentes concentrations d'atorvastatine.

Les concentrations de l'ordre de 0,0001 à 0,1 μM augmentent la migration des cellules endothéliales avec un effet maximal pour une concentration de 0,1 μM d'atorvastatine. À l'opposé, en atteignant la concentration de 1 μM , la migration des cellules endothéliales est inhibée (figure 45 A). Un effet similaire est observé avec la simvastatine.

Afin de déterminer quelle voie de signalisation est impliquée dans l'activité promigratoire de l'atorvastatine, des cellules endothéliales sont incubées avec du mévalonate et de l'atorvastatine à une dose de 0,01 μM . Le mévalonate inhibe l'effet promigratoire de l'atorvastatine.

La PI3K joue un rôle important dans la régulation de la migration des cellules endothéliales. En effet, elle permet la phosphorylation de la eNOS (endothelial NO Synthase) permettant la sécrétion de NO, essentielle à l'angiogenèse.

Afin de voir si les statines stimulent l'angiogenèse par cette voie, les cellules sont incubées avec un inhibiteur de la PI3K : le Ly294002.

Comme nous pouvons le voir avec la figure 45 B, la migration des cellules endothéliales est complètement inhibée en présence de Ly294002. De plus, la surexpression de dominants négatifs d'Akt ou l'inhibition pharmacologique de la synthèse de NO via le LNMA (N^G-monométhyl-L-arginine qui est un inhibiteur de la eNOS) empêche aussi la migration induite par l'atorvastatine (figure 45 B).

Ces deux expériences montrent bien que cette stimulation se fait via la voie PI3K-Akt.

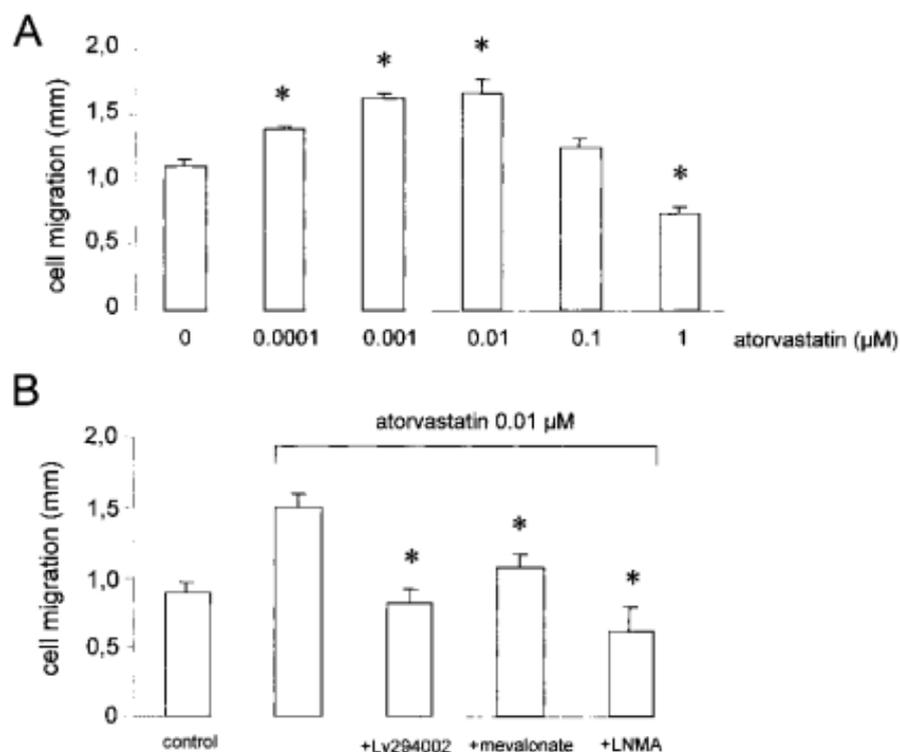


Figure 45. L'atorvastatine améliore de façon dose-dépendante la migration des cellules endothéliales. Les cellules HUVECs sont incubées avec de l'atorvastatine pendant 24 heures et la migration cellulaire est analysée. A, les données sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM. * $p < 0,05$ vs contrôle. B, 10 μM de Lys294002, 100 μM de mévalonate ou 1 mM sont incubées trente minutes avant la stimulation par 0,01 μM d'atorvastatine. Les données sont exprimées en moyennes \pm SEM.* $p < 0,05$ vs atorvastatine. Source : (78).

- Effet de l'atorvastatine sur l'apoptose des cellules endothéliales

La question se pose de savoir si l'inhibition de la migration des cellules endothéliales sous fortes doses d'atorvastatine est due à l'apoptose de ces cellules.

L'atorvastatine entraîne bien une augmentation (tableau non fourni) de l'apoptose des HUVECs de l'ordre de 2,6 fois.

Afin de savoir si cette apoptose est bien la cause de l'inhibition de la migration des cellules endothéliales, les cellules sont incubées avec un inhibiteur de caspase : ZVAD.

L'inhibition de l'apoptose inhibe complètement l'effet antimigratoire de l'atorvastatine à la dose de 1 μM (figure 46).

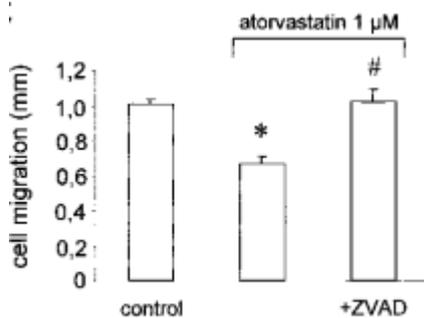


Figure 46. Migration des cellules endothéliales après exposition à 1 μM d'atorvastatine. 100 μM de ZVAD sont ajoutés trente minutes avant la stimulation par 1 μM d'atorvastatine.* $p < 0,05$ vs contrôle. # $p < 0,05$ vs atorvastatine. Source : (78).

- Effets des statines sur la formation de tube

Les résultats rejoignent ceux des précédentes expériences.

Des concentrations de 0,0001 à 0,1 μM d'atorvastatine stimulent la formation de tube alors qu'une concentration de 1 μM réduit drastiquement cette formation. Là encore, l'ajout de mévalonate annule les effets de l'atorvastatine. De même, l'ajout de Ly294002 bloque complètement la formation de tube induite par l'atorvastatine (figure 47).

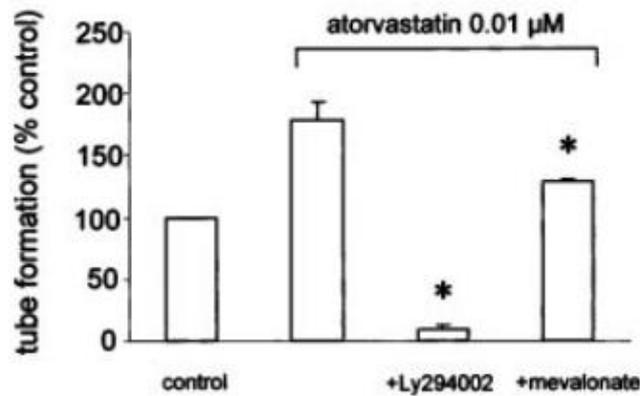


Figure 47. L'atorvastatine entraîne la formation de tube de façon dose-dépendante. Les cellules sont stimulées par 0,01 μM d'atorvastatine en présence ou absence de 10 μM de Ly294002 ou 100μM de mévalonate. L'angiogénèse est quantifiée par la mesure de longueur des tubes à l'aide d'un microscope et d'un ordinateur. Les données sont des moyennes ± SEM (n=3). *p<0,05 vs atorvastatine. Source : (78).

- Effets de l'atorvastatine sur l'activation d'Akt

La présence d'atorvastatine, même à des faibles concentrations, entraîne la phosphorylation d'Akt. En revanche, la présence de Ly294002, inhibiteur de PI3K, inhibe la phosphorylation d'Akt. Cela montre donc l'effet spécifique de l'atorvastatine sur l'activation de la voie de la PI3K (figure 48).

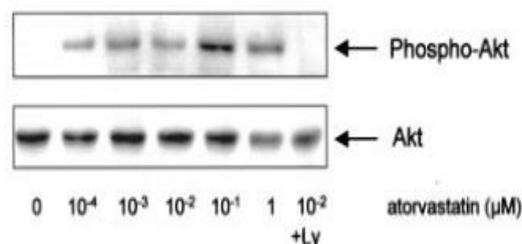


Figure 48. L'atorvastatine entraîne la phosphorylation d'Akt. Les cellules HUVECs sont incubées avec de l'atorvastatine pendant 1 heure. La phosphorylation d'Akt est mesurée par Western blotting.

- L'activation d'Akt implique la petite protéine G Ras

Cette étude montre donc que de faibles concentrations d'atorvastatine activent la voie PI3K-Akt-eNOS. La question reste de savoir quel est le mécanisme en amont de cette activation.

La petite protéine G Ras, dans sa forme active, se lie à une sous unité de PI3K et ainsi permet son activation. La question est donc de savoir dans quelles conditions les statines activent Ras.

Comme nous pouvons le voir avec les figures 49 et 50, de faibles concentrations d'atorvastatine stimulent l'activité de Ras. L'activation de Ras est suivie par la stimulation de la phosphorylation d'Akt. De plus, la surexpression d'un dominant négatif de la protéine Ras inhibe la phosphorylation d'Akt et empêche la migration

des cellules endothéliales due à l'atorvastatine. Ce résultat n'est pas retrouvé avec les inhibiteurs de la Rho kinase HA1077 ou Y27632.

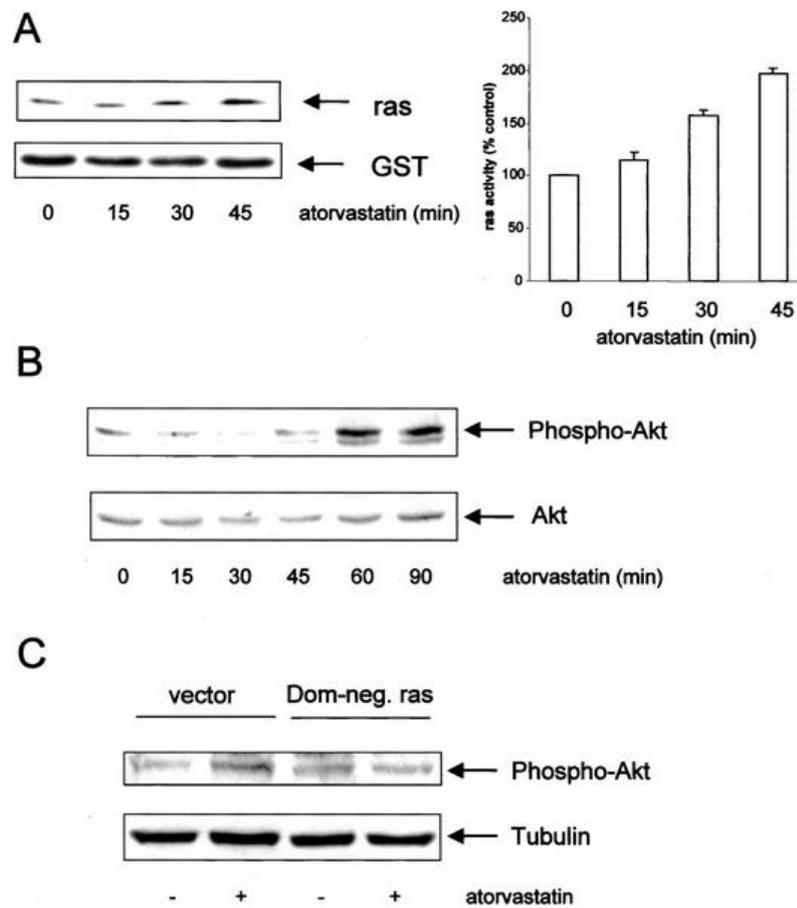
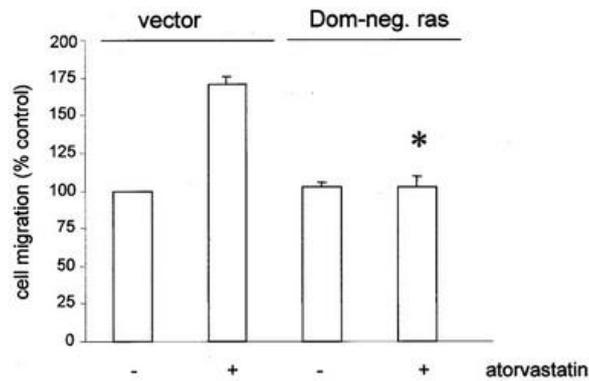


Figure 49. L'activation d'Akt par l'atorvastatine implique la petite protéine G Ras. À et B, les cellules sont incubées avec 0,01 μ M d'atorvastatine. A, GST sert de contrôle, la mesure de l'activité de Ras est faite. B, La phosphorylation d'Akt est détectée par Western blotting. Akt sert de contrôle. C, les cellules HUVECs sont transfectées par un vecteur ou un dominant négatif RasN17 et incubées en présence ou absence de 0,01 μ M d'atorvastatine pendant une heure. La phosphorylation d'Akt est déterminée par Western blotting et la tubuline sert de contrôle.

D



E

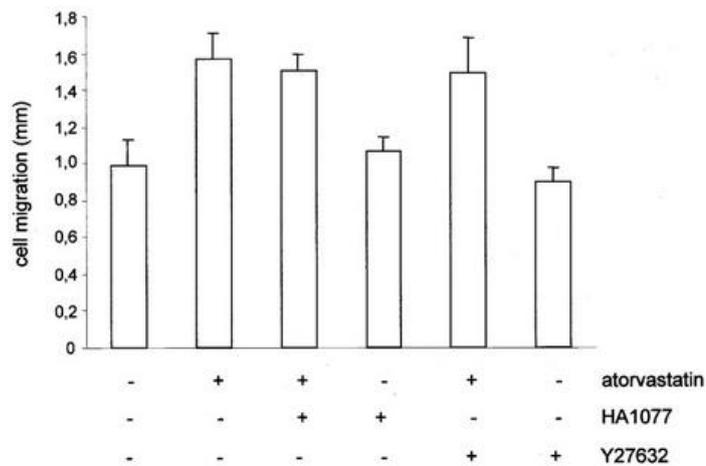


Figure 50.L'activation d'Akt par l'atorvastatine implique la petite protéine G Ras (suite). D, les cellules HUVECs sont transfectées avec un dominant négatif RasN17 et incubées en absence ou présence de 0,01 μ M d'atorvastatine. Les données sont des moyennes \pm SEM (n=3). *p<0,05 vs vecteur+atorvastatine. E, les cellules sont incubées avec 0,01 μ M d'atorvastatine, 10 μ M d'HA1077 ou 10 μ M Y27632 pendant 24 heures. Les données sont des moyennes \pm SEM (n=3 à 6). Source : (78).

Ainsi, ces données suggèrent que de faibles concentrations d'atorvastatine stimulent la protéine Ras qui agit en amont de la PI3K. Cette activation de la voie PI3K permet l'augmentation de la production de NO et donc l'activation de la migration cellulaire.

- Conclusion

Les données de cette étude montrent donc un effet dose-dépendant de l'atorvastatine sur la migration des cellules endothéliales et l'angiogénèse.

Les concentrations faibles d'atorvastatine (entre 0,001 et 0,1 μ M) potentialisent la migration et l'angiogénèse alors que les concentrations fortes ont un effet inverse. Ainsi, la migration des cellules endothéliales matures et la formation de tubes dans les tests d'angiogénèse sont significativement diminuées par 1 μ M d'atorvastatine. Cette action antimigratoire semble être la conséquence de l'apoptose des cellules endothéliales matures.

Etant donné cet effet bi-phasique de l'atorvastatine sur l'angiogenèse et la migration des cellules endothéliales, il reste à déterminer quel effet se manifeste in vivo. Aux doses thérapeutiques de 20 mg par jour d'atorvastatine, la concentration plasmatique maximale est de l'ordre de 0,04 μM soit dans l'ordre de concentration menant à un effet promigratoire et proangiogénique.

Les données suggèrent que la voie PI3K joue un rôle essentiel dans la migration cellulaire et la formation de tubes.

L'activation d'Akt semble impliquer la protéine Ras. Ce mécanisme est aussi évoqué dans une étude de Kureishi et al (79).

La façon dont les statines activent Ras reste donc à déterminer. Bien que les effets des statines soient inhibés par l'ajout de mévalonate, une voie indépendante de l'inhibition de l'HMG-CoA réductase ne peut être exclue.

c) Weis et al 2002 (80)

Le but de cette étude est de voir les effets de l'atorvastatine et de la cérivastatine sur l'angiogenèse in vitro. In vitro, les cellules utilisées sont les cellules HMVECs (Human adult dermal MicroVascular Endothelial Cells) et des cellules HMEC-1 (Human dermal Endothelial Cell).

- Résultats

- Prolifération des CEs (Cellules Endothéliales)

La prolifération des cellules HMEC-1 est modifiée de façon dose-dépendante par la cérivastatine.

Les faibles concentrations (0,01 à 0,005 μM) augmentent la prolifération cellulaire de 10 à 20 % alors que les concentrations fortes ($\geq 0,05 \mu\text{M}$) diminuent cette prolifération de 38 %. L'ajout de GGPP (20 μM), mais pas celle de FPP ou de squalène, inhibe les effets de la cérivastatine (figure 51).

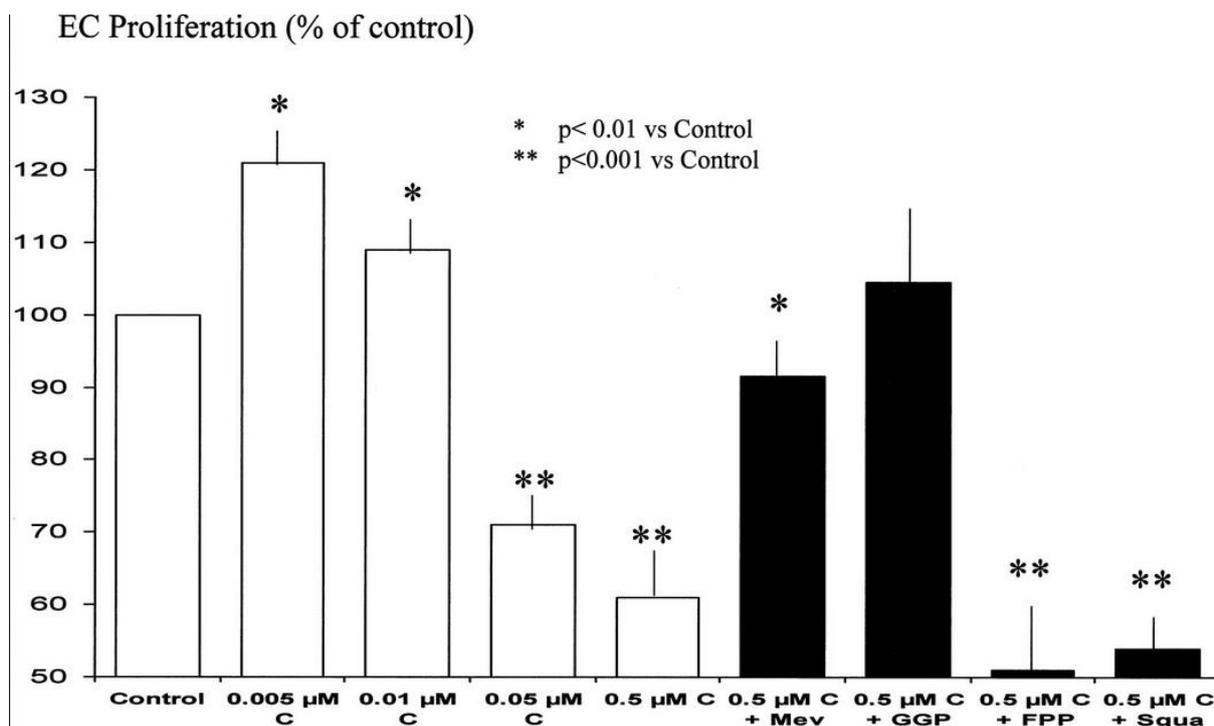


Figure 51. Effet des statines sur la prolifération des cellules endothéliales. Les cellules endothéliales sont incubées avec des concentrations croissantes de cérvastatine (C) allant de 0,001μM à 0,5μM. La cérvastatine exerce un effet biphasique dose-dépendant sur les cellules HMEC-1. Le Mévalonate (Mev ; 100 μM) et GGPP (20 μM) mais pas le FPP (20 μM) ni le squalène (Squa ; 100 μM) inhibent l'effet des fortes doses de cérvastatine sur la prolifération des cellules endothéliales. Source : (80).

Nous pouvons donc conclure que la diminution du GGPP est essentielle à l'inhibition de la prolifération cellulaire causée par les fortes doses de cérvastatine.

- Migration des CEs

De faibles concentrations d'atorvastatine et de cérvastatine (0,005 μM) augmentent la distance de migration de 54±7% et 75±9% respectivement alors que des concentrations moyennes (0,05 μM) et fortes (0,5 μM) inhibent la migration cellulaire de 66±5% pour la cérvastatine et de 51±4 % pour l'atorvastatine.

L'ajout de mévalonate ou de GGPP mais pas de FPP inhibe les effets de fortes concentrations de statines (figure 52).

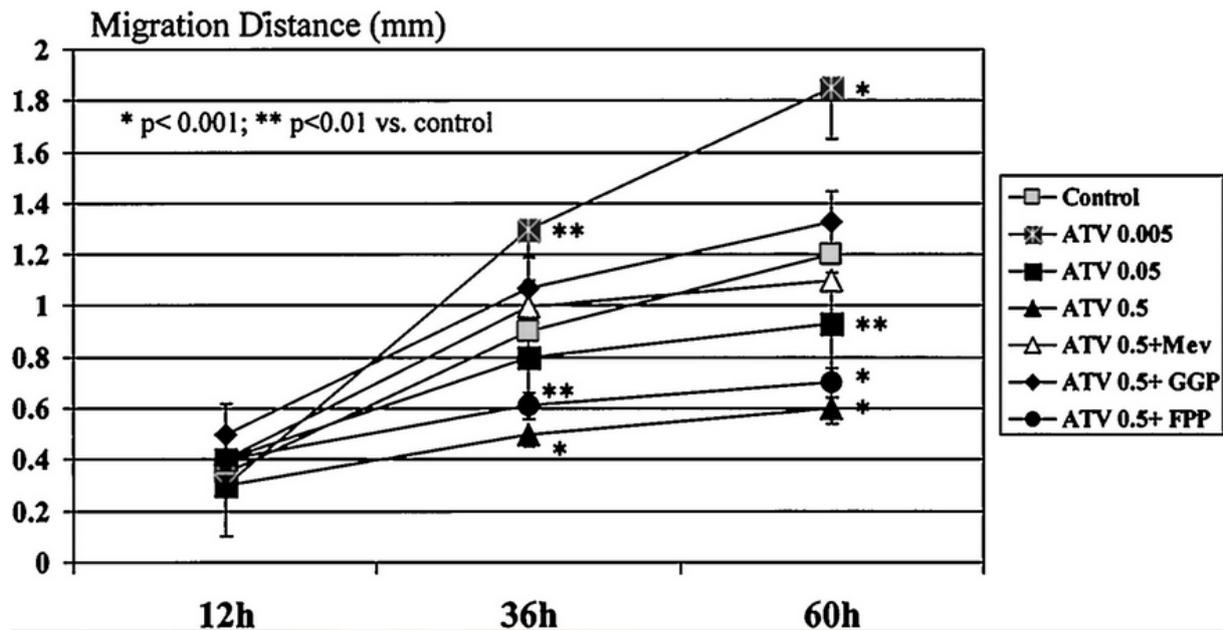


Figure 52. Effet biphasique des statines sur la migration des cellules endothéliales. La migration cellulaire est améliorée avec de faibles doses d'atorvastatine (0,005 μM) mais est diminuée avec des doses moyennes et des doses fortes (0,05 et 0,5 μM). Les mêmes résultats sont obtenus avec la cérvastatine. Mev : Mevalonate, ATV : Atorvastatine. Source : (80).

Là encore, l'inhibition de la migration des cellules endothéliales par les statines se fait via la diminution de GGPP.

Cette inhibition pourrait donc se faire via l'inactivation de la protéine Rho, étant donné que le GGPP renverse les effets des statines.

- Apoptose des CEs

De faibles doses de cérvastatine (0,005 μM) permettent de protéger les cellules endothéliales de l'apoptose induite par l'hypoxie. En revanche, une dose de 0,5 μM augmente l'apoptose mais celle-ci est complètement inhibée par l'ajout de 100 μM de mévalonate.

L'expression de la protéine Bax est augmentée lors de conditions hypoxiques et lors de l'exposition à de fortes doses de statines. L'expression de la protéine Bcl-2 est diminuée en présence de fortes doses de cérvastatine. Ainsi, le ratio Bax/Bcl-2 est fortement élevé dans les cellules endothéliales exposées à de fortes doses de cérvastatine dans des conditions normoxiques et hypoxiques (figure 53).

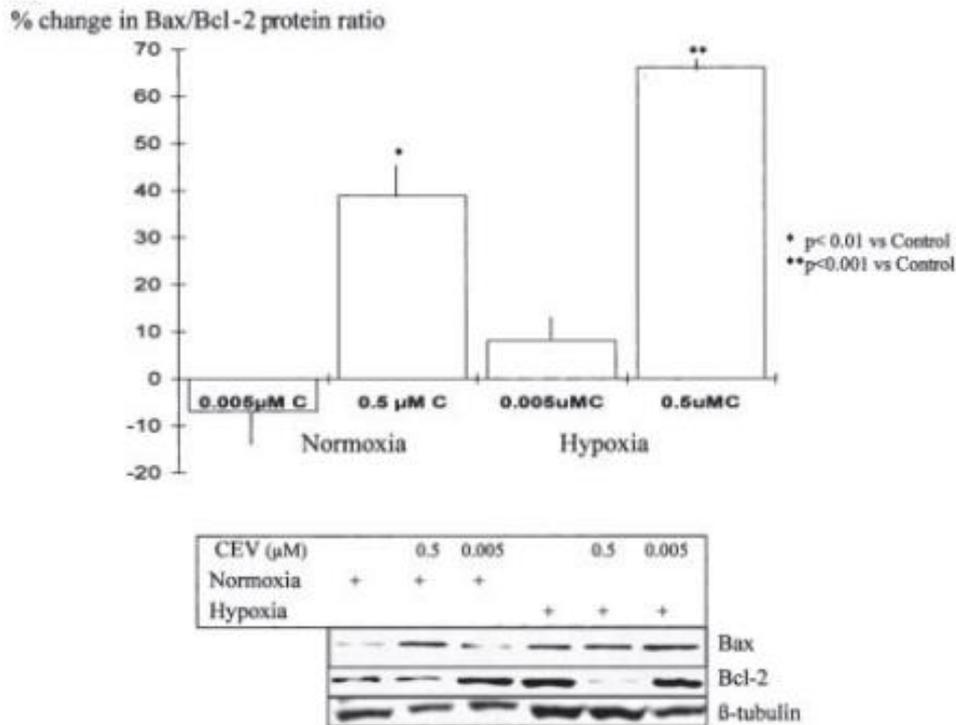


Figure 53. Effet biphasique des statines sur l'apoptose des cellules endothéliales. L'expression des protéines Bax et Bcl-2 dans des conditions normoxiques et hypoxiques. L'expression de la protéine Bax est augmentée dans des conditions hypoxiques et lors d'expositions à de fortes doses de cérivastatine. L'expression de la protéine Bcl-2 est diminuée par des fortes doses de cérivastatine. La β-tubuline sert de contrôle interne. Source : (80).

- VEGF et expression de VEGFR-2 (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2)

De faibles concentrations de cérivastatine augmentent le relargage de VEGF dans des conditions normoxiques et hypoxiques.

Au contraire, la sécrétion de VEGF par des cellules endothéliales dans des conditions d'hypoxie exposées à de fortes doses de cérivastatine (0,5 μM) est significativement réduite par rapport au groupe contrôle. L'ajout de mévalonate et de GGPP inverse cet effet inhibiteur.

L'effet du VEGF se fait via les récepteurs endothéliaux VEGFR-2. Or, les protéines Rho modulent l'expression des VEGFR-2 et l'activité des protéines Rho est modulée par des métabolites de la voie du mévalonate.

Dans des conditions hypoxiques, l'expression des récepteurs VEGFR-2 est augmentée comparativement aux cellules normoxiques. Or, en présence de fortes doses de cérivastatine (0,5 μM), l'expression de ces récepteurs est réduite de 68±6% dans des conditions hypoxiques (p<0,001).

- Discussion

Cette étude rejoint l'étude précédente en montrant l'effet biphasique des statines mais apporte un élément supplémentaire en montrant que les statines jouent aussi sur la sécrétion du VEGF et sur l'expression du récepteur VEGFR-2.

Les effets des statines à fortes doses sur l'angiogenèse sont inhibés en présence de mévalonate ou de GGPP. Ainsi, l'angiogenèse peut être altérée par inhibition d'isoprénylation et plus particulièrement géranylgéranylation.

Les taux sériques d'atorvastatine chez l'Homme sont de l'ordre de 0,002 à 0,2 μM (pour une dose journalière allant de 10 à 80 mg par jour). Dans cette étude in vitro, les effets proangiogéniques sont observés à des concentrations comprises entre 0,005 et 0,05 μM alors que les effets angiostatiques se retrouvent à des concentrations supérieures à 0,05 μM .

Dans la même étude, les auteurs mettent en évidence le même effet biphasique dose-dépendant in vivo dans un modèle de souris hypercholestérolémique.

En conclusion, de faibles doses de statines pourraient améliorer l'angiogenèse via l'activation de la eNOS. Le NO améliore la prolifération des cellules endothéliales ainsi que leur migration. Au contraire, de fortes doses inhibent cette angiogénèse. Les données suggèrent que la diminution de la formation de GGPP est la cause de cette inhibition. En effet, le GGPP est essentiel pour permettre la localisation et l'activation des petites protéines G telles que celles de la famille Rho.

Les fortes doses de statines augmentent l'apoptose des cellules endothéliales dans des conditions hypoxiques.

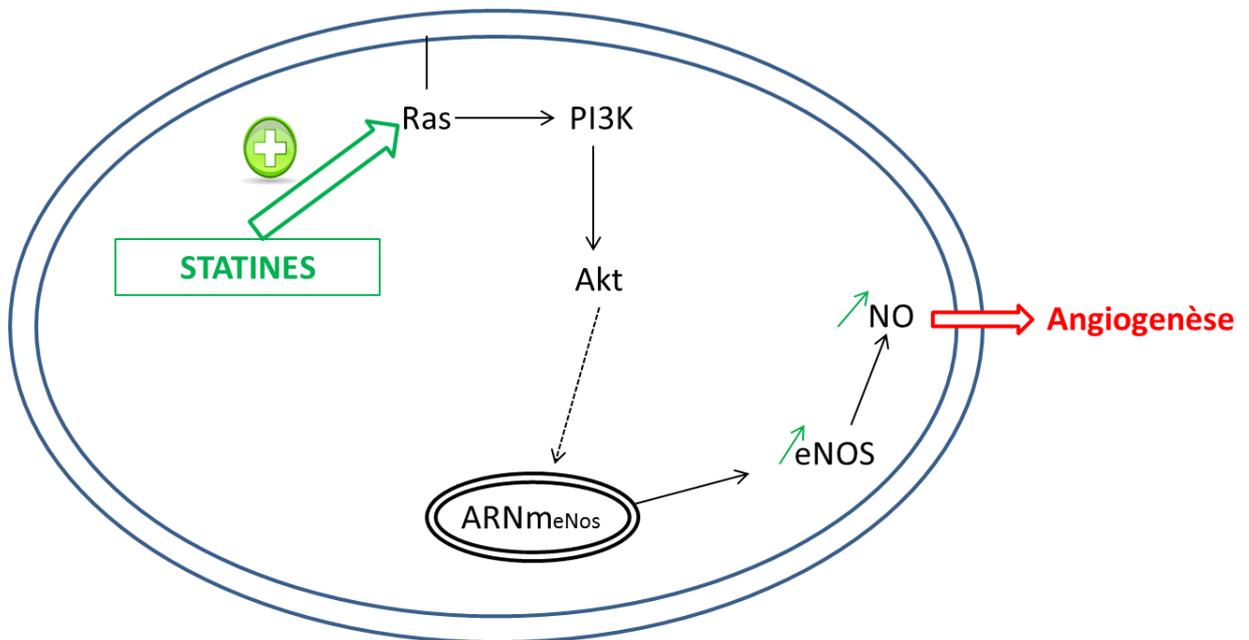


Schéma 13. Action des statines à faible dose sur les cellules endothéliales. Par un mécanisme non élucidé, les statines permettent une activation de la protéine Ras activant à son tour la voie PI3K-Akt. Ainsi l'expression de la eNOS est augmentée via l'action sur son ARNm. Il s'en suit une augmentation de la production de NO nécessaire à l'angiogenèse. Ce phénomène n'a pas lieu à fortes doses. En effet, à fortes doses, les statines entraînent l'apoptose des cellules endothéliales.

4) INVASION TUMORALE ET ARRET DE LA CROISSANCE CELLULAIRE

a) Rappels sur l'invasion et la migration cellulaire

L'invasion et la migration des cellules cancéreuses est un élément clé du développement du cancer provoquant des métastases.

Plusieurs acteurs entrent en jeu :

- Les protéines Rho (Rho A plus particulièrement) et Ras qui sont isoprénylées respectivement par GGPP et FPP pour pouvoir s'ancrer aux membranes. Cet ancrage est une étape indispensable afin de déclencher des voies de signalisation amenant à la prolifération et la migration cellulaire.
- RhoA permet aussi l'activation de NFkB permettant l'expression de l'urokinase u-PA (Urokinase-type Plasminogene Activator) et de la MMP-9 (Matrix MetalloProteinase-9), deux protéases impliquées dans la migration cellulaire (schéma 12).
- Enfin la prénylation de RhoA est nécessaire pour la croissance cellulaire par inhibition de la transcription de p21^{Waf/Cip1}

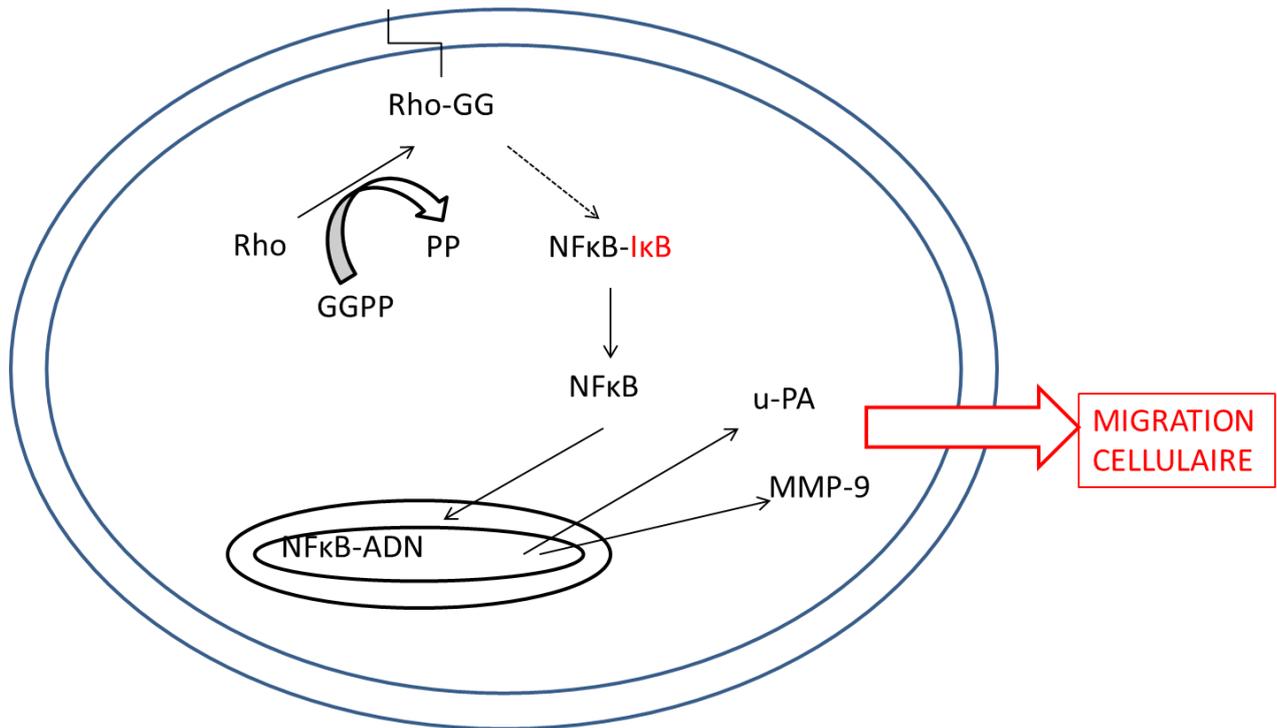


Schéma 14. Migration cellulaire. La production de GGPP permet d'activer la protéine Rho. Par la suite, la protéine Rho active le facteur NFκB qui permet l'expression des protéines u-PA et MMP-9 permettant ainsi la migration cellulaire.

b) Denoyelle et al 2001(81)

Le but de cette étude est de voir quel type de cancer pourrait bénéficier de l'action des statines et de découvrir le mécanisme d'action responsable de l'inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses et de leur invasion.

Donc, cette expérience analyse le rôle de l'inhibition des protéines Ras et RhoA par la cérvastatine sur des cellules cancéreuses du sein hautement invasives : les cellules MDA-MB-231. Ces cellules sont caractérisées par une activité constitutive de Ras et une surexpression de RhoA.

L'effet de la cérvastatine est aussi étudié en comparaison avec des cellules MCF-7, une lignée de cellules cancéreuses du sein peu invasives et non métastatiques.

- Résultats

- Inhibition de la prolifération des cellules MDA-MB-231 par la cérvastatine

La cérvastatine induit une diminution de la prolifération des cellules MDA-MB-231 de façon concentration-dépendante (figure 54). L'effet inhibiteur de la cérvastatine est réversible par l'incubation concomitante de 100 μM de mévalonate ou 10 μM de GGPP mais pas avec 10 μM de FPP.

Au contraire, le traitement des cellules MCF-7 par la cérvastatine n'a pas significativement d'effet sur la prolifération (figure 54).

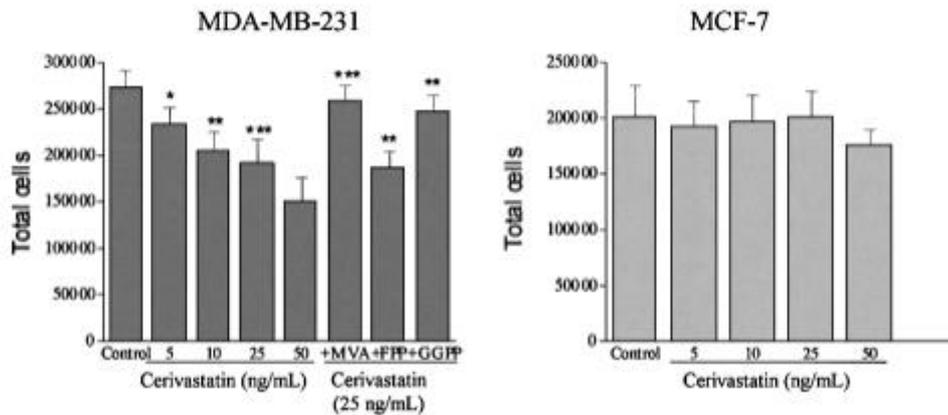


Figure 54 .Inhibition dose-dépendante de la prolifération des cellules MDA-MB-231 par la cérvastatine. Total cells représentent les cellules adhérentes et surnageantes. Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SEM de trois expériences indépendantes. MVA : mévalonate ; (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ vs contrôles). Source : (81).

- La cérvastatine induit le blocage du cycle cellulaire en phase G₁/S

Les analyses par cytométrie de flux montrent que la cérvastatine entraîne l'arrêt du cycle cellulaire en phase G₁/S après 36 heures de traitement.

- La cérvastatine augmente l'expression de la protéine p21^{Waf1/Cip1} et de son ARNm

Le but est de savoir si la cérvastatine augmente l'expression de l'inhibiteur de kinase cycline-dépendante p21^{Waf/Cip1}, impliqué dans la transition entre la phase G₁ et S, dans les cellules MDA-MB-231. L'analyse par Western blotting et Elisa d'extraits nucléaires montre que la cérvastatine entraîne une augmentation du taux de p21^{Waf/Cip1}.

De plus, les auteurs étudient l'effet de MG-132, inhibiteur du protéasome causant un arrêt du cycle en phase G₂/M et étant un inhibiteur de NF κ B, sur l'ARNm de p21^{Waf/Cip1} et le taux de protéines.

La transcription de p21 est augmentée dans les cellules MDA-MB-231 après un traitement par la cérvastatine alors que MG-132 n'entraîne aucun effet (figure 55). Ainsi, le cycle cellulaire est bien à l'arrêt en phase G₁/S. La lignée cellulaire MCF-7, connue pour une expression basale élevée de p21^{Waf/Cip1}, sert de contrôle.

Afin de savoir si l'inactivation de RhoA et Ras est responsable de l'induction de p21^{Waf/Cip1}, du mévalonate, FPP et GGPP sont rajoutés dans les cultures cellulaires.

Quand les cellules MDA-MB-231 sont traitées par de la cérvastatine avec 100 μ M de mévalonate ou 10 μ M de GGPP, l'effet stimulant de la cérvastatine n'a plus lieu. En revanche, l'administration de FPP n'a aucune action significative sur l'expression de p21^{Waf/Cip1} (figure 55).

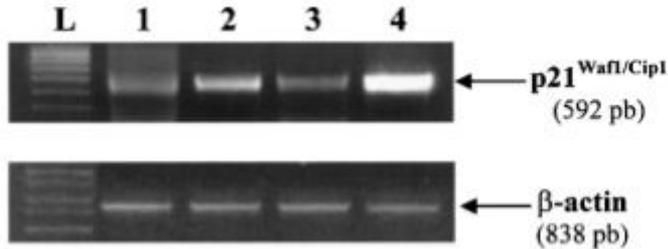


Figure 55.1

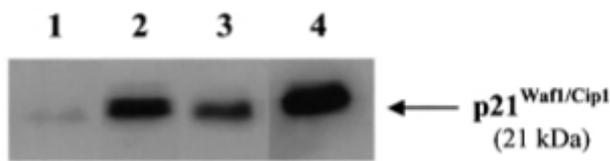


Figure 55.2

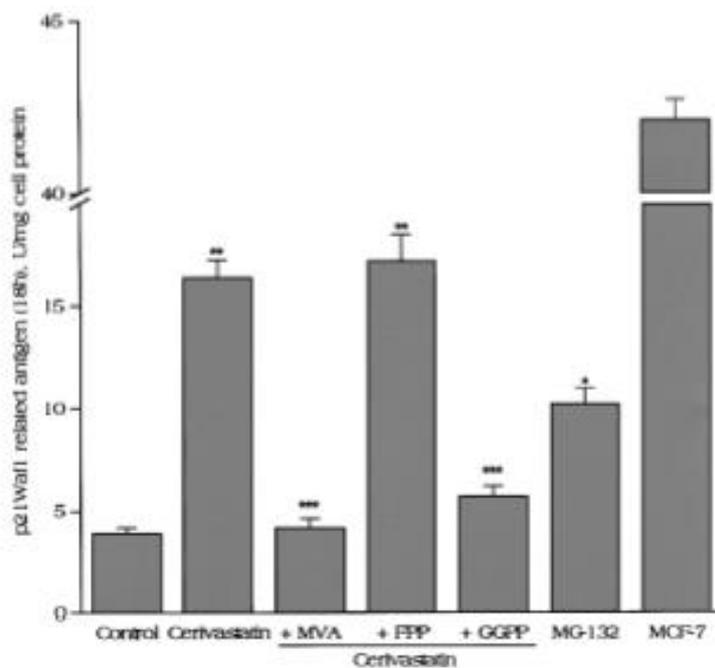


Figure 55.3

Figure 55. Effet de la cérvastatine sur l'expression de l'ARNm de p21^{Waf/Cip1} et du taux de protéines nucléaires dans les cellules MDA-MB-231. Comparaison avec l'effet induit par MG-132. 2-1, Analyse de l'expression de l'ARNm de p21^{Waf/Cip1} par PCR en temps réel. Les cellules MDA-MB-231 sont incubées pendant 12 heures avec 25 ng/ml de cérvastatine (ligne 2) ou 10 μ M (ligne 3) et comparées avec les cellules non traitées (ligne 1). Les cellules MCF-7 sont utilisées comme contrôle positif (ligne 4) puisqu'elles expriment un taux élevé de p21^{Waf/Cip1}. β -actine sert de contrôle interne et la ligne L est l'échelle. 2-2, Analyse de l'expression de p21^{Waf/Cip1} dans les cellules MDA-MB-231 par Western blotting. La ligne 1 correspond au contrôle, la ligne 2 à l'exposition à 25 ng/ml de cérvastatine pendant 18 heures, la ligne 3 à 10 μ M de MG-132 et la ligne 4 aux cellules MCF-7 non traitées. 2-3, Quantification du taux de protéine p21^{Waf/Cip1} par ELISA. Les résultats sont la moyenne \pm SEM de six expériences indépendantes * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ et *** $p < 0,001$ vs contrôles. Source : (81).

- La cérvastatine inhibe l'invasion de MDA-MB-231 dans du Matrigel©

Le Matrigel© (82) est le nom d'une marque de gélatine contenant un mélange de protéines. Ce mélange est obtenu à partir de cellules tumorales de souris. Dans ce milieu, les cellules MDA-MB-231 migrent contrairement aux cellules MCF-7.

La cérvastatine inhibe de façon dose-dépendante l'invasion de ces cellules. L'effet inhibiteur est levé par l'ajout de mévalonate et de GGPP (figure 56).

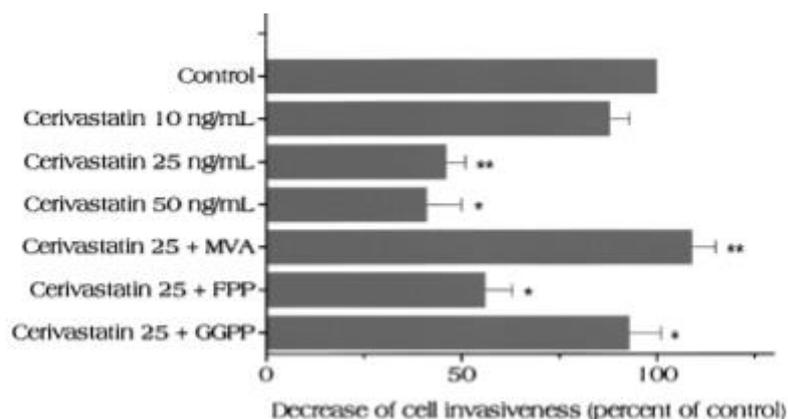


Figure 56. Inhibition de l'invasion des cellules MDA-MB-231 par la cérvastatine. Effet des concentrations croissantes de cérvastatine sur l'invasion cellulaire dans le Matrigel. Les cellules MDA-MB-231 sont incubées avec la cérvastatine pendant 18 heures puis récoltées. Les résultats sont la moyenne \pm SEM de cinq expériences indépendantes. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ vs contrôles. Source : (81).

D'après ces expériences, nous pouvons dire que l'inhibition de l'activation de la protéine RhoA est responsable des différents effets de la cérvastatine sur la prolifération, le cycle cellulaire et l'invasion cellulaire. En effet, seul le mévalonate, précurseur de GGPP et FPP, et le GGPP lui-même inhibe l'action de la cérvastatine. Or, seule la protéine RhoA est géranylgéranylée alors que la protéine Ras est farnésylée.

Par la suite, l'étude vérifie cela en observant l'effet de la cérvastatine sur la délocalisation de RhoA et Ras de la membrane vers le cytosol des cellules.

- La cérvastatine délocalise RhoA et Ras depuis la membrane vers le cytosol

La localisation membranaire de RhoA est diminuée lorsque les cellules MDA-MB-231 sont traitées par la cérvastatine. Cependant, lorsqu'elles sont incubées avec la cérvastatine et le GGPP, RhoA reste ancrée à la membrane cellulaire.

En revanche, pour la protéine Ras, la migration de la membrane vers le cytoplasme induite par la cérvastatine est plus faible et n'apparaît que plus tardivement (au bout de 36 heures d'exposition en comparaison à 18 heures pour RhoA). Cependant, ni l'ajout de GGPP ou de FPP n'a d'action sur cette migration. Cela peut indiquer que

l'activation de Ras dans les cellules MDA-MB-231 n'est que peu régulée par les composés isoprénoides.

- La cérvastatine diminue l'activité de NFκB dans les cellules MDA-MB-231 et augmente l'activité d'IκB.

L'activité du facteur NFκB est déterminée par sa capacité à se lier aux protéines nucléaires.

Les cellules MDA-MB-321 traitées par la cérvastatine montrent une diminution de la liaison de NFκB à l'ADN. Cette diminution apparaît 18 heures après l'incubation avec la cérvastatine et est totale à partir de 36 heures.

L'effet inhibiteur de la cérvastatine vis-à-vis de l'activité de NFκB est levé par la co-incubation de GGPP mais pas de FPP. Cela indique donc bien que l'inhibition de NFκB par la cérvastatine est due à l'inhibition de RhoA.

Enfin, simultanément à cette diminution d'activité de NFκB, les cellules traitées par la cérvastatine montrent une augmentation de la concentration de protéine IκB dans le cytoplasme par Western blotting (figure 57). Or IκB permet l'inactivation de NFκB et empêche son transfert vers le noyau de la cellule.

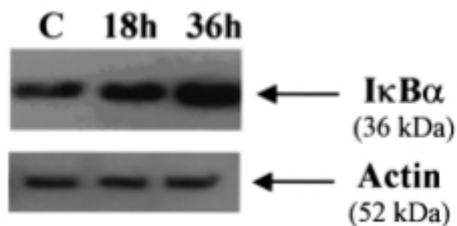


Figure 57. La cérvastatine décroît l'activité de NFκB dans les cellules MDA-MB-231. Analyse de l'expression d'IκBα par Western blotting. Les cellules MDA-MB-231 sont traitées par 25 ng/ml pendant 18 ou 36 heures. L'actine sert de contrôle interne. Source : (81).

- Effet de la cérvastatine sur l'expression d'u-PA dans les cellules MDA-MB-231.

Le facteur NFκB est impliqué dans l'expression d'u-PA, protéase impliquée dans l'adhésion et la migration cellulaire. Denoyelle et al regardent donc l'effet de la cérvastatine sur l'expression de cette protéine.

Aucune modification de l'expression de la protéine u-PA n'est détectée 18 heures après incubation avec la cérvastatine. Cependant, une diminution significative a lieu 2 jours après traitement (diminution de 59% à 25 ng/ml). Cette diminution tardive est liée à une diminution de l'ARNm. En revanche, avec les cellules MCF-7, l'expression d'u-PA n'est pas modifiée par la cérvastatine.

- Effet de la cérvastatine sur la sécrétion de MMP-9 par les cellules MDA-MB-231

Les cellules MDA-MB-231 sont incubées pendant une durée de 18 à 36 heures avec des concentrations croissantes de cérvastatine.

Aucune modification de sécrétion de MMP-9 n'est observée après 18 heures d'incubation avec la cérvastatine, alors qu'une diminution dose dépendante est observée après 36 heures de traitement (figure 58).

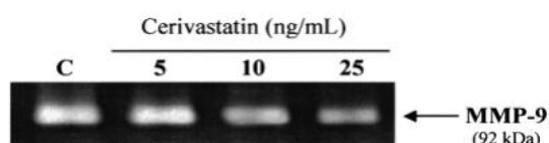


Figure 58. Effet de la cérvastatine sur la sécrétion de MMP-9 par les cellules MDA-MB-231. Les cellules sont traitées pendant 36 heures avec les concentrations indiquées de cérvastatine. La sécrétion de MMP-9 est déterminée par zymographie sur gel. Source : (81).

• Discussion

À faibles concentrations (25 ng/ml), la cérvastatine entraîne une diminution de la prolifération cellulaire de MDA-MB-231 jusqu'à 40%. De plus, la cérvastatine exerce un effet anti-invasif sur les cellules MDA-MB-231.

L'hypothèse de cette étude est que la cérvastatine inhibe la prolifération et l'invasion cellulaire via l'inactivation de Ras et RhoA.

En effet, Ras et RhoA sont activées respectivement par FPP et GGPP. Or, ces molécules formées par la voie du mévalonate sont inhibées par les statines. De plus, ces effets inhibiteurs sont clairement inversés lors de l'ajout de mévalonate (précurseur de FPP et GGPP).

Concernant les effets antiprolifératifs, seul l'ajout de GGPP inhibe l'action de la cérvastatine. Ainsi, la prolifération des cellules de MDA-MB-231 semble surtout due à l'activation de RhoA plutôt qu'à celle de la voie Ras-MAPK.

L'effet antiprolifératif est aussi lié à l'arrêt du cycle cellulaire en phase G₁/s. D'après cette étude, cet arrêt est dû à l'augmentation de la production d'un inhibiteur de kinase cycline-dépendante: p21^{Waf1/Cip1}. Une étude menée par Allal et al (83) a montré que la géranylgeranylation de RhoA est nécessaire pour inhiber la transcription de p21^{Waf1/Cip1} permettant la progression du cycle et la prolifération cellulaire. Ainsi, la cérvastatine entraîne donc un arrêt du cycle cellulaire en agissant en amont par l'inhibition de l'activation de RhoA.

Concernant l'effet anti-invasif de la cérivastatine, deux mécanismes d'actions complémentaires semblent mis en place. Tout d'abord, l'inhibition du facteur NFκB, par inhibition de RhoA, puisque l'ajout de GGPP inverse les effets de la cérivastatine, mais aussi par augmentation de l'activité d'IκB empêchant la délocalisation du facteur NFκB du cytoplasme vers le noyau cellulaire. Cependant, dans les cellules MDA-MB-231, Ras est constitutivement active, il est donc possible que cette activation ne soit pas FPP dépendante.

Ensuite, cette étude montre que la cérivastatine diminue l'expression d'u-PA et de MMP-9. NFκB est impliqué dans la régulation de l'expression de ces protéases. Ainsi, la cérivastatine diminue leur expression par ce biais.

En conclusion, la cérivastatine inhibe la signalisation intracellulaire de RhoA lui donnant cette propriété antiproliférative et antimétastatique. La cérivastatine pourrait donc faire partie d'une nouvelle approche de traitement dans les formes de cancer hautement invasif.

- Résumé : Action des statines sur la migration cellulaire (28)(81)(84)

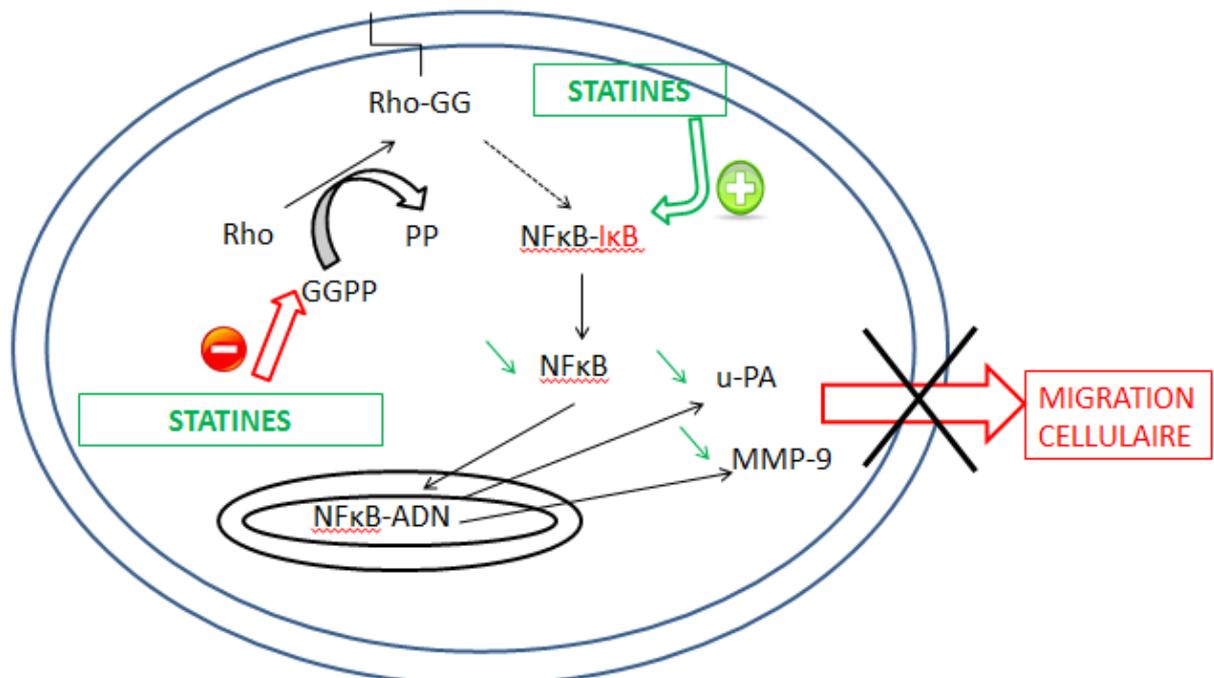


Schéma 15. Action des statines sur la migration cellulaire. Les statines, en diminuant la production de GGPP, diminuent l'activation du facteur NFκB. Ainsi le taux des protéases u-PA et MMP-9 jouant un rôle dans la migration cellulaire est diminué, d'où une inhibition de la migration cellulaire et donc des métastases.

c) Lee et al 2006 (85)

Une autre étude de Lee et al démontre l'effet de la lovastatine sur la senescence, c'est-à-dire l'arrêt de la croissance cellulaire menant à un arrêt irréversible de cette croissance, des cellules de prostate cancéreuse (cellules PC-3). L'arrêt de la croissance dû à la lovastatine se ferait via un arrêt du cycle cellulaire à la phase G1/S.

Les auteurs mettent en avant l'effet de cette statine sur la protéine RhoA et ainsi son effet sur le cycle cellulaire. Pour soutenir cette hypothèse, les auteurs ont mis en contact de faibles doses de lovastatine (0,3 μ M) avec des cellules PC-3. Puis, ils ont testé l'effet de la lovastatine dans des cellules PC-3 présentant une protéine RhoA constitutivement active.

- Résultats

Les résultats de cette étude sont que la lovastatine induit la senescence des cellules humaines cancéreuses de la prostate.

La déplétion en GGPP et en protéine RhoA géranylgeranylé sont essentielles à cet effet de la lovastatine. En effet, les cellules PC-3 échappent à la senescence lors de la supplémentation en mévalonate et en GGPP mais pas en FPP.

Cette étude suggère aussi que la protéine Ras, qui nécessite une farnésylation pour être active, ne joue pas de rôle en elle-même dans l'arrêt du cycle cellulaire. En effet, il semblerait que la protéine Ras soit incapable de permettre la prolifération cellulaire en l'absence de protéines géranylgeranylées telles que RhoA.

Par le biais de cette inhibition de la géranylgeranylation de RhoA, la lovastatine permet l'accumulation de la protéine p27, inhibiteur de kinase cycline-dépendante, menant à l'arrêt de la progression du cycle en phase G1/S.

d) Nübel et al 2014 (86)

Cette étude se penche sur l'action de la sélectine-E et son inhibition par les statines. La sélectine-E est impliquée dans le processus de métastase en promouvant l'adhésion des cellules tumorales circulantes à l'endothélium.

Cette étude a plusieurs buts :

- Définir l'effet des statines sur l'expression du gène de la sélectine-E après stimulation par TNF- α .
- Savoir si la voie de signalisation de Rho est essentielle pour l'induction du gène sélectine-E.
- Savoir si la lovastatine est une molécule pouvant inhiber in vitro l'adhésion cellulaire tumorale et l'invasion cellulaire déclenchée par le TNF- α .

- Action du TNF- α sur la sélectine-E

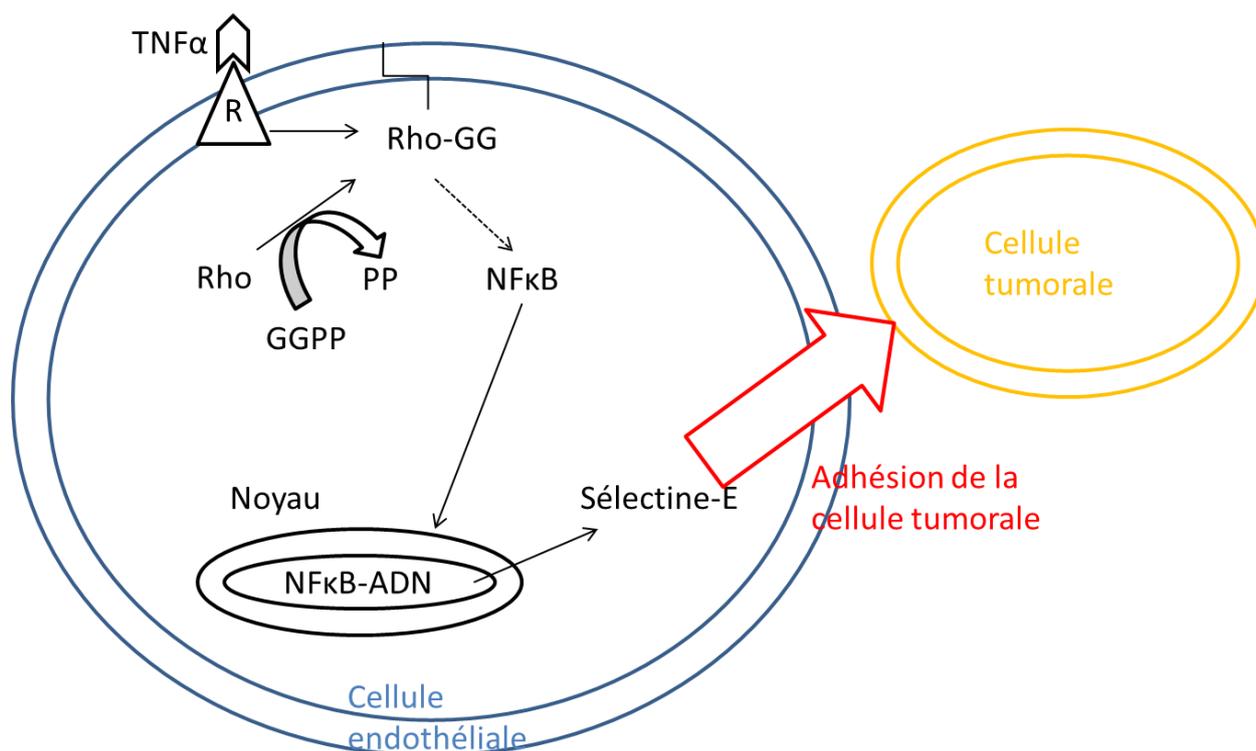


Schéma 16. Action du TNF- α sur la sélectine-E. La fixation du TNF- α à son récepteur stimule l'action de la protéine Rho. Elle-même stimule l'action du facteur NF κ B qui augmente l'expression de la sélectine-E permettant l'adhésion d'une cellule tumorale à la cellule endothéliale

- Résultats

Le traitement des cellules endothéliales HUVEC par du TNF- α entraîne une augmentation de l'expression de la sélectine-E de façon dose-dépendante. Il est établi que le facteur NF κ B est essentiel pour l'induction de l'expression de la sélectine-E par le TNF- α . Cette étude montre que la simvastatine et la lovastatine inhibent l'expression de la sélectine-E induite par le TNF- α de façon dose-dépendante.

Il est important de connaître la plus faible concentration efficace de lovastatine provoquant l'inhibition de l'expression de la sélectine-E chez l'Homme. Cette étude regarde donc l'effet de l'utilisation d'une dose de lovastatine inférieure ou égale à 1 μ M sur l'expression de sélectine-E induite par TNF- α . Une concentration comprise entre 0,1 et 1 μ M est suffisante pour réduire significativement l'expression de cette protéine après stimulation par TNF- α

Ensuite, afin de savoir quel type d'isoprénoides est impliqué dans la régulation de la sélectine-E, Nübel et al ont regardé l'effet de l'ajout de GGPP et FPP sur l'effet inhibiteur de la lovastatine. Comme dans les expériences précédentes, l'ajout de GGPP mais pas de FPP inhibe l'action de la lovastatine (figure 59).

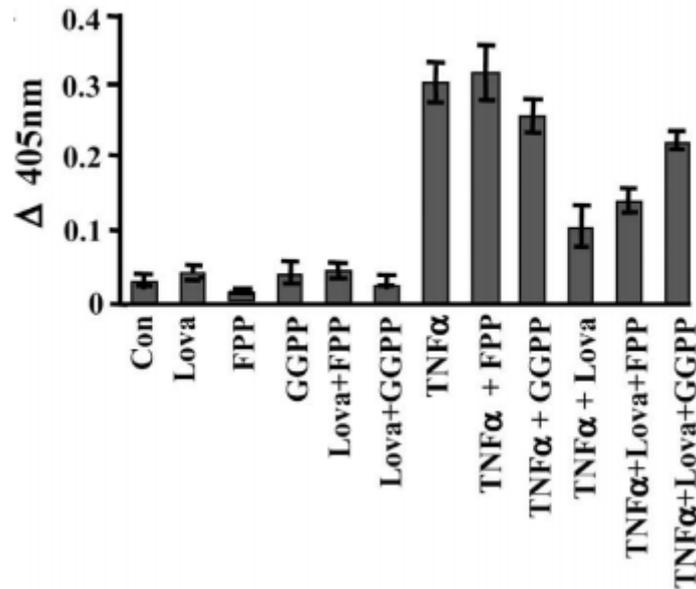


Figure 59. Les protéines Rho sont impliquées dans l'expression des gènes de sélectine-E induit par TNF- α . Les cellules endothéliales sont prétraitées ou non (Con) par 20 μ M de lovastatine (lova) en présence ou absence de GGPP (50 μ M) ou FPP (50 μ M). Ensuite, les cellules sont traitées par 100 ng/ml de TNF- α puis l'expression de la protéine est mesurée par un test ELISA. Source : (86).

Ainsi, seules les protéines géranylgéranylées sont impliquées dans la régulation de l'expression de la sélectine-E par stimulation de la liaison de TNF- α avec son récepteur.

Etant donné que les protéines Rho contribuent à la régulation de NF κ B et à l'activation de la transcription du gène de la sélectine-E, l'étude se penche sur l'effet de l'expression d'un dominant négatif de Rho sur l'activité du promoteur de la sélectine.

L'expression des formes dominantes négatives RhoA et RhoB n'affectent pas l'expression du gène de la sélectine-E mais inhibent l'activation du promoteur de gène de la sélectine-E induite par le TNF- α .

En se basant sur ces résultats, il est possible de dire que l'induction de la transcription du gène de la sélectine-E médiée par le TNF- α est un mécanisme Rho-dépendant.

Puisque la sélectine-E joue un rôle important dans l'attachement des cellules tumorales à l'endothélium durant le processus de métastase, la question se pose de savoir si l'inhibition de l'expression de la sélectine-E par la lovastatine diminue l'adhésion cellulaire tumorale. Une concentration de l'ordre de 0,1 à 1 μ M de lovastatine diminue drastiquement l'invasion tumorale (figure 60).

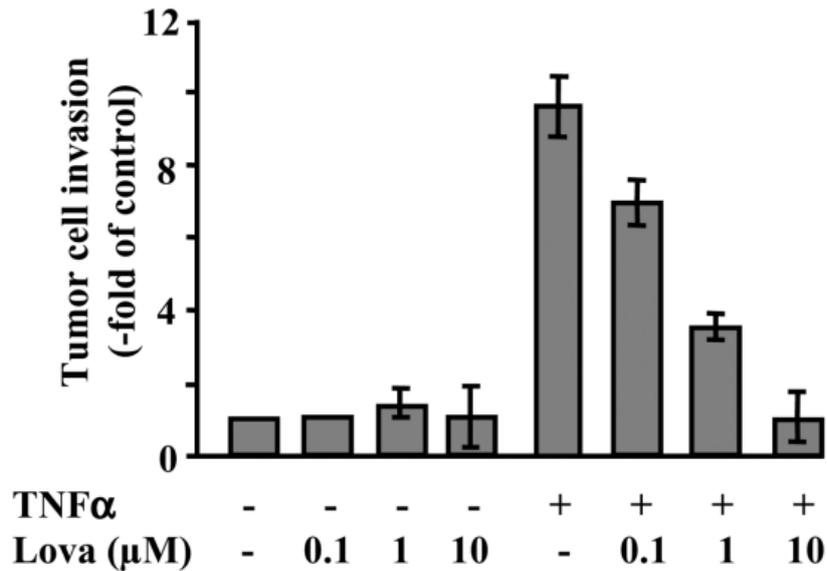


Figure 60. La lovastatine empêche l'invasion des cellules cancéreuses du côlon HT29 induite par le TNF- α . Les cellules HUVECs sont pré-traitées ou non pendant 24 heures par différentes doses de lovastatine. Ensuite, les cellules sont exposées au TNF- α . Après une incubation de 5 heures, la migration des cellules HT29 est évaluée. Les résultats sont des moyennes \pm écart type d'au moins 2 expériences indépendantes réalisées 4 fois. Source : (86).

- Discussion

Le rôle des protéines Rho dans l'invasion et la métastase est bien décrit.

L'action de la lovastatine en diminuant la formation de GGPP permet d'inhiber l'activation des protéines Rho.

Cela permet donc d'inhiber l'action du facteur NF κ B lui-même responsable de l'expression de la sélectine-E. Par ce biais, l'adhésion des cellules tumorales est diminuée ainsi que l'invasion cellulaire et les métastases. Cette action s'ajoute à la diminution des expressions des MMP-9 et u-PA jouant aussi un rôle dans cette invasion.

L'action antimétastatique de la lovastatine dans cette expérience se retrouve à faible doses. En effet, la CI₅₀ (concentration inhibitrice médiane) in vitro de l'expression de la sélectine-E est obtenue à une dose inférieure à 100 nM de lovastatine. Ceci correspondrait à une dose quotidienne de l'ordre de 100 mg par jour chez l'Homme.

Ainsi, cet effet prometteur nécessite plus d'essais impliquant des essais précliniques in vivo pour voir si la lovastatine affecte le processus de métastase.

- Effet des statines sur la sélectine-E.

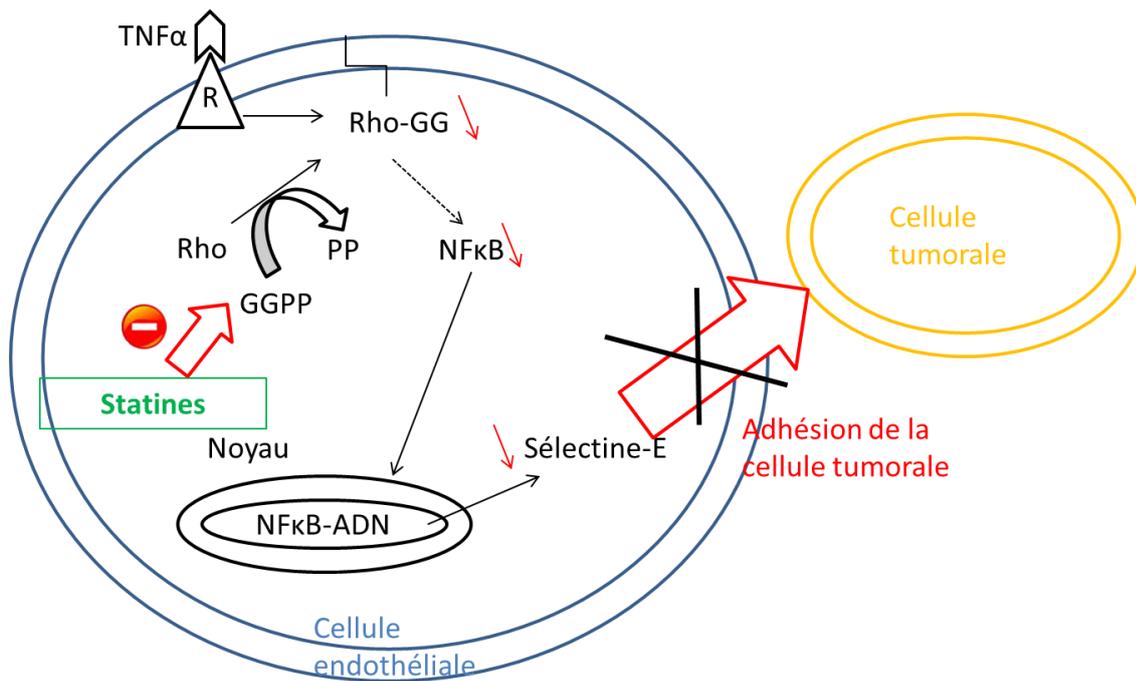


Schéma 17. Effet des statines sur la sélectine-E. Les statines en diminuant la production de GGPP, diminuent l'activité de la protéine Rho. Ainsi toute la cascade de signalisation est inhibée. Il en résulte une diminution de l'expression de la sélectine-E ainsi qu'une diminution de l'adhésion des cellules tumorales et donc des métastases.

H. RESUME DES EFFETS ANTITUMORAUX DES STATINES (87)(88)(89)(90)(91)

Inhibition de la croissance des cellules tumorales

- Inhibition de la synthèse de FPP et GGPP.
- Stabilisation des inhibiteurs de kinase cyclines-dépendantes : p19, p21 et p27.
- Inhibition de la prolifération cellulaire médiée par Ras et Rho.

Répression des métastases tumorales

- Réduction de l'expression de la molécule d'adhésion sélectine-E.
- Réduction de l'expression de MMP-9 et u-PA

Statines

```
graph TD; S[Statines] --> A[Inhibition de la croissance des cellules tumorales]; S --> B[Répression des métastases tumorales]; S --> C[Angiogenèse]; S --> D[Apoptose];
```

Angiogenèse

- Effet proangiogénique à faible dose
 - Stimulation de l'Akt
 - Activation eNOS
- Effet antiangiogénique à forte dose
 - Diminution VEGF
 - Inhibition de la formation de tube capillaire.

Apoptose

- Augmentation de l'expression de la protéine Bax et activation des caspases.
- Diminution de l'expression de la protéine Bcl-2.

Conclusion

En définitive, les statines démontrent bien des effets multiples.

Concernant son effet sur le diabète, l'effet diabétogène des statines nécessite plus d'études. En effet, il semblerait que seules certaines aient un effet diabétogène et plus particulièrement la rosuvastatine, l'atorvastatine et la simvastatine alors que la pravastatine aurait un effet nul voir protecteur. Malgré cela, la prise de statines ne nécessite pas de précautions particulières chez les sujets diabétiques. Au contraire, leur utilisation en prévention cardiovasculaire reste indispensable. En ce qui concerne les personnes présentant des facteurs de risques de développement de diabète, une simple surveillance glycémique permettrait de limiter l'apparition de diabète.

Pour les propriétés antitumorales des statines, d'autres études sont là encore nécessaires afin de voir si les statines ont leur place dans l'arsenal thérapeutique de lutte contre le cancer. En effet, le principal problème rencontré reste la dose efficace, supérieure aux doses utilisées en thérapeutique, qui pourrait entraîner des effets indésirables de type myalgie ou élévation des transaminases du foie.

Ces deux effets, bien que différents, sont dus à un même mécanisme : la déplétion en isoprénoides essentiels à de nombreuses fonctions cellulaires.

En conclusion, la classe des statines reste indispensable en prévention cardiovasculaire. Les effets multiples de cette classe dans certains domaines semblent prometteurs mais plus d'études sont nécessaires avant de modifier leur balance bénéfice/risque.

BIBLIOGRAPHIE

1. Thériaque [Internet]. [cited 2015 Aug 17]. Available from: http://www.theriaque.org/apps/recherche/rch_simple.php
2. Mück W. Clinical pharmacokinetics of cerivastatin. *Clin Pharmacokinet.* 2000 Aug;39(2):99–116.
3. Mills EJ, Wu P, Chong G, Ghement I, Singh S, Akl EA, et al. Efficacy and safety of statin treatment for cardiovascular disease: a network meta-analysis of 170 255 patients from 76 randomized trials. *QJM.* 2011 Feb 1;104(2):109–24.
4. _pdf [Internet]. [cited 2015 Aug 17]. Available from: https://www.jstage.jst.go.jp/article/endocrj/52/3/52_3_369/_pdf
5. Role de l'insuline de GLUT4 et du glucagon dans la regulation de la glycolyse Enseignement recherche Biochimie Universite Angers Emmanuel Jaspard biochimej [Internet]. [cited 2015 Aug 18]. Available from: <http://biochimej.univ-angers.fr/Page2/TexteTD/6ModuleS5BG2/ZsuiteTDS5BG2/3RoleInsulinGlucagon/1RoleInsulinGlucagon.htm>
6. OMS | Mieux connaître le diabète [Internet]. WHO. [cited 2015 Aug 18]. Available from: http://www.who.int/diabetes/action_online/basics/fr/index2.html
7. Ridker PM, Pradhan A, MacFadyen JG, Libby P, Glynn RJ. Cardiovascular Benefits and Diabetes Risks of Statin Therapy in Primary Prevention. *Lancet.* 2012 Aug 11;380(9841):565–71.
8. Chie Ohmura HW. Acute Onset and Worsening of Diabetes Concurrent with Administration of Statins. *Endocr J.* 2005;52(3):369–72.
9. Coleman CI, Reinhart K, Kluger J, Michael White C. The effect of statins on the development of new-onset type 2 diabetes: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Curr Med Res Opin.* 2008 Apr 1;24(5):1359–62.
10. 09e4150b7a31479084000000.pdf [Internet]. [cited 2015 Aug 19]. Available from: https://www.researchgate.net/profile/John_Norrie/publication/12171378_Pravastatin_and_the_development_of_diabetes_mellitus_evidence_for_a_protective_treatment_effect_in_the_West_of_Scotland_Coronary_Prevention_Study/links/09e4150b7a31479084000000.pdf
11. Rajpathak SN, Kumbhani DJ, Crandall J, Barzilai N, Alderman M, Ridker PM. Statin Therapy and Risk of Developing Type 2 Diabetes: A Meta-Analysis. *Diabetes Care.* 2009 Jan 10;32(10):1924–9.
12. Sattar N, Preiss D, Murray HM, Welsh P, Buckley BM, de Craen AJ, et al. Statins and risk of incident diabetes: a collaborative meta-analysis of randomised statin trials. *The Lancet.* 2010 Mar 5;375(9716):735–42.

13. Wang K-L, Liu C-J, Chao T-F, Huang C-M, Wu C-H, Chen S-J, et al. Statins, Risk of Diabetes, and Implications on Outcomes in the General Population. *J Am Coll Cardiol*. 2012 Oct 2;60(14):1231–8.
14. Wang K-L, Liu C-J, Chao T-F, Chen S-J, Wu C-H, Huang C-M, et al. Risk of New-Onset Diabetes Mellitus Versus Reduction in Cardiovascular Events With Statin Therapy. *Am J Cardiol*. 2014 Feb 15;113(4):631–6.
15. Waters DD, Ho JE, DeMicco DA, Breazna A, Arsenault BJ, Wun C-C, et al. Predictors of New-Onset Diabetes in Patients Treated With Atorvastatin: Results From 3 Large Randomized Clinical Trials. *J Am Coll Cardiol*. 2011 Apr 5;57(14):1535–45.
16. Waters DD, Ho JE, Boekholdt SM, DeMicco DA, Kastelein JJP, Messig M, et al. Cardiovascular Event Reduction Versus New-Onset Diabetes During Atorvastatin Therapy: Effect of Baseline Risk Factors for Diabetes. *J Am Coll Cardiol*. 2013 Jan 15;61(2):148–52.
17. Currie O, Mangin D, Williman J, McKinnon-Gee B, Bridgford P. The comparative risk of new-onset diabetes after prescription of drugs for cardiovascular risk prevention in primary care: a national cohort study. *BMJ Open*. 2013 Jan 11;3(11):e003475.
18. Baker WL, Talati R, White CM, Coleman CI. Differing effect of statins on insulin sensitivity in non-diabetics: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract*. 2010 Jan;87(1):98–107.
19. Zaharan NL, Williams D, Bennett K. Statins and risk of treated incident diabetes in a primary care population. *Br J Clin Pharmacol*. 2013 Apr;75(4):1118–24.
20. Navarese EP, Buffon A, Andreotti F, Kozinski M, Welton N, Fabiszak T, et al. Meta-Analysis of Impact of Different Types and Doses of Statins on New-Onset Diabetes Mellitus. *Am J Cardiol*. 2013 Apr 15;111(8):1123–30.
21. Koh KK, Quon MJ, Sakuma I, Han SH, Choi H, Lee K, et al. Differential metabolic effects of rosuvastatin and pravastatin in hypercholesterolemic patients. *Int J Cardiol*. 2013 Jun 20;166(2):509–15.
22. Preiss D, Seshasai S, Welsh P, et al. Risk of incident diabetes with intensive-dose compared with moderate-dose statin therapy: A meta-analysis. *JAMA*. 2011 Jun 22;305(24):2556–64.
23. Koh KK, Quon MJ, Han SH, Lee Y, Kim SJ, Park JB, et al. Differential metabolic effects of pravastatin and simvastatin in hypercholesterolemic patients. *Atherosclerosis*. 2009 Jun;204(2):483–90.
24. Koh KK, Quon MJ, Han SH, Lee Y, Kim SJ, Shin EK. Atorvastatin Causes Insulin Resistance and Increases Ambient Glycemia in Hypercholesterolemic Patients. *J Am Coll Cardiol*. 2010 Mar 23;55(12):1209–16.

25. Ishikawa M, Namiki A, Kubota T, Yajima S, Fukazawa M, Moroi M, et al. Effect of Pravastatin and Atorvastatin on Glucose Metabolism in NonDiabetic Patients with Hypercholesterolemia. *Intern Med.* 2006;45(2):51–5.
26. Yada T, Nakata M, Shiraishi T, Kakei M. Inhibition by simvastatin, but not pravastatin, of glucose-induced cytosolic Ca²⁺ signalling and insulin secretion due to blockade of L-type Ca²⁺ channels in rat islet β -cells. *Br J Pharmacol.* 1999 Mar;126(5):1205–13.
27. Yada T, Nakata M, Shiraishi T, Kakei M. Inhibition by simvastatin, but not pravastatin, of glucose-induced cytosolic Ca²⁺ signalling and insulin secretion due to blockade of L-type Ca²⁺ channels in rat islet β -cells. *Br J Pharmacol.* 1999 Mar;126(5):1205–13.
28. Fuzhen Xia LX. Inhibition of cholesterol biosynthesis impairs insulin secretion and voltage-gated calcium channel function in pancreatic beta-cells. *Endocrinology.* 2008;149(10):5136–45.
29. Chamberlain LH. Inhibition of isoprenoid biosynthesis causes insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett.* 2001 Nov 2;507(3):357–61.
30. Takaguri A, Satoh K, Itagaki M, Tokumitsu Y, Ichihara K. Effects of Atorvastatin and Pravastatin on Signal Transduction Related to Glucose Uptake in 3T3L1 Adipocytes. *J Pharmacol Sci.* 2008;107(1):80–9.
31. Hemmings BA, Restuccia DF. PI3K-PKB/Akt Pathway. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2012 Jan 9;4(9):a011189.
32. M Nakata SN, Nakata, M. et al. Effects of statins on the adipocyte maturation and expression of glucose transporter 4 (SLC2A4): implications in glycaemic control. *Diabetologia* 49, 1881-1892. *Diabetologia.* 2006;49(8):1881–92.
33. Abel ED, Peroni O, Kim JK, Kim YB, Boss O, Hadro E, et al. Adipose-selective targeting of the GLUT4 gene impairs insulin action in muscle and liver. *Nature.* 2001 Feb 8;409(6821):729–33.
34. Maeda N, Shimomura I, Kishida K, Nishizawa H, Matsuda M, Nagaretani H, et al. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat Med.* 2002 Jul;8(7):731–7.
35. Koh KK, Quon MJ, Han SH, Lee Y, Ahn JY, Kim SJ, et al. Simvastatin Improves Flow-Mediated Dilatation but Reduces Adiponectin Levels and Insulin Sensitivity in Hypercholesterolemic Patients. *Diabetes Care.* 2008 Jan 4;31(4):776–82.
36. Maeda T, Horiuchi N. Simvastatin Suppresses Leptin Expression in 3T3-L1 Adipocytes via Activation of the Cyclic AMP–PKA Pathway Induced by Inhibition of Protein Prenylation. *J Biochem (Tokyo).* 2009 Jan 6;145(6):771–81.

37. Brault M, Ray J, Gomez Y-H, Mantzoros CS, Daskalopoulou SS. Statin treatment and new-onset diabetes: A review of proposed mechanisms. *Metabolism*. 2014 Jun;63(6):735–45.
38. Ruscica M, Macchi C, Morlotti B, Sirtori CR, Magni P. Statin therapy and related risk of new-onset type 2 diabetes mellitus. *Eur J Intern Med*. 2014 Jun;25(5):401–6.
39. Sattar NA, Ginsberg H, Ray K, Chapman MJ, Arca M, Averna M, et al. The use of statins in people at risk of developing diabetes mellitus: Evidence and guidance for clinical practice. *Atheroscler Suppl*. 2014 Jun;15(1):1–15.
40. DP Usage statines mai 2013 vdef - 29052013_DP_Usage_statines_mai_2013_vdef.pdf [Internet]. [cited 2015 Aug 17]. Available from: http://www.ameli.fr/fileadmin/user_upload/documents/29052013_DP_Usage_statines_mai_2013_vdef.pdf
41. Reduction in the Incidence of Type 2 Diabetes with Lifestyle Intervention or Metformin — NEJM [Internet]. [cited 2015 Aug 23]. Available from: <http://www.nejm.org.docelec.u-bordeaux.fr/doi/full/10.1056/NEJMoa012512>
42. Statines et risque de diabète : le rapport bénéfice/risque reste toujours positif - Point d'Information - ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé [Internet]. [cited 2015 Aug 17]. Available from: <http://ansm.sante.fr/S-informer/Points-d-information-Points-d-information/Statines-et-risque-de-diabete-le-rapport-benefice-risque-reste-toujours-positif-Point-d-Information>
43. La prostate : définition - ameli-santé [Internet]. [cited 2015 Aug 11]. Available from: <http://www.ameli-sante.fr/cancer-de-la-prostate/cancer-de-la-prostate.html>
44. Geybels MS, Wright JL, Holt SK, Kolb S, Feng Z, Stanford JL. Statin use in relation to prostate cancer outcomes in a population-based patient cohort study. *The Prostate*. 2013 Aug;73(11):1214–22.
45. Classification - Cancer de la prostate | Institut National Du Cancer [Internet]. [cited 2015 Aug 11]. Available from: <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-de-la-prostate/Classification#gleason>
46. Scosyrev E, Tobis S, Donsky H, Wu G, Joseph J, Rashid H, et al. Statin use and the risk of biochemical recurrence of prostate cancer after definitive local therapy: a meta-analysis of eight cohort studies. *BJU Int*. 2013 Mar;111(3 Pt B):E71–7.
47. Nielsen SF, Nordestgaard BG, Bojesen SE. Statin Use and Reduced Cancer-Related Mortality. *N Engl J Med*. 2012 Nov 8;367(19):1792–802.
48. Yu O, Eberg M, Benayoun S, Aprikian A, Batist G, Suissa S, et al. Use of Statins and the Risk of Death in Patients With Prostate Cancer. *J Clin Oncol*. 2013 Nov 4;JCO.2013.49.4757.

49. Gutt R, Tonlaar N, Kunnavakkam R, Karrison T, Weichselbaum RR, Liauw SL. Statin use and risk of prostate cancer recurrence in men treated with radiation therapy. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2010 Jun 1;28(16):2653–9.
50. Kollmeier MA, Katz MS, Mak K, Yamada Y, Feder DJ, Zhang Z, et al. Improved biochemical outcomes with statin use in patients with high-risk localized prostate cancer treated with radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2011 Mar 1;79(3):713–8.
51. Hamilton RJ, Goldberg KC, Platz EA, Freedland SJ. The Influence of Statin Medications on Prostate-specific Antigen Levels. *J Natl Cancer Inst*. 2008 Nov 5;100(21):1511–8.
52. Kim JH, Cox ME, Wasan KM. Effect of simvastatin on castration-resistant prostate cancer cells. *Lipids Health Dis*. 2014 Mar 26;13:56.
53. Comprendre le cancer colorectal : colon et rectum - ameli-santé [Internet]. [cited 2015 Aug 12]. Available from: <http://www.ameli-sante.fr/cancer-colorectal/les-cancers-du-colon-et-du-rectum-et-leurs-facteurs-de-risque.html>
54. Stades du cancer colorectal - Cancer du côlon | Institut National Du Cancer [Internet]. [cited 2015 Aug 12]. Available from: <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Les-cancers/Cancer-du-colon/Stades-du-cancer-colorectal>
55. Poynter JN, Gruber SB, Higgins PDR, Almog R, Bonner JD, Rennert HS, et al. Statins and the Risk of Colorectal Cancer. *N Engl J Med*. 2005 May 26;352(21):2184–92.
56. Lytras T, Nikolopoulos G, Bonovas S. Statins and the risk of colorectal cancer: An updated systematic review and meta-analysis of 40 studies. *World J Gastroenterol WJG*. 2014 Feb 21;20(7):1858–70.
57. Cai H, Zhang G, Wang Z, Luo Z, Zhou X. Relationship Between the Use of Statins and Patient Survival in Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS ONE* [Internet]. 2015 Jun 1 [cited 2015 Aug 12];10(6). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4451009/>
58. For Patients with Colorectal Cancer, the Long-Term Use of Statins Is Associated with Better Clinical Outcomes - Springer. [cited 2015 Aug 12]; Available from: <http://link.springer.com.bases-doc.univ-lorraine.fr/article/10.1007/s10620-009-0790-8/fulltext.html>
59. Murtola TJ, Visvanathan K, Artama M, Vainio H, Pukkala E. Statin Use and Breast Cancer Survival: A Nationwide Cohort Study from Finland. *PLoS ONE* [Internet]. 2014 Oct 20 [cited 2015 Aug 12];9(10). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4203770/>
60. Fluvastatin reduces proliferation and increases apoptosis in women with high grade breast cancer - Springer. [cited 2015 Aug 12]; Available from: <http://link.springer.com.bases-doc.univ-lorraine.fr/article/10.1007/s10549-009-0507-x/fulltext.html>

61. Targeting HMG-CoA reductase with statins in a window-of-opportunity breast cancer trial - Springer. [cited 2015 Aug 12]; Available from: <http://link.springer.com.bases-doc.univ-lorraine.fr/article/10.1007/s10549-013-2473-6/fulltext.html>
62. Gruenbacher G, Thurnher M. Mevalonate metabolism in cancer. *Cancer Lett.* 2015 Jan 28;356(2, Part A):192–6.
63. Vaseva AV, Moll UM. The mitochondrial p53 pathway. *Biochim Biophys Acta.* 2009 May;1787(5):414.
64. Interaction virus-cellule [Internet]. [cited 2015 Aug 16]. Available from: http://www.afd-ld.org/~fdp_viro/content.php?page=interaction
65. SPAMPANATO C, DE MARIA S, SARNATARO M, GIORDANO E, ZANFARDINO M, BAIANO S, et al. Simvastatin inhibits cancer cell growth by inducing apoptosis correlated to activation of Bax and down-regulation of BCL-2 gene expression. *Int J Oncol.* 2011 Nov 29;40(4):935–41.
66. Agarwal B, Bhendwal S, Halmos B, Moss SF, Ramey WG, Holt PR. Lovastatin Augments Apoptosis Induced by Chemotherapeutic Agents in Colon Cancer Cells. *Clin Cancer Res.* 1999 Jan 8;5(8):2223–9.
67. Katz MS, Minsky BD, Saltz LB, Riedel E, Chessin DB, Guillem JG. Association of statin use with a pathologic complete response to neoadjuvant chemoradiation for rectal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2005 Aug 1;62(5):1363–70.
68. Lee SK, Kim YC, Song SB, Kim YS. Stabilization and translocation of p53 to mitochondria is linked to Bax translocation to mitochondria in simvastatin-induced apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010 Jan 22;391(4):1592–7.
69. Kaneko R, Tsuji N, Asanuma K, Tanabe H, Kobayashi D, Watanabe N. Survivin Down-regulation Plays a Crucial Role in 3-Hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A Reductase Inhibitor-induced Apoptosis in Cancer. *J Biol Chem.* 2007 Jun 7;282(27):19273–81.
70. Activation of NF- κ B and upregulation of intracellular anti-apoptotic proteins via the IGF-1/Akt signaling in human multiple myeloma cells: therapeutic implications. *Publ Online* 13 August 2002 Doi101038sjonc1205664 [Internet]. 2002 Aug 13 [cited 2015 Aug 15];21(37). Available from: <http://www.nature.com/onc/journal/v21/n37/full/1205664a.html>
71. Ozes ON, Mayo LD, Gustin JA, Pfeffer SR, Pfeffer LM, Donner DB. NF- κ B activation by tumour necrosis factor requires the Akt serine-threonine kinase. *Nature.* 1999 Sep 2;401(6748):82–5.
72. Herrero-Martin G, López-Rivas A. Statins activate a mitochondria-operated pathway of apoptosis in breast tumor cells by a mechanism regulated by ErbB2 and dependent on the prenylation of proteins. *FEBS Lett.* 2008 Jul 23;582(17):2589–94.

73. Relja. Simvastatin inhibits cell growth and induces apoptosis and G0/G1 cell cycle arrest in hepatic cancer cells. *Int J Mol Med* [Internet]. 2010 Sep 21 [cited 2015 Aug 15];26(5). Available from: <http://www.spandidos-publications.com/ijmm/26/5/735>
74. Lee SJ, Ha MJ, Lee J, Nguyen P, Choi YH, Pirnia F, et al. Inhibition of the 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A Reductase Pathway Induces p53-independent Transcriptional Regulation of p21 WAF1/CIP1 in Human Prostate Carcinoma Cells. *J Biol Chem*. 1998 Apr 24;273(17):10618–23.
75. Pisanti S, Picardi P, Ciaglia E, D'Alessandro A, Bifulco M. Novel prospects of statins as therapeutic agents in cancer. *Pharmacol Res*. 2014 Oct;88:84–98.
76. Bardou M, Barkun A, Martel M. Effect of statin therapy on colorectal cancer. *Gut*. 2010 Jan 11;59(11):1572–85.
77. MS_1990_5_426.pdf [Internet]. [cited 2015 Aug 15]. Available from: http://ipubli-inserm.inist.fr/bitstream/handle/10608/4164/MS_1990_5_426.pdf
78. Urbich C, Dernbach E, Zeiher AM, Dimmeler S. Double-Edged Role of Statins in Angiogenesis Signaling. *Circ Res*. 2002 May 4;90(6):737–44.
79. Kureishi Y, Luo Z, Shiojima I, Bialik A, Fulton D, Lefer DJ, et al. The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin activates the protein kinase Akt and promotes angiogenesis in normocholesterolemic animals. *Nat Med*. 2000 Sep;6(9):1004–10.
80. Weis M, Heeschen C, Glassford AJ, Cooke JP. Statins Have Biphasic Effects on Angiogenesis. *Circulation*. 2002 Dec 2;105(6):739–45.
81. Denoyelle C, Vasse M, Körner M, Mishal Z, Ganné F, Vannier J-P, et al. Cerivastatin, an inhibitor of HMG-CoA reductase, inhibits the signaling pathways involved in the invasiveness and metastatic properties of highly invasive breast cancer cell lines: an in vitro study. *Carcinogenesis*. 2001 Jan 8;22(8):1139–48.
82. Hughes CS, Postovit LM, Lajoie GA. Matrigel: a complex protein mixture required for optimal growth of cell culture. *Proteomics*. 2010 May;10(9):1886–90.
83. Allal C, Favre G, Couderc B, Salicio S, Sixou S, Hamilton AD, et al. RhoA Prenylation Is Required for Promotion of Cell Growth and Transformation and Cytoskeleton Organization but Not for Induction of Serum Response Element Transcription. *J Biol Chem*. 2000 Jun 10;275(40):31001–8.
84. Al-Haidari AA, Syk I, Thorlacius H. HMG-CoA reductase regulates CCL17-induced colon cancer cell migration via geranylgeranylation and RhoA activation. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014 Mar 28;446(1):68–72.
85. Lee J, Lee I, Park C, Kang WK. Lovastatin-induced RhoA modulation and its effect on senescence in prostate cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006 Jan 20;339(3):748–54.

86. Microsoft Word - nubel.doc - fj.03-0261fje.full.pdf [Internet]. Available from: <http://www.fasebj.org/content/early/2004/01/13/fj.03-0261fje.full.pdf>
87. Gauthaman K, Fong C-Y, Bongso A. Statins, stem cells, and cancer. *J Cell Biochem.* 2009 Apr 15;106(6):975–83.
88. Chan KKW, Oza AM, Siu LL. The Statins as Anticancer Agents. *Clin Cancer Res.* 2003 Jan 1;9(1):10–9.
89. Hindler K, Cleeland CS, Rivera E, Collard CD. The Role of Statins in Cancer Therapy. *The Oncologist.* 2006 Jan 3;11(3):306–15.
90. Osmak M. Statins and cancer: Current and future prospects. *Cancer Lett.* 2012 Nov 1;324(1):1–12.
91. Corcos L, Le Jossic-Corcos C. Statins: Perspectives in cancer therapeutics. *Dig Liver Dis.* 2013 Oct;45(10):795–802.

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

TORRIS Benoît

Effets multiples des statines : développement du diabète et activité antitumorale.

TH.D. Pharmacie : Bordeaux/2015 ; N° 105

Résumé

Les statines sont des inhibiteurs de l'Hydroxy-MéthylGlutaryl Coenzyme-A (HMG-CoA) réductase. Ils permettent la diminution de la sécrétion de cholestérol en agissant sur une des premières étapes de la synthèse.

Actuellement, en France, six statines sont commercialisées : l'atorvastatine, la fluvastatine, la pravastatine, la rosuvastatine, la simvastatine et la lovastatine (cette dernière est disponible sous forme de levure de riz rouge). Elles ont démontré leur efficacité en prévention d'évènements cardiovasculaires primaires et secondaires. Cependant, il se trouve que les statines exercent des effets multiples via leur mécanisme d'action.

En effet, certaines statines entraînent le développement de diabète chez des personnes à risques. Cet effet se fait via une diminution de la sécrétion d'insuline mais aussi par une insulino-résistance due à la diminution de métabolites formés lors de la synthèse du cholestérol : les isoprénoides et plus particulièrement le GéranylGéranylPyroPhosphate (GGPP).

À l'heure actuelle, cet effet indésirable ne fait pas pencher la balance bénéfique/risque en défaveur de l'utilisation des statines. Les recommandations sont donc la surveillance glycémique chez les personnes à risques et la poursuite de la prise de statines.

La diminution de la production d'isoprénoides (non seulement de GGPP mais aussi de FarnésylPyroPhosphate : FPP) donne cependant aux statines une propriété intéressante : une activité antitumorale. Cette activité antitumorale se fait en augmentant l'apoptose des cellules cancéreuses, en inhibant la migration cellulaire, en modulant l'angiogénèse et en provoquant l'arrêt du cycle cellulaire.

L'utilisation des statines semble prometteuse en association avec les chimiothérapies existantes mais des études supplémentaires sont nécessaires avant toute utilisation chez l'être humain dans cette indication.

Multiple effects of statins: development of diabetes and antitumoral activity

Mots clés

Statines, diabète, cancer, GGPP, FPP, Rho, Ras

Keywords

Statins, diabete mellitus, cancer, GGPP, FPP, Rho, Ras

U.F.R. des Sciences Pharmaceutiques

Université de Bordeaux

146 rue Léo Saignat

33 076 Bordeaux