



LES DIABETES GLUCIDIQUES : apport du laboratoire dans le diagnostic et le suivi

Editorial

Les diabètes glucidiques sont des affections mondialement répandues, de prévalence importante et en constante augmentation : des 135 millions d'adultes diabétiques estimés en 1995, nous passerons probablement la barre des 300 millions en 2025.

Les diabètes glucidiques sont définis comme des désordres métaboliques d'étiologies diverses caractérisés par la présence d'une hyperglycémie chronique. La carence en insuline, qui accompagne la destruction des cellules β des îlots de Langerhans du pancréas, caractérise les diabètes de type 1 ; les diabètes de type 2 sont liés à des désordres du fonctionnement de l'insuline.

Les diabètes de type 2 sont les plus fréquents : plus de 80 % des diabètes, et ceux dont l'augmentation de l'incidence est la plus rapide. Cette augmentation est variable en fonction des pays et en relation avec l'évolution du mode et du niveau de vie. En France métropolitaine, la prévalence qui était de 2,1 % dans la population adulte, soit 1,5 millions de personnes en 1995, est évaluée à 2,6 % en 2025. La prévalence augmente rapidement chez les enfants entre 10 et 19 ans dans certains pays, passant rapidement de 2 à 4 % des diabètes à plus de 15 %.

Les diabètes de type 1, qui représentent plus de 80 % des diabètes du sujet jeune, sont eux aussi en augmentation sans que des causes claires puissent être incriminées. L'incidence en France, pour les enfants de moins de 15 ans, est de $8/10^5$; elle passerait à 13,7 en 2010. En Europe, la prévalence est plus importante au nord (Finlande : 42,9 ; Suède : 24,9) qu'au sud (Espagne : 12,3 ; Italie : 8,4), avec une exception pour la Sardaigne : 36,6.

Critères diagnostiques

Le diagnostic de diabète repose sur la mise en évidence d'une hyperglycémie chronique. Le seuil au delà duquel la glycémie est anormalement élevée et la façon de la déterminer au cours de l'épreuve dynamique d'hyperglycémie provoquée *per os* (HGPO) restent le sujet de controverses. Les deux organismes qui proposent de définir le diabète sont l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et l'*American Diabetes Association* (ADA).

Avant 1999 pour l'OMS, le diabète était défini par une glycémie à jeun (G0) supérieure à 1,40 g/l (7,8 mmol/l) ou une glycémie à un moment quelconque de la journée supérieure à 2g/l (11,1 mmol/l), lorsque le patient présentait les signes cliniques typiques (polyurie, polydypsie, amaigrissement). En l'absence de ces signes cliniques, la réalisation de l'HGPO, standardisée à 75 g de glucose pour l'adulte, permettait de poser le diagnostic pour une G0 supérieure à 1,40 g/l et une glycémie à 2 heures (G2h) supérieure à 2 g/l. Elle permettait également de définir l'intolérance au glucose (IGT) pour une G2h comprise entre 1,4 et 2 g/l.



En 1997, l'ADA a proposé de nouveaux critères de diagnostic et de dépistage ainsi qu'une nouvelle classification. La principale modification est l'abaissement de la G0 définissant le diabète qui passe de 1,40 à 1,26 g/l (7,0 mmol/l), contrôlée deux fois en l'absence de signes cliniques. Les patients dont la G0 est supérieure à 1,10 g/l (6,11 mmol/l) et inférieure à 1,26 g/l (donc non diabétiques) et dont la G2h est inconnue sont inclus dans une nouvelle catégorie : *impaired fasting glucose* (IFG) ou hyperglycémie à jeun.

Cette classification permet à l'ADA de s'affranchir de l'HGPO, considérée comme de réalisation difficile, peu adaptée aux études de population et de reproductibilité moins bonne pour la G2h que pour la G0.

En 1999, l'OMS reprend ses critères diagnostiques et complète ceux de l'ADA en tenant compte des résultats de l'HGPO.

Nouveaux critères de diagnostic du diabète sucré (ADA 1997/OMS 1999)

Symptômes cliniques de diabète (polyurie, polydypsie, perte de poids inexplicée) associés à :					
Glycémie ≥ 2 g/l à tout moment de la journée (sans considération de délai écoulé après le repas)					
ou					
Glycémie à jeun $\geq 1,26$ g/l soit 7,00 mmol/l (jeûne : absence de prise alimentaire calorique depuis au moins 8 heures)					
ou					
Glycémie ≥ 2 g/l soit 11,1 mmol/l à la deuxième heure d'une HGPO (dans les conditions définies par l'OMS : 75 g de glucose dissous dans 250 ml d'eau).					
Au cours d'une HGPO					
Temps	Valeurs normales	Impaired Fasting Glucose	Intolérance au Glucose	Diabète sucré	Unités
T0	< 1,10 (< 6,1)	$\geq 1,10 < 1,26$ ($\geq 6,1 < 7$)		$\geq 1,26$ (≥ 7)	g/l mmol/l
T+120	< 1,40 (< 7,8)	?	$\geq 1,40 < 2,0$ ($\geq 7,8 < 11,1$)	$\geq 2,0$ ($\geq 11,1$)	g/l mmol/l

Classification

Jusqu'en 1980-1985, l'OMS distinguait deux principaux types de diabète : le diabète insulino-dépendant (DID) et le diabète non insulino-dépendant (DNID) qui sont désormais abandonnés au profit d'une classification ne tenant plus compte du traitement mais de l'étiologie.

Selon la nouvelle terminologie, le diabète de type 1 est défini par la destruction des cellules β des îlots de Langerhans d'origine auto-immune ou inconnue (diabètes idiopathiques). Les diabètes liés à la destruction des cellules β d'origine connue ne font pas partie des diabètes de type 1.

Le diabète de type 2 est défini par la présence d'une insulino-résistance et éventuellement d'une insulino-pénie relative, associées de façon variable. Le diabète gestationnel est un diabète découvert au cours de la grossesse.

Diabète type 1

- défini par la destruction des cellules β des îlots de Langerhans (acidocétose en l'absence de traitement) ;
- type 1 auto-immun (90 %) ;
- type 1 idiopathique ;
- exclus du type 1 : diabètes résultant d'une destruction des cellules β d'origine connue (mucoviscidose...).

Diabète gestationnel

- défini comme un diabète découvert pendant la grossesse et spontanément résolutif au décours de celle-ci.

Diabète de type 2

- composante du syndrome d'insulino-résistance ;
- \pm associé à une insulino-pénie relative ;
- syndrome d'insulino-résistance (X ou syndrome métabolique) :
 - . désordre glucidique (IGT ou diabète 2) ;
 - . obésité androïde ;
 - . anomalies lipidiques (\uparrow TG, \uparrow VLDL, \downarrow HDL, \uparrow LDL...) ;
 - . HTA ;
 - . troubles de la fibrinolyse (\downarrow fibrinolyse, \uparrow PAI-1) ;
 - . hyperuricémie, albuminurie ;
 - . hépatopathie « métabolique » (stéatose).



Autres types de diabète

- Défaut de fonctionnement de la cellule β d'origine génétique (monogénique) :

- . mutation du gène HNF-4 α (MODY* 1) ;
- . mutation du gène de la glucokinase (MODY 2) ;
- . mutation du gène HNF-1 α (MODY 3) ;
- . mutation du gène IPF-1 (MODY 4) ;
- . mutation du gène HNF-1 α (MODY 5) ;
- . mutation du gène NEUROD 1 (MODY 6) ;
- . mutation de l'ADN mitochondrial (MODY 7) ;
- . Autres.

- Défaut d'activité de l'insuline d'origine génétique :

- . insulino-résistance de type A ;
- . lepréchaunisme ;
- . syndrome de Rabson-Medenhall ;
- . diabète lipoatrophique ;
- . autres.

- Maladies du pancréas exocrine :

- . pancréatite ;
- . pancréatectomie/traumatisme ;
- . cancer ;
- . mucoviscidose ;
- . hémochromatose ;
- . fibrose et calculs pancréatiques ;
- . autres.

- Endocrinopathies :

- . acromégalie ;
- . syndrome de Cushing ;
- . glucagonome ;
- . phéochromocytome ;
- . hyperthyroïdie ;
- . somatostatine ;
- . hyperaldostéronémie ;
- . autres.

- Diabètes induits par médicaments :

- . acide nicotinique ;
- . pentamidine ;
- . glucocorticoïdes ;
- . hormones thyroïdiennes ;
- . diazoxide ;
- . agonistes β -adrénergiques ;
- . thiazidiques ;
- . phénytoïne ;
- . interféron ;
- . autres.

- Diabètes d'origine infectieuse :

- . rubéole congénitale ;
- . infection à cytomégalovirus ;
- . autres.

- Formes rares d'origine auto-immune :

- . *stiff-man syndrome* ;
- . Ac anti-récepteur à l'insuline ;
- . autres.

- Autres syndromes d'origine génétique parfois associés au diabète :

- . trisomie 21 ;
- . syndrome de Klinefelter ;
- . syndrome de Turner ;

- . syndrome de Wolfram ;
- . ataxie de Friedreich ;
- . chorée de Huntington ;
- . syndrome de Lawrence Moon Beidel ;
- . dystrophie myotonique ;
- . porphyrie ;
- . syndrome de Prader-Willi ;
- . autres.

Diabète de type 1

Les diabètes de type 1 sont dans l'immense majorité des cas d'origine auto-immune. Il s'agit d'une insulite : infiltrat lymphocytaire CD4 CD8, majoritairement CD8 cytotoxiques, entraînant l'apoptose des cellules β des îlots de Langerhans. Ce processus est long, évolue à bas bruit pendant les années précédant le début de l'affection.

Les auto-anticorps retrouvés sont des témoins du processus auto-immun mais ne possèdent aucun rôle pathogène prouvé.

Génétique

Si moins de 15 % des nouveaux cas de diabète de type 1 surviennent dans des familles de diabétiques, l'existence d'une composante familiale est clairement établie : le risque de développer un diabète pour un membre de la famille d'un diabétique est de 6 à 7 %, alors qu'il est de 0,4 % dans la population générale. Ce risque relativement bas s'explique par la multiplicité des gènes en cause et par le rôle de facteurs d'environnement. Ainsi, le risque pour le jumeau monozygote d'un sujet atteint n'est-il que de 50-70 %, avec un suivi à long terme.

De nombreux gènes de prédisposition sont candidats, parmi lesquels le locus du complexe majeur d'histocompatibilité est de loin le plus incriminé. Ainsi, dans une fratrie d'un sujet diabétique, le risque de développer l'affection est de 1,8 % pour des HLA différents, de 5 % s'ils sont semi-identiques et de 16 % pour les HLA identiques.

Les haplotypes de prédisposition concernent des spécificités HLA de classe II : ces associations sont en effet beaucoup plus fortes que celles qui ont été initialement décrites avec les antigènes HLA de classe I : A1, B8, B18 et B15. Deux principaux haplotypes de prédisposition sont décrits :

DRB1*03-DQA1*0501-DQB1*0201

DRB1*04-DQA1*0301-DQB1*0302

Ils sont présents dans 80 à 95 % des cas. Le risque le plus important est associé à la combinaison hétérozygote DR3/DR4, plus synergique que les homozygoties DR3/DR3 et DR4/DR4.

A l'inverse des gènes de prédisposition, il a été montré que certains haplotypes confèrent une protection quasi-absolue, y-compris chez les sujets DR3-DQB1*0201 ou DR4-DQB1*0302. C'est le cas de l'haplotype DRB1*1501-DQA1*0102-DQB1*0602. Cet haplotype protège notamment de l'évolution vers la destruction auto-immune des cellules β , les apparentés présentant des auto-anticorps anti-îlots.



Auto-anticorps

Même s'ils ne semblent pas intervenir dans la pathogénie de la maladie, leur présence est un marqueur diagnostique précieux, y-compris au cours de la période asymptomatique, alors que l'auto-immunité cellulaire de l'insulite n'est pas accessible à l'analyse.

Ce sont :

- les auto-anticorps anti-îlots de Langerhans = ICA (*Islet cell antibodies*) ;
- les auto-anticorps anti-acide glutamique décarboxylase = anti-GAD ;
- les auto-anticorps anti-*insulinoma associated protein 2* = anti-IA2 ou ICA 512 et anticorps anti-phogrine ;
- les auto-anticorps anti-insuline.

- ICA

Ils sont recherchés par immunofluorescence indirecte (IFI) sur coupe à congélation de pancréas de primate. Leur sensibilité au début de l'affection est de 60 à 70% mais ils disparaissent dans les semaines ou mois qui suivent la déclaration de la pathologie. Quand il est licite de l'utiliser, le substrat humain (groupe O) est supérieur en sensibilité au substrat de singe.

La reproductibilité de la technique est médiocre ; de nombreux auto-antigènes sont reconnus. Des efforts de standardisation internationale sont menés par la JDF (*Juvenile Diabetes Foundation*).

Chez les sujets apparentés, on trouve 10 % de positifs, le titre étant en relation avec le risque de développer un diabète. L'interprétation de leur recherche gagne en discrimination, lorsqu'elle est associée à celle des autres auto-anticorps.

- Anticorps anti-GAD

Ils sont recherchés par technique radio-isotopique (immuno-précipitation en phase liquide). L'auto-antigène est l'isoforme 65 kD de la décarboxylase de l'acide glutamique (GAD 65), présent dans les cellules β et le système nerveux central.

L'isoforme 67 kD, présent dans le système nerveux périphérique, peut-être reconnu par des auto-anticorps différents, du fait d'épitopes non partagés avec la GAD 65.

Cependant, leur homologie de structure est responsable de croisements antigéniques.

Ces auto-anticorps anti-GAD 67 sont rencontrés au cours du syndrome paranéoplasique de l'homme raide (*stiff-man syndrome*).

Leur sensibilité est de 90 % ; ils apparaissent précocement et sont de bons marqueurs pour le dépistage des sujets à risque, surtout en association avec les ICA. Cependant, leur valeur prédictive d'évolution vers le diabète est médiocre.

- Anticorps anti-IA2

Ils sont également recherchés par technique radio-isotopique (immuno-précipitation en phase liquide). L'auto-antigène est une protéine trans-membranaire de la famille des tyrosines phosphatases (PTP), située dans

les tissus neuro-endocriniens. La phogrine, quant à elle, présente 80 % d'homologie avec l'IA2 et sa localisation est la même.

Leur prévalence est nettement inférieure à celle des anticorps anti-GAD mais leur présence est considérée comme un marqueur d'évolution rapide vers le diabète : valeur prédictive positive de 75 à 100 % sur les cinq ans à venir dans les populations à risque. Les anti-IA2 seraient ainsi des marqueurs plus spécifiques de la destruction des cellules β que les anti-GAD.

- Anticorps anti-insuline

Ils sont recherchés par des techniques radio-immunologiques, plus étroitement corrélées à la clinique que les dosages immuno-enzymatiques. A la différence des anti-GAD et des anti-IA2, les anticorps anti-insuline ne sont pas visibles en IFI.

Les anticorps sont dirigés contre la chaîne B de l'insuline, lorsqu'ils sont les marqueurs auto-immuns du diabète. En revanche, ils reconnaissent des épitopes de la région A ou un épitope présent sur les chaînes A et B simultanément, en cas d'insulinothérapie.

Les anticorps de nature auto-immune sont rencontrés chez 30 à 40 % des sujets récemment diagnostiqués et ce, avant toute insulinothérapie. Leur taux varie de façon inversement proportionnelle à l'âge et lorsqu'il est élevé chez de jeunes enfants, il pourrait refléter une plus grande vitesse de destruction des cellules β . Leur prévalence reste plus faible que celle des autres auto-anticorps ; leur valeur prédictive est modeste mais leur association à un fort taux d'ICA indique un risque supplémentaire d'évolution vers le diabète.

La destruction des cellules β peut évoluer à bas bruit pendant des années. Elle n'est pas linéaire. Une accélération finale justifie une insulinothérapie en urgence, pour préserver le capital insulino-sécrétoire. Les auto-anticorps sont le reflet de l'insulite, cependant il n'existe pas de traitement préventif : leur intérêt réside dans la surveillance rapprochée et la mise en route de l'insulinothérapie dès que nécessaire.

100 % des apparentés anti-GAD positifs et présentant une glycémie à jeun supérieure à 1,10g/l à plusieurs reprises déclarent un diabète dans l'année.

Diabète de type 2

Le diabète de type 2 est un diabète où la perte de contrôle de la glycémie est souvent associée à l'obésité, avec prédominance familiale.

L'hyperglycémie est la conséquence de deux anomalies interdépendantes : une perturbation de l'insulino-sécrétion (anomalie fonctionnelle de la cellule β) et une insulino-résistance : insensibilité relative des tissus à l'insuline sécrétée qui entraîne une augmentation de la production de glucose et une diminution de son utilisation au niveau des tissus musculaires et adipeux.



Facteurs étiologiques

Le diabète de type 2 est une affection génétiquement transmise comme en témoigne la concordance quasi-absolue de son apparition chez des jumeaux monozygotes.

Le risque de devenir diabétique est de 30 % si un parent est atteint, et de 50 % si les deux parents le sont. La maladie est polygénique et nécessite des circonstances favorisantes telles que le mode de vie et l'obésité.

Plus de 90 % des diabètes de type 2 sont attribuables au mode de vie : sédentarité et habitudes alimentaires. La prédisposition se révèle lors du passage d'une alimentation traditionnelle à une alimentation riche en graisse et en sucres rapides. L'obésité est un des facteurs de risque modifiables du diabète de type 2 ; dans ce cas aussi, la composante génétique est déterminante.

Le risque de diabète et de maladies cardio-vasculaires augmente principalement en cas de répartition androïde de la masse grasse. La prévalence de l'obésité est parfaitement superposable à celle du diabète. Dans les pays développés, les modifications des habitudes alimentaires et la plus grande sédentarité des adolescents et des adultes jeunes rendent compte de l'augmentation de la prévalence de l'obésité et de l'abaissement de l'âge de découverte du diabète de type 2.

Le diabète gestationnel reste une entité à part entière qui doit être différenciée de la grossesse de la femme diabétique. Il est défini comme un trouble de la tolérance au glucose, de sévérité variable, survenant ou diagnostiqué pour la première fois au cours de la grossesse. Les femmes ayant présenté ce type de diabète sont à risque de développer une hypertension artérielle, une pré-éclampsie, par la suite un diabète le plus souvent de type 2. L'enfant présente quant à lui un important risque de macrosomie (dans plus de 30 % des cas) et des complications non négligeables à la naissance (hypoglycémie, hypocalcémie, polyglobulie...).

Les risques d'obésité sont également supérieurs à la normale : 50 % des enfants présentent à la naissance un poids supérieur au percentile 90 et parmi eux, 50 % développeront une obésité avant l'âge de huit ans ainsi qu'une intolérance au glucose.

Prenant en compte ces différents facteurs de risque, l'OMS préconise un dépistage systématique du diabète dans les cas suivants :

- descendants de patient atteint de diabète de type 2, dès l'âge de 30 à 35 ans ;
- obésité ;
- hypertension artérielle ou dyslipoprotéïnémie ;
- antécédents de diabète gestationnel ou d'enfant de poids de naissance supérieur à 4 kg ;
- antécédents d'intolérance au glucose ou d'hyperglycémie modérée à jeun ;
- tout sujet de plus de 45 ans (une fois tous les 3 ans, si tous les résultats sont normaux).

Suivi biologique des diabètes

Les principaux examens utiles, dans le contexte du diabète, en dehors de la glycémie, sont :

- le dosage de l'insuline ;
- le dosage du peptide C ;
- les tests de stimulation (HGPO...) ;
- le dosage de l'hémoglobine glyquée ;
- le dosage des fructosamines.

Insuline et peptide C

- Insuline

L'insuline est sécrétée par les cellules β des îlots de Langerhans sous forme de pro-insuline, polypeptide formé de deux chaînes A et B, reliées par un peptide de connexion, le peptide C. Un clivage enzymatique libère l'insuline et le peptide C en **quantités équimolaires**.

C'est la seule hormone hypoglycémisante. Sa réponse sécrétoire est rapide, dans les secondes qui suivent le stimulus glycémique, et, inversement, aussi rapide à s'annuler à l'arrêt de ce stimulus. Elle pénètre dans ses cellules cibles, principalement musculaires et du tissu adipeux, par des récepteurs spécifiques. Dans la cellule, elle favorise l'utilisation du glucose par activation de la glycolyse. Captée à 50 % au niveau hépatique, l'insuline inhibe la néoglycogénèse et favorise la lipogénèse aux dépens des glucides et de l'anabolisme protéique. Elle est dégradée par le foie, et ce cycle entéro-hépatique lui confère une demi-vie très courte dans le sérum d'environ 4 minutes. La mesure de sa concentration plasmatique ne reflète donc qu'une faible partie de sa sécrétion, ce qui donne toute sa valeur au dosage du peptide C.

- Peptide C

Le peptide C ne possède aucune activité biologique. Il ne subit pas de captation hépatique, sa demi-vie est d'environ 15 minutes, il est totalement éliminé par le rein : la mesure de ses concentrations sérique ou urinaire est donc le meilleur reflet de l'insulino-sécrétion.

Chez les patients insulino-traités, son dosage ne reflète toujours que l'insulino-sécrétion résiduelle ; puisqu'il est éliminé des préparations thérapeutiques, il n'interfère pas avec les dosages.



Mesure de l'insulino-sécrétion

Elle est indiquée pour :

- la mise en évidence d'un défaut de sécrétion de la cellule β et l'orientation vers un diabète de type 1 ;
- l'exploration de l'insulino-sécrétion résiduelle : caractérisation de l'insulino-dépendance et décision du passage à l'insulinothérapie du diabète de type 2 ;
- l'exploration du degré d'insulino-résistance.

Un dosage unique de l'insuline ou du peptide C est peu contributif. Il doit toujours être effectué conjointement à la glycémie ou dans le cadre d'une épreuve de stimulation, dont les plus utilisés sont l'hyperglycémie provoquée et le test au glucagon.

Epreuves de stimulation

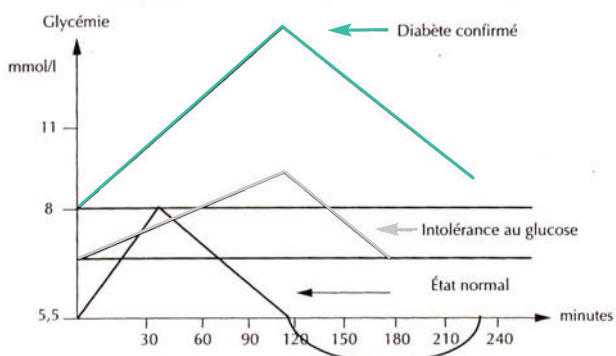
- Hyperglycémie provoquée *per os* (HGPO)

Définies par l'OMS, les conditions sont parfaitement standardisées :

- un apport normoglycémique au cours des trois jours précédents ;
- un arrêt du traitement médicamenteux interférent, si possible ;
- un jeûne de 12 heures.

Une solution de 75 g de glucose dans 250 ml d'eau est absorbée en moins de 5 mn.

Différents prélèvements successifs sont pratiqués : à T0, T+30, T+60, T+90 et T+120 mn, pour dosages de la glycémie, du peptide C et de l'insuline.



La partie ascendante de la courbe montre une augmentation progressive de la glycémie, par absorption intestinale et diffusion passive. C'est l'insuline qui en limite l'amplitude, située chez le sujet sain autour de 8 mmol/l en 30 à 60 mn. La partie descendante correspond à l'utilisation du glucose par les tissus périphériques ; le retour au taux de base s'effectue en 120 mn. Chez le diabétique, l'absence ou l'inefficacité de l'insuline empêchent la limitation de la flèche de l'hyperglycémie et le glucose peut atteindre des valeurs de 12 mmol/l. La faible action périphérique de l'insuline entraîne un retour au taux de base en 3, voire 4 heures.

Ces courbes permettent de déterminer des états intermédiaires, autrefois dits "pré-diabétiques", à présent appelés "intolérance au glucose", au cours desquels la courbe est décalée vers la droite, du fait de l'efficacité de l'insuline, plus faible que la normale. Cet état d'intolérance au sucre peut être caractérisé par les deux points : T0 et 120 mn.

- Test de O'Sullivan

Adaptée et standardisée par O'Sullivan, cette forme particulière d'HGPO est utilisée exclusivement pour le diagnostic du diabète gestationnel. Il s'adresse aux femmes enceintes, entre le 6^{ème} et le 7^{ème} mois, ou à n'importe quel moment de la grossesse, en cas de facteur de risque (glycosurie, obésité...).

Il s'effectue en deux temps :

- Test de dépistage : absorption d'une solution de 50 g de glucose dans 250 ml d'eau en moins de 5 mn et prélèvement 60 mn après. Une glycémie supérieure à 1,40 g/l impose le test de confirmation ;
- Test de confirmation : absorption d'une solution de 100 g de glucose dans 250 ml d'eau en moins de 5 mn, prélèvements à T0, T+60, T+120 et T+180 mn. Le diabète gestationnel est confirmé lorsque deux valeurs au moins excèdent les valeurs seuils (cf tableau).

INTERPRETATION

Temps de prélèvement	Dépistage par charge orale avec 50 g de glucose	
	Valeurs seuils (g/l)	Valeurs seuils (mmol/l)
T 0	-	-
T + 60 mn	1,40	7,8
T + 120 mn	-	-
T + 180 mn	-	-

Temps de prélèvement	Diagnostic par charge orale avec 100 g de glucose	
	Valeurs seuils (g/l)	Valeurs seuils (mmol/l)
T 0	1,05	5,8
T + 60 mn	1,9	10,5
T + 120 mn	1,65	9,2
T + 180 mn	1,45	8,1

- Test au glucagon

Il est destiné à apprécier l'insulino-sécrétion, principalement résiduelle chez le sujet diabétique. Il consiste à injecter 1 mg de glucagon par voie intramusculaire ou intraveineuse lente et à effectuer à T0 et T + 10 mn des dosages de peptide C. Si l'insulinosécrétion est normale, le taux de peptide C augmente de 50 % par rapport à son taux de base.



Protéines glyquées

- Hémoglobine glyquée (HbA1c)

Le glucose se fixe à toutes les protéines sur leurs fonctions amines, par une liaison céto-amine, selon un processus non enzymatique qui constitue la glycation. Il s'oppose à la glycosylation (fixation enzymatique de sucres sur les protéines) d'où l'abandon du terme d'Hb glycosylée au profit d'Hb glyquée. L'intensité de la glycation dépend du niveau de la glycémie, de la durée de vie de la protéine, de sa structure et de son accessibilité. La concentration de protéines ayant subi ce mécanisme de glycation reflète donc l'équilibre glycémique et ses variations, constituant une sorte de "mémoire glycémique".

La protéine la plus utilisée est l'hémoglobine, en raison de ses faibles variations intra-individuelles et de sa durée de vie importante : 120 jours. Le glucose se fixe à l'extrémité N-terminale des chaînes β , en en modifiant les caractéristiques physico-chimiques, dont le pH iso-électrique, ce qui permet la séparation et le dosage de l'HbA1c. Les techniques de dosage doivent reconnaître

spécifiquement l'HbA1 glyquée, à l'exclusion des autres hémoglobines, normales ou non (A2, F, S, C...).

Il existe de nombreuses techniques commercialisées : électrophorèses, chromatographies parmi lesquelles l'HPLC qui est la méthode de référence, techniques immunologiques. Il n'existe pas de vraie standardisation mais des recommandations émises par les sociétés savantes (National Glycohemoglobin Standardisation Program (NGSP), Diabete Control and Complication Trial (DCCT)) reprises récemment par l'Afssaps, (Agence française de sécurité sanitaire des produits de Santé) encouragent l'emploi de certaines d'entre elles.

Les items retenus par l'Afssaps sont les suivants :

- l'intitulé et l'intérêt clinique du dosage (HbA1c pour le suivi du diabète) ;
- l'exactitude ;
- la répétabilité (< 3 %) ;
- la reproductibilité (< 5 %) ;
- les interférences spécifiques de l'HbA1c (variants de l'hémoglobine) ;
- les intervalles de références (doivent être conformes à la standardisation et aux recommandations).

Les réactifs suivants répondent à la majorité de ces items

Nom du réactif	FABRICANT/ DISTRIBUTEUR
ABX Diagnostics HbA1cWB	ABX DIAGNOSTIC
DCA 2000Kit réactif HbA1c	BAYER
RA et ope RA HbA1C	BAYER
Glycomat DS5	BAYER
Glycomat 745/G15	BAYER
Dia STAT	BIO RAD
Variant HbA1c test	BIO RAD
Variant II HbA1c	BIO RAD
Dimension HA1C	DADE BEHRING
Set de réactifs HA 8121	MENARINI
Set de réactifs HA 8140	MENARINI
Set de réactifs HA 8160 mode diabète	MENARINI
Set de réactifs HA 8160 mode diabète et thalassémie	MENARINI
TSK dgel glyco Hsi variant	TOSOH BIOSCIENCES
TSK gel G7 Hsi variant	TOSOH BIOSCIENCES
HYDRAGEL 7 et 15 HbA1c	SEBIA

Le contrôle glycémique par l'HbA1c doit être effectué tous les 3 à 4 mois. C'est le seul paramètre qui offre un reflet fiable de l'équilibre glycémique et il constitue un index validé pour prédire la survenue ou la progression des complications. Le pourcentage d'Hb glyquée est directement proportionnel à la glycémie moyenne.

HEMOGLOBINE GLYQUEE : eq. GLYCEMIQUE

Glycémie moyenne g/l	HbA1c %
1,2	6
1,5	7
1,8	8
Pour chaque augmentation de 0,3	Augmentation de 1

Les objectifs du sujet diabétique se traduisent en objectifs d'hémoglobine glyquée :

- < 6,5 % : objectif optimal ;
- < 8 % sur deux contrôles successifs :
 - . équilibre acceptable,
 - . modifications thérapeutiques envisageables, en évaluant le rapport avantages / inconvénients.
- > 8 % sur deux contrôles successifs :
 - . mauvais équilibre glycémique,
 - . modifications de traitement recommandées.

Dans le cas particulier des sujets âgés, les objectifs sont moins stricts, pour tenir compte des risques d'hypoglycémie liés au traitement et à l'existence d'une éventuelle insuffisance rénale. Une certaine prudence d'interprétation s'impose dans les pathologies associées à une durée de vie diminuée des globules rouges (hémolyses chroniques - valvulopathies, thalassémies...).

Par ailleurs, certaines techniques ne permettent pas de doser de façon fiable l'Hb glyquée en présence d'une hémoglobine anormale. Les techniques séparatives permettent d'éviter cet écueil dans le cas d'Hbs ou Hbc hétérozygotes. Dans le cas, des sujets ne synthétisant pas d'HbA1 (homozygotes S, C..., doubles hétérozygotes S,C...), il est nécessaire de recourir au dosage des fructosamines.

- Fructosamines

Sous ce terme, sont regroupées toutes les protéines glyquées du sérum, à l'exception donc de l'hémoglobine. Il s'agit d'un ensemble très hétérogène d'éléments dissemblables et de demi-vies variables. Les fructosamines renseignent sur l'équilibre glycémique des deux à trois dernières semaines et servent donc à apprécier rapidement les résultats d'un changement thérapeutique, d'une décompensation métabolique et

d'un diabète instable. Elles sont recommandées pour le suivi de la femme enceinte.

Leur dosage se fait par colorimétrie, reposant sur les propriétés réductrices des protéines glyquées en milieu alcalin. La méthode est rapide et automatisable, mais elle est peu spécifique. Le strict respect des conditions analytiques recommandées par la SFBC (Société Française de Biologie Clinique) permet la transférabilité des dosages. Leur résultat doit toujours être interprété en fonction du taux des protéines totales puisqu'une hypoprotéïnémie vraie ou relative comme au cours de la grossesse, peut entraîner un résultat faussement bas.

Isabelle CUVELIER et François-Xavier HUCHET
Laboratoire Pasteur Cerba

Bibliographie disponible sur demande

Indications comparatives des dosages d'HbA1c et des fructosamines

	HbA1c	Fructosamines
Dépistage ou diagnostic	Non	Non
Surveillance régulière	Oui (reflet cumulatif sur trois mois)	Eventuellement si besoin de suivi plus rapproché (reflet cumulatif sur 20 jours)
Changement de traitement	Non (inertie trop grande)	Oui
Grossesse, diabète gestationnel	Non (inertie trop grande)	Oui
Altération du métabolisme des protéines, troublesthyroïdiens...	Oui	Non
Hémoglobines mutantes, thalassémies,	Oui et à interpréter avec prudence	Oui
Insuffisances rénales	Les deux sont à associer et à interpréter	avec prudence

Examens les plus fréquents dans le diagnostic et le suivi des patients diabétiques

Paramètre	Fréquence	Conditions préanalytiques		Interférences		Intérêt du dosage
		SANG		Analytique	Physiologique	
	T : trimestre A : annuel	A jeun	Type de tube			
Glycémie		X	avec antiglycolytique			Contrôle des lecteurs
HbA1c	T		EDTA	Méthode de dosage certifiée NGSP/IFCC (CV < 2 %)	- Anémie - Présence de variant d'Hb	Suivi de l'équilibre glycémique
Triglycérides*	A	X	Sec			Suivi des facteurs de risque cardiovasculaires
Cholestérol*	A	X	Sec			Suivi des facteurs de risque cardiovasculaires
HDL cholestérol* (LDL par calcul)	A	X	Sec	LDL non calculables si triglycérides > 4 mmol/l		Suivi des facteurs de risque cardiovasculaires
Créatinine	A		Sec ou héparine	possibles (ictère, hémolyse) selon la méthode de dosage		Dépistage des complications
Clairance de la créatinine	A			Formule de Cockcroft : $\frac{[140 - \text{âge(ans)}] \times \text{poids(kg)}}{0.814 \times \text{Créatininémie}(\mu\text{mol/l})}$	(chez la femme x 0,85)	Dépistage des complications
		URINE				
		Echantillon	24 h ou nuit			
Hématurie	A	X	X	Présence de sang		Si positif, protéinurie ininterprétable
Protéinurie	A	X	X	Présence de sang		Suivi
Microalbuminurie*,**	A	X	X		HTA, infection urinaire ou gynéco, décompensation du diabète, dyslipidémie majeure	Suivi

* si dyslipidémie et ou microalbuminurie présente : fréquence 2 à 3 fois par an

** microalbuminurie sur échantillon tous les ans, si positif, dosage sur urines de 24 heures

BASTARD J.P., FONFREDE M., HEURTIER A. -
BIOTribune magazine 2002 ; N°2 : p. 31.