

Cours IUT ABB2 Dr Bandelier

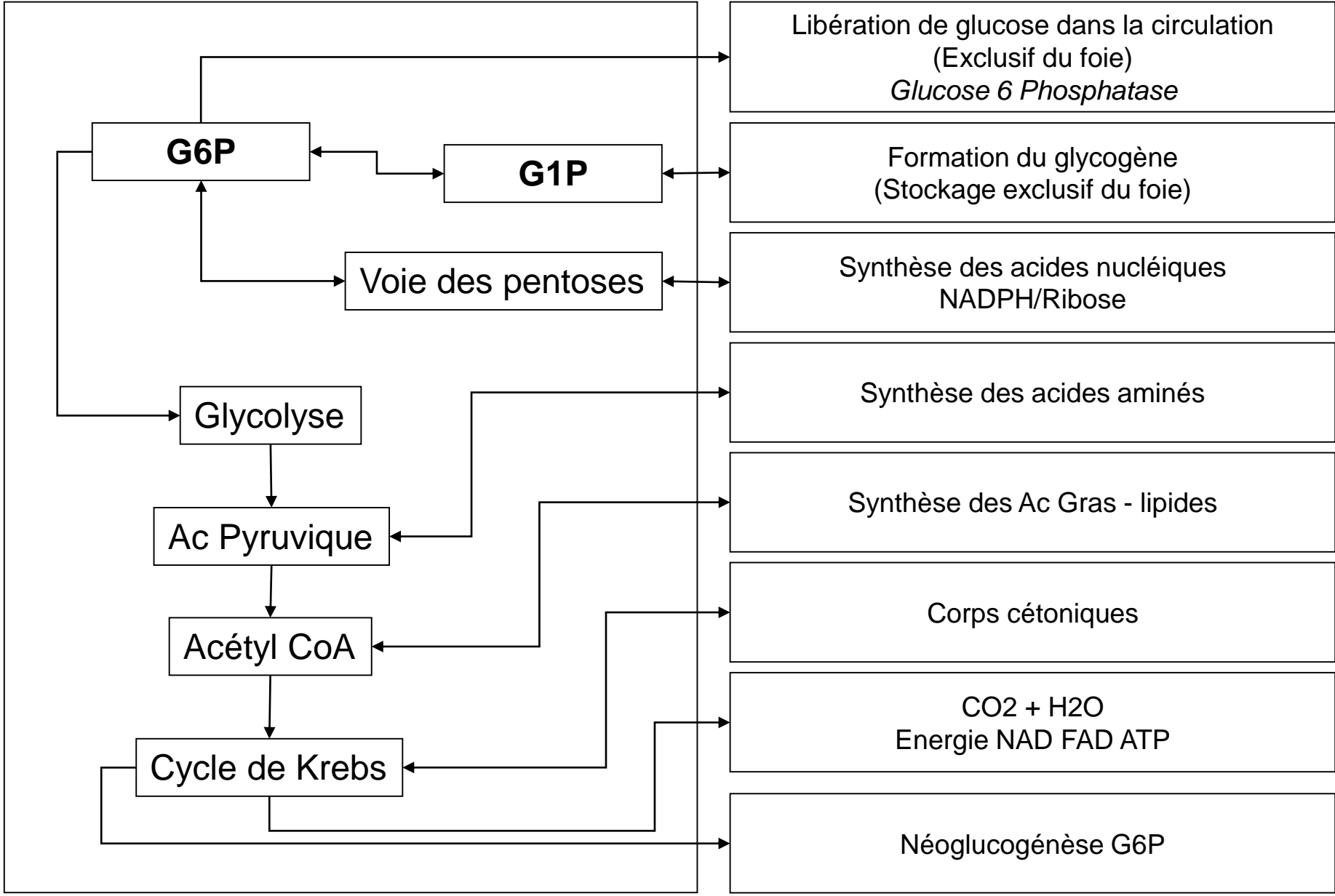


Biochimie médicale : Diabète

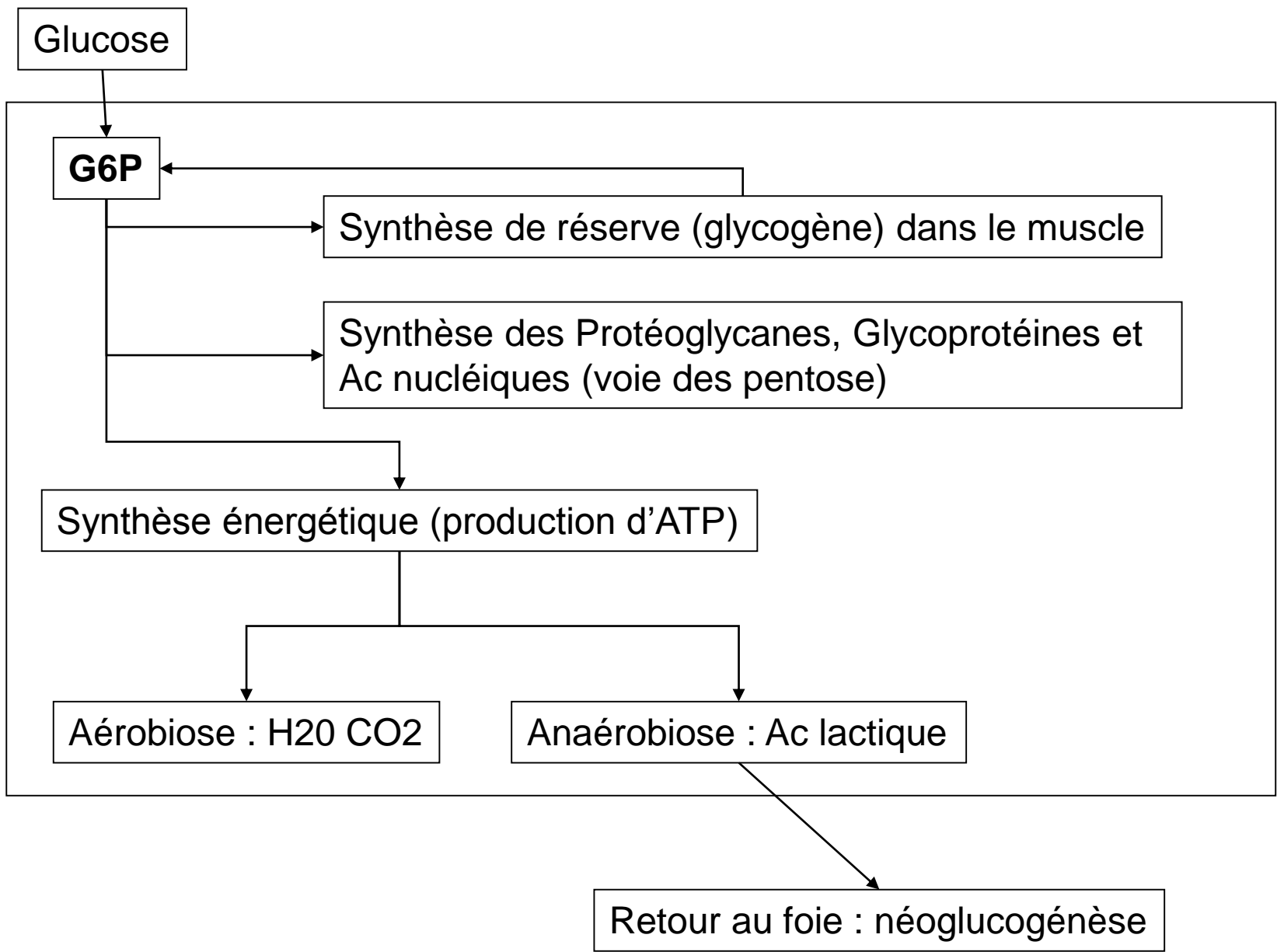
A. Métabolisme du glucose : Rappel

1. Les glucides occupent une place majeure dans le métabolisme énergétique en étroite collaboration avec les lipides, les protéines et les nucléotides.
2. Avec les lipides ils partagent le rôle de stockage énergétique sous la forme de polysaccharides.
3. Apportés normalement sous forme de complexes scindés en oses simples avant d'être absorbés au niveau intestinal (amidon, saccharose...)
4. Apportés au foie par la veine porte et transformé en G6P (glucose 6 phosphate) qui est à l'origine de nombreuses voies métaboliques.
5. Le foie est l'organe principal régulateur du métabolisme glucidique, il est le seul qui fasse sortir le glucose.

A. Métabolisme du glucose : voies du G6P

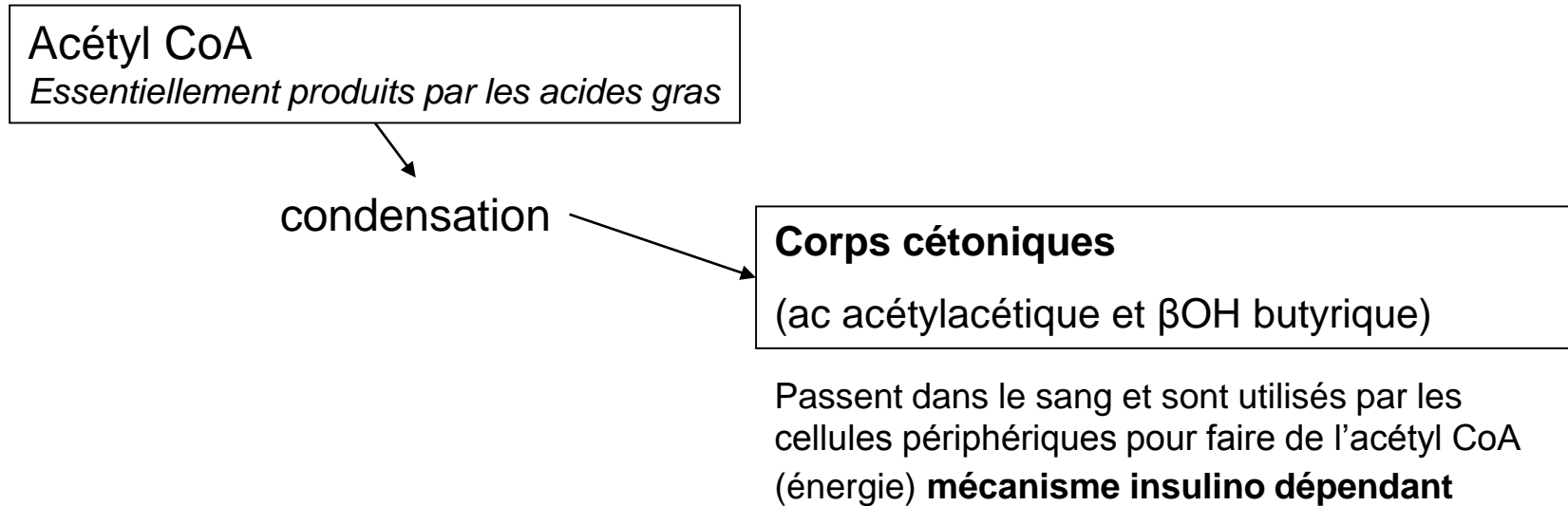


A. Métabolisme du glucose: cellules périphériques.



A. Métabolisme du glucose et cétogénèse

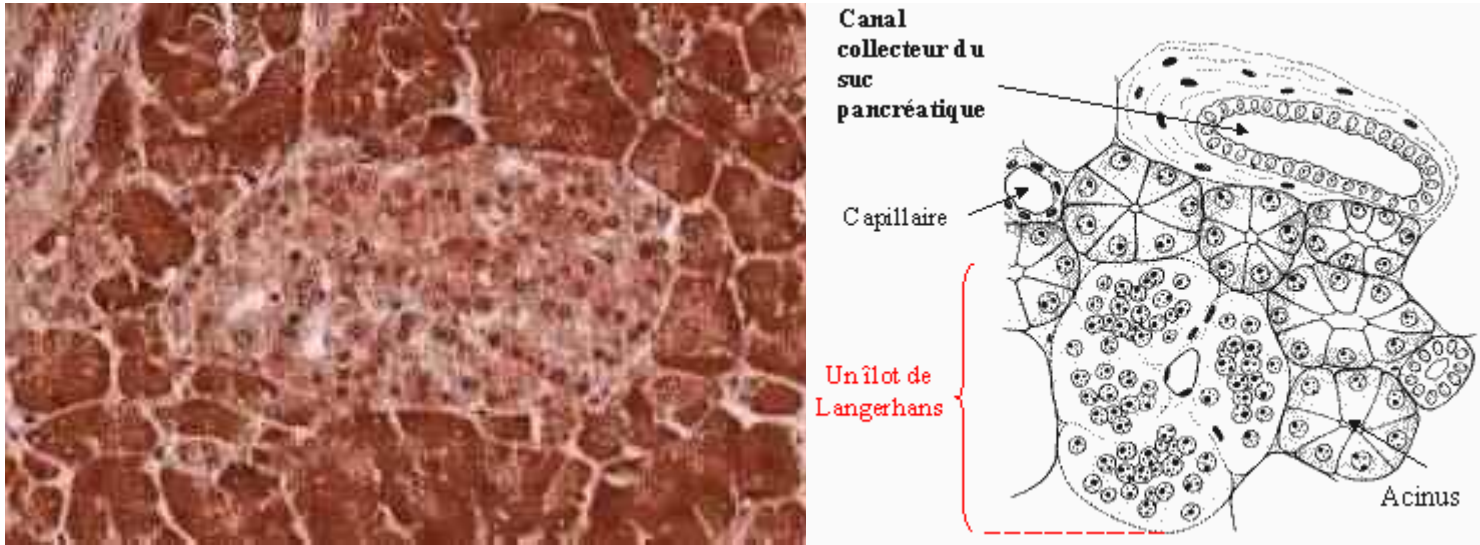
Voie mineure de dégradation de l'acétyl CoA uniquement hépatique



1. La cétonémie est normalement faible car les corps cétoniques inhibent la glycolyse et la lipolyse ce qui conduit à leur utilisation préférentielle.
2. Elle augmentera au cours du jeûne (utilisation des réserves d'ac gras).
3. Elle augmentera dans le déficit en insuline (diabète type 1) conduisant à la complication : acido cétose puis coma acido cétosique.

B. Régulation hormonale

L'équilibre glycémique est dépendant de très nombreuses hormones mais principalement, deux, d'origine pancréatique : Insuline et glucagon.



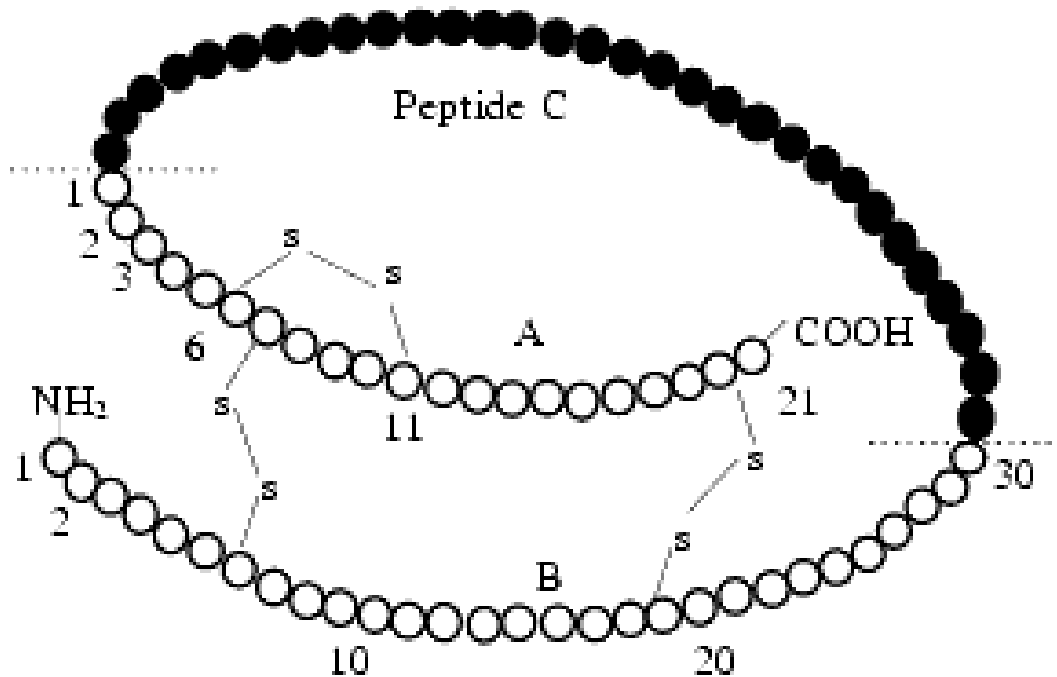
Ces deux hormones sont synthétisées par le pancréas endocrine (1% du poids du pancréas) au sein d'une structure histologique appelée îlots de Langerhans.

- Cellules α pour le glucagon
- Cellules β pour l'insuline

Le reste du tissu pancréatique est exocrine (lipase, amylase) participe aux sucs digestifs.

B. Régulation hormonale : Insuline

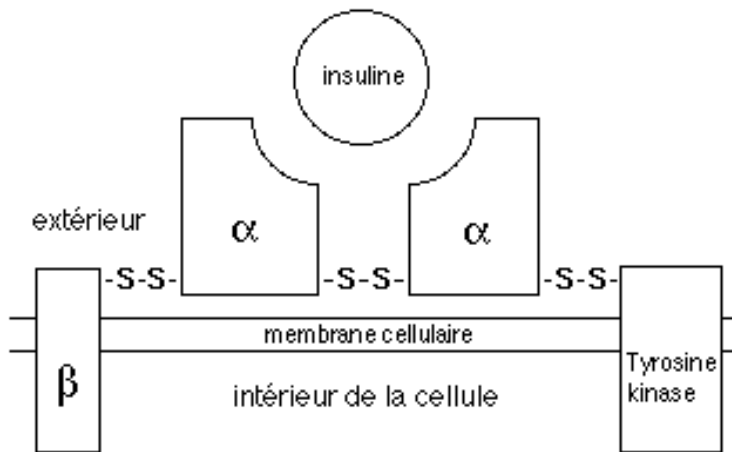
L'insuline fait partie d'un groupe de peptides appelés IGF (insuline like growth factor) ou somatomédines. Elle est sécrétée par la cellule β de Langerhans sous forme de proinsuline (PM 9000) rapidement scindée dans l'appareil de golgi, en Insuline PM 6000 et Peptide C (connexion).



- Deux chaînes polypeptidiques
- Chaîne A de 21 AA
- Chaîne B de 30 AA
- Reliées par deux ponts disulfure
- A7-B7
- A20-B19
- grande variabilité inter-espèce et pourtant structure tri dimensionnelle très proche

B. Régulation hormonale : Insuline : hypoglycémiante.

1. La sécrétion d'insuline est biphasique : mobilisation du stock en 1 minute puis légère diminution et sécrétion plus lente (synthèse) si le stimulus est conservé.
2. Les stimuli de synthèse sont très divers :
 - Le glucose principalement mais aussi les Ac Aminés, les Ac gras libres, les corps cétoniques.
 - Hormones : gastrine, hGH, glucocorticoïdes, oestrogènes, progestérone.
 - Neuromédiateurs : Adrénaline (cathécolamines sont inhibitrices).
3. Insuline, proinsuline et peptide C sont trouvés dans la circulation. La proinsuline reste cependant mineure sauf dans certains états pathologique où elle peut atteindre 20%. Le peptide C est éliminé dans l'urine.
4. La demi vie plasmatique de l'insuline est très courte : 5 minutes.
5. Le foie en utilise 50%
6. Le rein en utilise 40% : problème dans l'insuffisance rénale



Récepteur $\alpha\beta$ tyrosine kinase

Autophosphorylation intracellulaire

- Stimule la glycogénèse
- Inhibe la glycogénolyse
- Stimule la lipogénèse
- Inhibe la lipolyse
- Facilite l'incorporation des corps cétoniques
- Facilite l'incorporation des Ac Aminés
- Stimule la synthèse protéique, inhibe le catabolisme protidique.

B. Régulation hormonale : Glucagon : hyperglycémiant

1. Peptide de 29 AA
2. Synthétisé au niveau des cellules α des îlots de Langerhans en proglucagon.
3. Stimuli : Hypoglycémie
4. L'insuline inhibe la sécrétion de glucagon
5. Demi vie très courte : moins de 5 minutes, dégradé par le foie

Le récepteur du glucagon est le récepteur de l'adényl cyclase/protéine G/AMPC

- Inhibe la glycogénèse et stimule la glycogénolyse et la néoglucogénèse
- Inhibe la lipogénèse et stimule la lipolyse
- Stimule la cétoxygénèse
- Stimule la sécrétion d'insuline.

C. Physiopathologie : Diabète

1. Généralités

- 2 millions de diabétiques en France (3,5% de la population)
- Le terme de diabète recouvre deux maladies différentes
 - Le **diabète insulino-dépendant (type 1)** qui survient avant l'âge de 20 ans et représente 10 à 15% des diabètes
 - Le **diabète non-insulino-dépendant (type 2)** qui survient le plus souvent après l'âge de 50 ans et représente 85 à 95% des diabètes
- Le premier coût financier de la santé en raison des complications dégénératives
 - 10 % subiront une amputation
 - première cause de cécité
 - première cause de dialyse

Définition OMS du diabète

Glycémie supérieure à 1,26 g/l (7mmol/l) à jeun deux fois de suite

Ou

Glycémie supérieure à 2,00 g/l (11,1mmol/l) à n'importe quel moment de la journée

C. Physiopathologie : Diabète

2. clinique

Le syndrome cardinal est : Amaigrissement, asthénie, polyuropolydipsie et n'apparaît que lorsque la glycémie est supérieure à 3 g/l

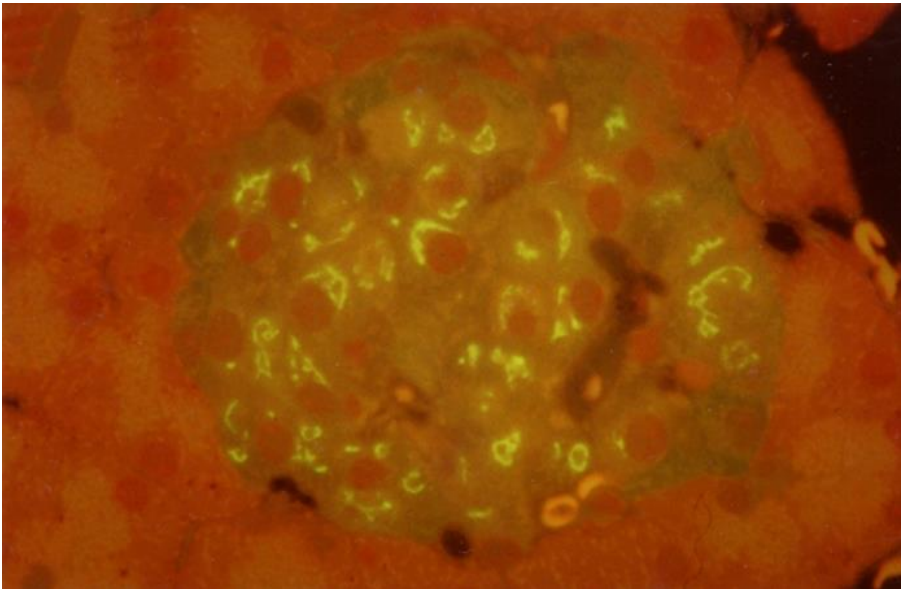
Diabète type 1	Diabète type 2
Début brutal	Découverte fortuite
Syndrome cardinal	Asymptomatique
Sujet mince	Sujet avec surpoids
Avant 20 ans	Après 40 ans
Pas d'hérédité familiale	Hérédité familiale
Cétonurie	HTA Hypertriglycémie

Outre ces deux types on décrit d'autres formes dans des affections pancréatiques, l'hémocromatose, formes iatrogènes, endocrinopathies....

C. Physiopathologie : Diabète

3. Diabète de type 1: DID

- Mécanisme auto immun, inflammation, destruction des cellules β des îlots de Langerhans, le diabète apparaît lorsqu'il ne reste plus que 20% de tissus.
- Terrain génétique prédisposant (système HLA DR3 et DR4, axe nord sud)
- Facteur déclenchant ? (virus?)
- **Présence d'anticorps anti-îlot de Langerhans**
- **Anticorps anti GAD (glutamate acide décarboxylase)**
- **Auto Anticorps anti insuline**
- **Anticorps anti IA2 (phosphatase membranaire cellule β)**

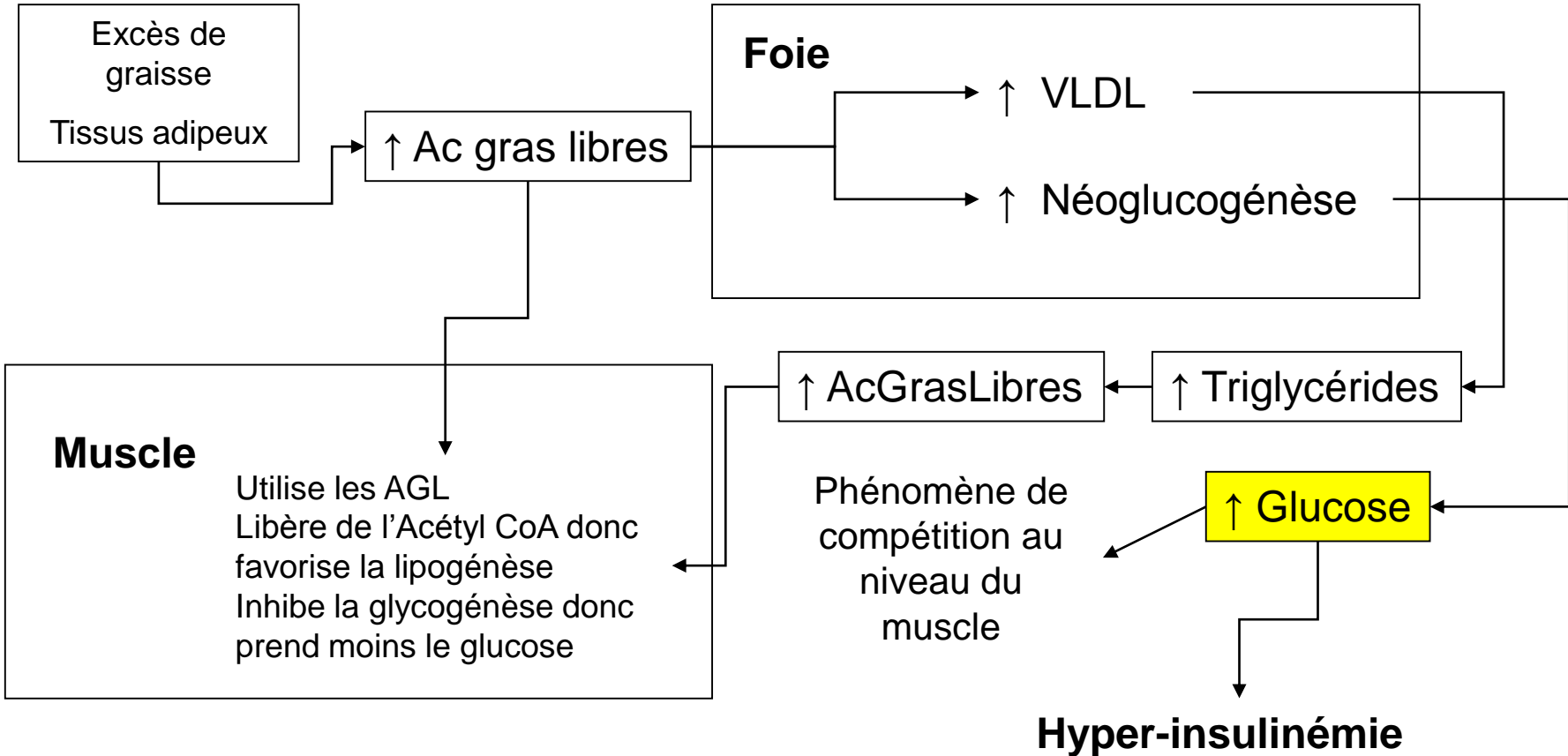


Immunofluorescence indirecte sur
coupe de pancréas
Anticorps anti-îlot de Langerhans

C. Physiopathologie : Diabète

4. Diabète de type 2 : DNID

- Dépend de plusieurs gènes de susceptibilité dans un environnement favorisant à savoir: alimentation trop riche en graisse et en sucre simple, sédentarité évoluant en 10 ou 20 ans vers l'insulino-déficience.
- l'insulino-déficience passe par un premier stade d'insulino-résistance provoquant un état d'hyper-insulinémie.



C. Physiopathologie : Diabète

4. Diabète de type 2 : Insulino-déficience

L'insulinorésistance décrite précédemment entraîne pendant 10 à 20 ans un hyperinsulinisme permettant pendant des années de maintenir la glycémie à jeun inférieure à 1.20 g/l. Puis l'insulinémie décroît progressivement en même temps que la glycémie à jeun dépasse 1.20 g/l. Cette insulinodéficience est d'abord relative puis devient absolue lorsque la glycémie à jeun dépasse 2 g/l.

Erreur d'interprétation concernant le diabète de type 2

- Ne prendre en compte que le rôle du tissu adipeux hypertrophié et oublier que le tissu musculaire est le siège principal de l'insulinorésistance.
- En conséquence, sous-estimer la place de l'activité physique dans la prévention et le traitement du DNID.
- Prescrire un régime hypoglycémique au lieu de prescrire une diététique normoglycémique mais hypolipidique limitant les graisses saturées.
- Restreindre le DNID à la glycémie en oubliant l'importance de l'hyperlipidémie et de l'hypertension artérielle, le plus souvent associées.

D. Biologie du diabète : outils du diagnostic, glycémie.

Définition OMS du diabète
Glycémie supérieure à 1,26 g/l (7mmol/l) à jeun deux fois de suite
Ou
Glycémie supérieure à 2,00 g/l (11,1mmol/l) à n'importe quel moment de la journée

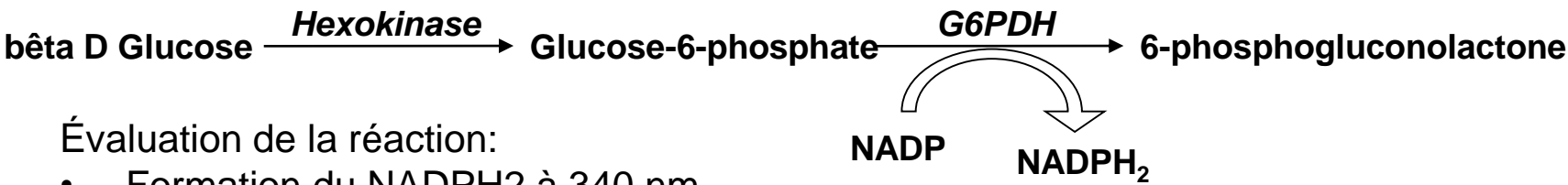
1. Techniques utilisant le système glucose oxydase (GOD) / peroxydase (90%)



Évaluation de la réaction:

- Consommation d'O₂ : mesure par électrode (Beckman)
- Mesure de la production d'H₂O₂ : réaction de Trinder aminophénazone/phénol

2. Techniques utilisant le système hexokinase (HK) / glucose 6 phosphate déshydrogénase (10 %)



Évaluation de la réaction:

- Formation du NADPH₂ à 340 nm

D. Biologie du diabète : dosage de l'insuline (libre) et peptide C

Variations pathologiques

1. Diabète de type I : Taux de base bas, avec glycémie élevée ; n'augmente pas au cours de l'HPO.
2. Diabète de type II : Taux de base normal ou élevé ; augmente peu au cours de l'HPO.
3. Insulinome : Taux normal ou peu élevé malgré une glycémie basse.
Augmente très fortement après injection de glucagon

Le dosage du peptide C reflète le potentiel du pancréas à sécréter l'insuline; Il permet d'avoir une estimation du taux d'insuline endogène(c'est-à-dire produite par l'organisme), même lors de l'administration d'insuline exogène (injections d'insuline) ou en cas de présence d'anticorps anti-insuline qui gênent le dosage de celle-ci.

Techniques de dosage : Les interférences principales résultent de la présence simultanée de proinsuline, d'insuline, d'insulinase (enzyme de dégradation de l'insuline) et d'anticorps polyclonaux anti-insuline dans le prédiabète et le diabète de type 1 et anti peptide C

- Actuellement les seuls dosages recommandés doivent utiliser des techniques avec des anticorps monoclonaux en sandwich. IRMA IEMA
- La technique de référence est l'HPLC couplée au spectro de masse.

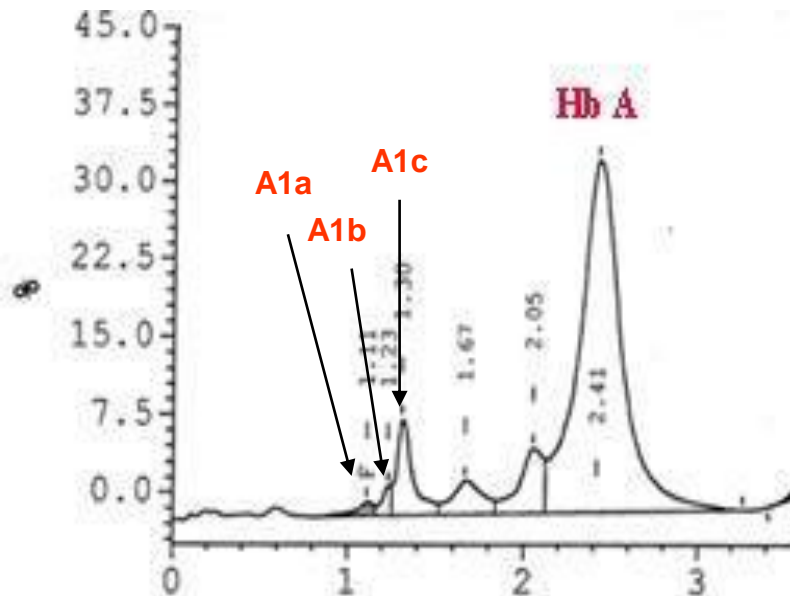
La phase préanalytique est prépondérante, blocage enzymatique, centrifugation à 4°C et congélation immédiate.

D. Biologie du diabète : Hémoglobines glyquées

1. Hémoglobine A2 $\alpha_2\delta_2$
2. Hémoglobine F $\alpha_2\gamma_2$
3. Hémoglobine A $\alpha_2\beta_2$ constituée d'une grande hétérogénéité structurale
Majeure HbA₀, mineures HbA₁ 4 à 8% de l'hémoglobine totale, correspondant à des formes glyquées.

La glycation de la chaîne d'hémoglobine est un processus de fixation non enzymatique d'oses simples sur des groupements d'acides aminés libre de la chaîne protidique, pour former une liaison cétonamine stable.

Ce phénomène est général et affecte l'ensemble des protéines de l'organisme (fructosamines), et directement proportionnel à la concentration en oses.



HPLC

L'HbA1 est composée de plusieurs fractions

- l'HbA1c est la fraction la plus importante (80% de l'HbA) soit environ 4 à 6% de l'Hb totale
- Glycation glucose-valine sur chacune des chaînes bêta de l'HbA1.

D. Biologie du diabète : Hémoglobines A1, techniques de dosages

1. Méthodes donnant spécifiquement l'HbA1c (recommandée)
 - Chromatographie échange d'ion sur résine échangeuse d'ions.
 - **Chromatographie HPLC sur microcolonne**
 - Technique d'électrophorèse
 - Dosage immunologique (Ac anti chaîne béta glucose-valine)
 - immunoturbidimétrique (Roche Unimat HbA1c)
 - immunoinhibition sur latex sensibilisé (Bayer)
 - elisa microplaque
2. Méthodes donnant l'ensemble des hémoglobines glyquées totales
 - techniques manuelles sur minicolonnes par élution différentielles (actuellement non recommandée)
 - technique par chromatographie d'affinité sur microcolonne après fixation d'un ligand (Abbott).

Valeurs normales pour HPLC/HbA1c (recommandée) 4 à 6% / Hb totale

American Diabetes Association

1. Diabète : > 6%
2. Rester en dessous de 7% caractérise un bon équilibre thérapeutique
3. Reconsidérer l'équilibre thérapeutique au dessus de 7%

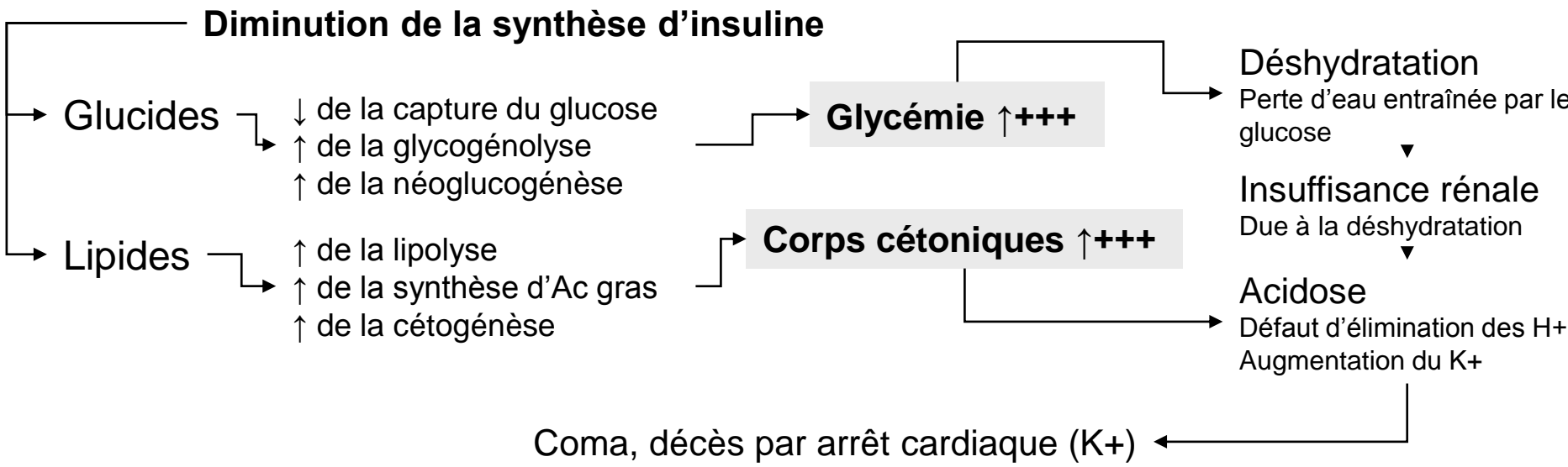
E. Cas clinique N° 1 : DID coma acido cétosique

Une jeune fille âgée de 14ans est admise en urgence pour coma. Sa mère explique qu'elle était en bonne santé il y a deux semaines lorsqu'elle a eu une angine avec un peu de fièvre. Depuis elle a perdu l'appétit. Quelques jours avant, elle s'est plainte d'avoir soif et de se lever la nuit pour aller uriner. Ce jour, elle a commencé à vomir, devenait somnolente puis c'est endormie sans pouvoir la réveiller. Son haleine est d'odeur fruitée, elle est manifestement déshydratée.

Biologie

- Glycémie : 35 mmol/l (VN < 6)**
- Bicarbonates : 5 mmol/l (VN 24-28)**
- Ph sanguin : 7.05 (VN 7.35-7.45)**
- Urée : 12 mmol/l (VN 3-9)**
- Créatinine : 160µmol/l (VN 60-132)**
- Potassium : 5.8 mmol/l (VN 3.5-5)**
- URINES : Glycosurie +++ Corps cétonique +++**

Cause: ne peut pas être parfaitement élucidée. C'est un DID diabète de type 1 résultant d'un conflit immunitaire avec susceptibilité génétique, vraisemblablement d'origine virale, ayant produit des ac anti îlots de langerhans, le virus ayant modifié l'antigénicité de surface des cellules bêta déclenchant une réaction auto-immune.



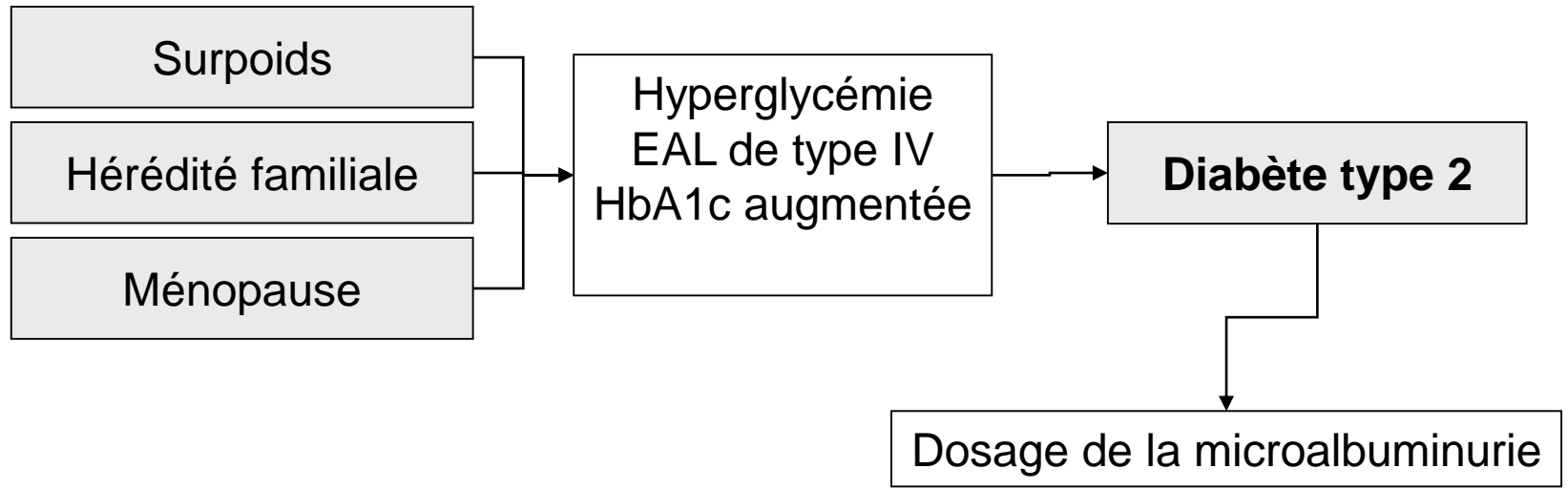
E. Cas clinique N° 2 : DNID Calcul de l'IMC = poids/taille²

Une femme de 53 ans consulte son généraliste, elle se plaint d'être fatiguée, légèrement dépressive. Elle n'a plus ses règles et à pris 8 kilos en 6 mois. A l'interrogatoire, sa mère est diabétique. Elle mesure 1.66m et pèse 72 kilos. IMC 26.13 et à une tension systolique à 16.2.

Biologie

- Glycémie : 8,90 mmol/l (VN < 6) 1.60 g/l
- HbA1c : 6,8% VN < 6%
- URINES : Glycosurie (-) Corps cétonique (-)
- Cholestérol total : 2.23 g/l
- Triglycérides : 2.35 g/l
- HDLcholestérol : 0.42 g/l
- LDLc : 1.32 g/l

	IMC
Maigreur	<18.5
Normal	18.5 – 24.9
Surpoids	25 – 29.9
Obésité	>30
Obésité massive	>40



E. Cas clinique N° 2 : Dosage de la microalbuminurie (paucialbuminurie).

Définition: excrétion urinaire d'albumine comprise entre 30 et 300 mg/24h00

Non détectée par la bandelette urinaire.

Physiopathologie: L'albumine, 69kDa, correspond exactement à la taille des fentes de l'épithélium glomérulaire. La quantité filtrée dépend de la tension artérielle, elle est réabsorbée (95%) au niveau du tubule.

Dans le diabète, l'hyperglycémie provoque une microangiopathie rénale, aboutissant à moyen ou long terme à une néphropathie évoluant vers l'insuffisance rénale, le premier signe est la présence d'albumine dans l'urine.

Cette microangiopathie est généralisée, vasculaire : risque d'amputation, rétine :risque de rétinopathie : cécité. La microalbumine est un marqueur de survenue des complications.

Technique de dosage : Immunonéphéломétrie, immunoturbidimétrie, immunoradiodosage.

TD. Exploration du diabète au laboratoire.

Cas clinique N°1 : Un adolescent de 14 ans est amené en consultation par ses parents qui s'inquiètent de le voir maigrir, malgré un appétit normal. Le jeune signale par ailleurs une soif plus importante que d'habitude ainsi que des mictions plus fréquentes.

Biologie:

Glycémie ; 2,7g/l 15mmol/l

Urines bandelette : protéines 0
 glucose +++
 corps cétoniques ++

1. Quel est le diagnostic ? Pourquoi ?
2. Quel sera le traitement ?
3. Quel sera le suivi biologique de ce patient ?
4. Méthodologie des techniques ?
5. Quels sont les objectifs?

Diabète insulino-dépendant ; insuline; glycémie au moins quatre fois par jour par système capillaire, hémoglobine HbA1c, glycosurie, corps cétoniques si glycémie > 2.50.
Les objectifs sont: éviter l'hyperglycémie et l'hypoglycémie, maintenir l'HbA1c entre 6 et 7%, renouveler la glycémie sanguine et l'HbA1c en laboratoire tous les trois mois.

TD. Exploration du diabète au laboratoire.

Cas clinique N°1 : Cet adolescent a un père présentant un diabète de type 2 et deux sœurs plus jeunes.

Quels examens biologiques peuvent être préconisés pour définir les sujets à risque de cette famille ?

Quels sont les risques en fonction des résultats?

Quel examen biologique doit être demandé chez ce patient régulièrement ?
Technique de dosage?

Génotypage HLA de classe II DR chez tous les membres de la famille
DR3/DR3 DR3/DR4 et DR4/DR4

Le père est trouvé DR3/DR3 la mère DR2/DR4 Patient DR3/DR4 et une sœur DR3/DR4

Auto anticorps anti GAD, anti IA2 anti insuline chez la sœur (si les trois sont positifs ; 96% de risque d'un DID)

Microalbuminurie pour prévenir l'apparition d'une microangiopathie rénale (30 à 300 mg/l)

TD. Exploration du diabète au laboratoire.

Cas clinique N°2 : Un homme de 50 ans consulte parce qu'il présente fréquemment des lésions cutanées eczématiformes longues à guérir.

87 kg, 1,73 m TA 16/9. alimentation hypercalorique, consommation d'alcool modérée., absence d'exercice physique.

Biologie:

Glycémie ; 1.44 g/l , 8mmol/l

Cholestérol : 2,4 g/l, Triglycérides : 3,7 g/l

Urines bandelette : protéines 0 glucose 0

Quel pathologie peut être envisagée ?

Quel examen biologique est t-il nécessaire d'effectuer pour confirmer le diagnostic?

Calculer l'IMC

La pathologie envisagée est le diabète de type 2 ; glycémie > à 1.26 , signes infectieux périphériques chroniques, surpoids

Le diagnostic ne peut être confirmé que sur un deuxième prélèvement au dessus de 1,26

IMC = 29 surpoids

TD. Exploration du diabète au laboratoire.

Cas clinique N°2 : Résultats obtenus sur un deuxième contrôle biologique

Biologie:

Glycémie ; 1.60 g/l , 8,9 mmol/l

Cholestérol : 2,2 g/l, Triglycérides : 3,8 g/l

HDLc 0.32 g/l

HbA1c 9%

1. Quel est le diagnostic ?
2. Quel type d'hyperlipémie est-il associé à ce diagnostic ?
3. Calculer le cholestérol LDL
4. Méthodologies analytiques de détermination de ces paramètres biologiques.

TD. Exploration du diabète au laboratoire.

Cas clinique N°3 : Une femme de 36 ans vient en consultation pour une troisième grossesse. Elle est enceinte de 12 semaines.

Notion de diabète de type 2 chez le père, deuxième enfant pesant 4.2 kg à la naissance.

Poids 70kg pour 1.65m

Le risque est le diabète gestationnel

Le diabète gestationnel est un trouble de la tolérance glucidique conduisant à une hyperglycémie de sévérité variable, débutant ou diagnostiqué pour la première fois pendant la grossesse, quels que soient le traitement nécessaire et l'évolution dans le post-partum (OMS).

Les stratégies en 1 temps sont basées sur la réalisation, dans la population cible, d'une HGPO après charge en glucose de 75 g.

Les stratégies en 2 temps sont basées sur la réalisation d'un test de dépistage (HGPO 50 g, dit « test de O'Sullivan ») sur la population cible, puis d'un test diagnostique (HGPO 100 g ou HGPO 75 g) qui confirme ou non le diagnostic de diabète gestationnel chez les femmes dépistées positives.

Une stratégie diagnostique en 1 temps pourrait réduire les désagréments liés à l'HGPO 100 g (nausées, vomissements, sensations de malaise) et/ou limiter le nombre de femmes qui dépistées positives ne réaliseraient pas le second test diagnostique.

TD. Exploration du diabète au laboratoire.

La population cible correspond à l'ensemble des femmes enceintes entre la 24^e et la 28^e semaine d'aménorrhée, à l'exception des femmes ayant des facteurs de risque de diabète gestationnel qui doivent bénéficier d'un dépistage dès le début de la grossesse.

Les **facteurs de risque** de diabète gestationnel sont :

- l'âge : seuil entre 25 et 40 ans selon les études et/ou les recommandations internationales ;
- l'indice de masse corporelle (IMC) maternel avant la grossesse (surpoids ou obésité) : seuil entre 25 et 30 kg/m² selon les études et/ou les recommandations internationales ;
- l'origine ethnique (les femmes d'origine caucasienne sont à plus faible risque) ;
- les antécédents familiaux de diabète ;
- les antécédents personnels de diabète gestationnel, de mort foetale *in utero* ou de macrosomie.

Recommandations françaises quant aux modalités de diagnostic.			
En début de grossesse		DG	DT2
GAJ seule	GAJ	≥ 0,92 g/l	≥ 1,26 g/l
24-28 SA		DG (≥1 critère)	DT2
Charge orale de 75 g de glucose	GAJ ou G1h ou G2h	≥ 0,92 g/l ≥ 1,80 g/l ≥ 1,53 g/l	≥ 1,26 g/l

