

FACULTE DE MEDECINE DE CONSTANTINE

LABORATOIRE DE BIOCHIMIE

***EXPLORATION DU METABOLISME DES  
GLUCIDES***

PAR DR N. KOUIDER

# Plan

## I/ INTRODUCTION

## II/ RAPPEL PHYSIOLOGIQUE

1/ ORIGINE EXOGENE

2/ ORIGINE ENDOGENE

3/ REGULATION

A/ REGULATION METABOLIQUE

B/ REGULATION HORMONALE

## III/ EXPLORATION DE LA GLYCOREGULATION

### A/ METHODES STATIQUES

1/ GLYCEMIE

2/ RECHERCHE DE GLUCOSE DANS L'URINE

### B/ EXPLORATION FONCTIONNELLE

1/ CONDITIONS OPERATOIRES

2/ EPREUVES SANS STIMULATION

3/ EPREUVES AVEC STIMULATION

4/ DOSAGES ET EPREUVES COMPLEMENTAIRES

5/ TESTS DE SURVEILLANCE DU DIABETE

6/ AUTRES EXAMENS

7/ SURVEILLANCE DES COMPLICATIONS DU DIABETE

## IV/ VARIATIONS PATHOLOGIQUES

A/ HYPERGLYCEMIES

B/ HYPOGLYCEMIES

## V/ DIAGNOSTIC DES SUCRES URINAIRES

## **EXPLORATION DU METABOLISME GLUCIDIQUE**

### **I/ INTRODUCTION**

Le glucose est un substrat énergétique essentiel. Les sources de glucose sont représentées par les glucides alimentaires et la production endogène (principalement hépatique), par glycogénolyse et néoglucogénèse. La glycémie représente la concentration sanguine du glucose. Sa stabilité est le reflet d'un équilibre dynamique entre les entrées du glucose dans le compartiment vasculaire et ses sorties hors de ce dernier. La glycémie est soumise à une régulation physiologique étroite : il est rare qu'elle s'abaisse en dessous de 0,50 g/l et qu'elle s'élève au-delà de 1,40 g/l chez le sujet sain, qu'il soit à jeun ou en période postprandiale. L'intégration des différentes voies métaboliques et de ce fait le contrôle de la glycémie, fait intervenir l'action coordonnée de nombreuses hormones : l'insuline et le groupe d'hormones de « contre-régulation », c'est-à-dire le glucagon, le cortisol, les catécholamines et l'hormone de croissance.

### **II/ RAPPEL PHYSIOLOGIQUE :**

#### **1/ Origine exogène :**

##### **a/ Digestion et absorption intestinale :**

Avant que les glucides ne prennent part au métabolisme, il faut qu'ils pénètrent dans l'organisme. Ceci se produit grâce à l'alimentation qui fournit essentiellement des produits qui vont libérer du glucose (à savoir l'amidon, le glycogène, le saccharose, le lactose) et en partie aussi le galactose et le fructose. Seuls les monosaccharides peuvent être absorbés dans l'intestin car il existe des mécanismes spécifiques de transport dans les cellules intestinales.

L'absorption du glucose est effectuée par un transporteur dépendant du sodium et fonctionnant de façon active secondairement. Le glucose est d'abord transporté conjointement au sodium dans l'entérocyte, sans utilisation d'ATP (de façon passive). Le transport commence par la liaison de deux ions  $\text{Na}^+$  au symport et une conformation d'ouverture côté extérieur ; la liaison de  $\text{Na}^+$  facilite la liaison d'une molécule de glucose. Avec ce chargement, la conformation du transporteur se modifie en conformation d'ouverture vers l'intérieur ; le transporteur libère les deux ions  $\text{Na}^+$  et le glucose, puis se replace en conformation d'ouverture vers l'extérieur. Ceci ne peut s'effectuer qu'à une condition : le sodium doit être expulsé de l'autre côté de la cellule (côté basal) de façon à maintenir un gradient de concentration. Cette expulsion a lieu de façon active grâce à l'ATPase,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase, qui utilise de l'ATP et explique la qualification active secondairement de l'absorption de glucose.

Ce sodium/ glucose transporteur (SGLT1) intestinal fonctionne d'une façon analogue à un autre transporteur SGLT2 rénal qui a aussi pour rôle d'absorber le glucose à partir du milieu extérieur vers l'intérieur de l'organisme (réabsorption tubulaire rénale).

**b/ Transport sanguin :**

Etant hydrosolubles, les oses se solubilisent aussi bien dans le sang après leur sortie des cellules intestinales et parviennent aux cellules cibles par voie sanguine.

La concentration sanguine de glucose ou glycémie à jeun varie dans les limites de 0,7 à 0,9 g/l.

**c/ Pénétration des oses dans les cellules :**

Arrivés au niveau des cellules, les oses doivent d'abord traverser la membrane cellulaire pour pénétrer dans le cytosol où se déroulent les réactions du métabolisme glucidique. La couche lipidique des membranes cellulaires n'est pas complètement imperméable au glucose, cependant elle constitue un certain obstacle à son passage. C'est pourquoi il existe des transporteurs spéciaux pour le glucose (GLUT), de nature protéique, qui transfèrent le glucose suivant un gradient de concentration à l'intérieur des cellules. Ce processus est désigné comme une diffusion facilitée : il implique que la concentration du glucose se maintienne à un niveau réduit dans la cellule afin que le glucose puisse constamment y pénétrer suivant le gradient de concentration.

Parmi les transporteurs de type GLUT, il y a ceux qui fonctionnent de façon permanente et ceux qui dépendent de la présence d'insuline.

Les **GLUT 1** et **GLUT3** permettent l'apport de glucose à de nombreux tissus, essentiellement le tissu cérébral et les érythrocytes qui dépendent exclusivement du glucose. Ces deux transporteurs fonctionnent de façon indépendante de l'insuline et ont une forte affinité pour le glucose.

Le **GLUT 2** se trouve dans la membrane des cellules hépatiques, pancréatiques et aussi sur la membrane baso-latérale des cellules intestinales (située du côté vasculaire des cellules de la muqueuse) ; là il transfère le glucose alimentaire des cellules vers le courant sanguin du système porte. Ce transporteur fonctionne également de façon indépendante de l'insuline mais a une faible affinité pour le glucose.

Le **GLUT4** se trouve dans les adipocytes et les cellules musculaires. Il est stocké dans des vésicules situées dans le cytosol. Lorsque la concentration de glucose est élevée dans le sang, le taux d'insuline augmente. L'insuline induit la translocation des vésicules contenant le GLUT4 vers la membrane cellulaire où le transporteur devient fonctionnel. Le GLUT4 est donc insulino-dépendant. Ainsi, la haute concentration sanguine de glucose après un repas peut alors diminuer et le glucose se transformer en glycogène (dans le muscle squelettique) ou en triglycéride (dans le tissu adipeux).

**2/ Origine endogène :****a/ A partir des glucides :**

Le glycogène représente la forme de réserve glucidique de toute cellule animale. Chez l'homme, le foie est l'organe dont la teneur en glycogène peut être la plus élevée (10 à 12% du poids frais) mais les muscles (1 à 3% du poids frais) renferment grâce à leur masse, la moitié du glycogène total de l'organisme.

La glycogénolyse est le processus par lequel le glycogène est décomposé dans la cellule : cette dégradation peut se poursuivre par la glycolyse ou bien le glucose est libéré pour passer dans la

circulation sanguine. Le premier cas intéresse tous les tissus alors que le second est limité au foie seulement.

### **b/ A partir des lipides et des protides (néoglucogenèse) :**

Plusieurs circonstances peuvent contraindre la cellule animale à synthétiser du glucose : le jeun glucidique, un catabolisme protéique excessif, ou encore un travail musculaire intense générateur d'un excès d'acide lactique. Les composés glucoformateurs sont donc l'acide lactique, l'acide pyruvique, les acides aminés glucoformateurs et les lipides (essentiellement par le glycérol). Leur catabolisme excessif aboutit à une formation de glucose et de glycogène.

Le foie assure à lui seul 90% de la néoglucogenèse dans l'organisme (le rein intervenant pour 10%). La néoglucogenèse peut fournir jusqu'à 300 g de glucose par jour.

### **3/ Régulation :**

#### **A/ Régulation métabolique :**

Pour coordonner les processus de dégradation et de synthèse des nombreuses substances qui existent dans nos cellules, une régulation rigoureuse est nécessaire. Le métabolisme est régulé à l'intérieur des cellules pour que les différentes voies réactionnelles soient coordonnées de façon optimale. Cette régulation s'effectue grâce à des effecteurs allostériques qui activent ou inhibent certains enzymes déterminés (enzymes-clés allostériques).

#### **B/ Régulation hormonale :**

La régulation du métabolisme énergétique est assurée par six hormones. Les deux plus importantes sont l'insuline et l'hormone antagoniste, le glucagon, qui maintiennent une glycémie constante (0,7 à 0,9g/l à jeun). Dans les situations de stress aigu, l'adrénaline augmente la glycémie. Les glucocorticoïdes, les hormones thyroïdiennes, et l'hormone de croissance sont responsables d'une régulation à long terme du métabolisme énergétique.

#### **a/ L'insuline :**

L'insuline est la seule hormone à diminuer la concentration sanguine du glucose, pour maintenir la glycémie constante entre 0,7 et 0,9 g/l. En outre c'est l'hormone anabolisante la plus importante, qui stimule toutes les voies de biosynthèse.

C'est une hormone peptidique produite par les cellules B des îlots de Langerhans du pancréas endocrine. Polypeptide de PM 5800, l'insuline est constituée de deux chaînes : la chaîne A (21 acides aminés) et la chaîne B (30 acides aminés) réunies par deux ponts disulfures qui relient les cystéines 7 et 20 de la chaîne A avec respectivement les cystéines 7 et 19 de la chaîne B. Un troisième pont disulfure se trouve à l'intérieur de la chaîne A.

La cellule B des îlots de Langerhans du pancréas fabrique en premier la pré-pro-insuline.

Cette protéine qui représente le produit de transcription du gène de l'insuline possède un peptide -signal. Cette séquence signal permet de diriger l'hormone vers le réticulum endoplasmique. Lorsque le peptide signal a rempli son rôle, il est détaché dans le réticulum endoplasmique par une endopeptidase. Dans le réticulum endoplasmique se constituent les

ponts disulfures, essentiels pour la fonction hormonale : c'est la pro-insuline. Celle-ci est ensuite dirigée vers l'appareil de Golgi où elle est stockée dans des vésicules jusqu'au moment de sa sécrétion. C'est seulement lors d'une élévation de la glycémie, que des peptidases coupent la séquence C à l'intérieur des vésicules et que les produits de dégradation (insuline et peptide C) sont déversés en quantité égale dans la circulation sanguine.

On distingue une sécrétion d'insuline de base et une sécrétion postprandiale. La sécrétion de base n'est guère influencée par des facteurs externes ; la sécrétion postprandiale est stimulée par :

- L'élévation de la glycémie (le glucose étant le stimulant fondamental)
- Une élévation de la concentration des acides gras, des acides aminés et des corps cétoniques dans le plasma sanguin.
- Les hormones gastro-intestinales, essentiellement le GIP (gastric inhibitory peptide) : son rôle principal est la stimulation de la libération d'insuline par le pancréas ; ainsi le glucose ingéré par voie orale entraîne une sécrétion plus forte d'insuline que s'il est administré par voie parentérale
- Au point de vue pharmacologique, les sulfamides hypoglycémisants et le glucagon sont insulinosécréteurs.

L'inhibition de la sécrétion d'insuline est provoquée par des hormones qui diminuent la concentration d'AMP cyclique dans les cellules B du pancréas :

- La somatostatine (inhibitrice de la croissance)
- L'adrénaline (par l'intermédiaire de récepteurs  $\alpha_1$  qui se trouvent en grand nombre sur la membrane plasmique des cellules B du pancréas).
- La noradrénaline (produite par une stimulation du système sympathique).

Une fois sécrétée et libérée, l'insuline circule de façon libre, non liée de façon significative aux protéines du plasma. Sa demi-vie biologique est d'environ cinq minutes. L'essentiel de la dégradation de l'insuline s'effectue dans le foie mais également dans le rein et le muscle.

Rôle de l'insuline :

- **Sur le métabolisme glucidique :**

- A court terme, l'effet principal est la baisse de la glycémie. Celle-ci est obtenue par :

Une augmentation de la capture du glucose : dans les cellules du tissu musculaire et du tissu adipeux, les transporteurs du glucose 4 (GLUT 4) subissent une translocation vers la membrane cellulaire à partir de leurs vésicules de stockage, sous l'effet de l'insuline. Dans le foie et le pancréas, le glucose est capté par un autre type de récepteur (GLUT 2) indépendant de l'insuline.

- A moyen terme, l'insuline :

- Stimule la synthèse de glucokinase qui permet l'augmentation de l'utilisation du glucose : la phosphorylation du glucose en G6P, sous l'action de la glucokinase et/ou de l'hexokinase est contrôlée par l'insuline qui active aussi l'enzyme clef de la glycolyse, la PFK responsable de la phosphorylation du F6Pen F1,6 biP.

- Elle favorise également la glycogénosynthèse en activant la glycogène synthétase et en inhibant en retour la glycogène phosphorylase.
- Elle inhibe fortement la néoglucogenèse par action sur la pyruvate carboxylase et la phosphoénolpyruvate carboxykinase.

Les effets sur le métabolisme du glycogène et sur la néoglucogenèse sont liés à une diminution de la concentration d'AMPc dans le foie.

- **Sur le métabolisme des lipides :**

Les lipides plasmatiques sont épurés grâce à l'action de la lipoprotéine lipase dont la synthèse tissulaire nécessite la présence d'insuline. D'autre part, l'insuline stimule la lipogenèse et inhibe la lipolyse.

- **Sur le métabolisme des protéines :**

Elle diminue le taux des acides aminés circulants en augmentant la captation cellulaire des acides aminés, en augmentant la synthèse protéique et en diminuant la protéolyse.

- **Insuline et potassium :**

L'insuline favorise l'entrée des ions potassium dans la cellule. C'est pourquoi en clinique on administre de l'insuline et du glucose en cas d'hyperkaliémie.

### **b/ Le glucagon :**

Le glucagon est produit par les cellules A des îlots de Langerhans du pancréas. C'est une hormone peptidique composée d'une seule chaîne de 29 acides aminés. Comme toutes les hormones peptidiques, il est synthétisé sous forme de pré-pro-glucagon.

Le glucagon a comme fonction de maintenir la glycémie au cours du jeûne. Pour cela, il :

- Provoque une glycogénolyse franche et massive par activation du système des phosphorylases
- Active la néoglucogenèse et la lipolyse
- Active puissamment la sécrétion insulinaire

Ainsi en stimulant la glycogénolyse et la néoglucogenèse dans le foie, le glucagon a des effets opposés à ceux de l'insuline.

La sécrétion du glucagon est stimulée par :

- Une diminution de la glycémie
- L'activation du système sympathique
- La somatotrophine ou hormone de croissance
- La diminution de la concentration d'acides gras libres.

La sécrétion du glucagon est inhibée par :

- Une augmentation de la glycémie

- La somatostatine
- L'insuline qui inhibe la sécrétion de son antagoniste
- L'élévation de la concentration plasmatique des acides gras libres

Dégradation du glucagon :

La demi-vie du glucagon est d'environ 5 minutes. La plus grande partie est dégradée par protéolyse dans le foie.

### **C/ l'adrénaline :**

L'adrénaline est sécrétée par les glandes médullosurrénales lors d'un stress aigu. Elle agit sur toute une série d'organes et de systèmes dans le but de répondre à une situation d'alarme. Les signes d'alarme peuvent être d'ordre psychique (peur, douleur) ou d'ordre physique (travail intense, froid, chaleur, hypoglycémie).

L'adrénaline active la glycogénolyse musculaire et hépatique et active la néoglucogénèse. Dans le tissu adipeux, la lipase est activée ce qui libère les acides gras énergétiques (lipolyse importante). D'autre part, l'adrénaline renforce la sécrétion du glucagon par l'intermédiaire de récepteurs  $\beta$ , grâce à une élévation de la concentration d'AMPc.

### **D/ Les glucocorticoïdes :**

Les glucocorticoïdes sont des stéroïdes sécrétés par les glandes corticosurrénales à partir du cholestérol. Un effet important des glucocorticoïdes est l'induction des enzymes –clés de la néoglucogénèse dans le foie. A la périphérie, il y a aussi induction d'enzymes permettant la dégradation de protéines et la libération d'acides gras dans la circulation sanguine, dans le but de faciliter la néoglucogénèse.

Effet sur la biosynthèse de l'adrénaline : les glucocorticoïdes augmentent la concentration des enzymes de la médullosurrénale responsable de la production d'adrénaline

Effet sur la glycémie : les glucocorticoïdes induisent dans le foie les enzymes –clés de la néoglucogénèse essentiellement la phosphoenolpyruvate carboxykinase et la glucose 6 phosphatase. Ces enzymes sont ensuite activés par les catécholamines ou le glucagon, ce qui entraîne une libération de glucose dans la circulation sanguine.

Effet sur le catabolisme des protéines : les acides aminés sont des substrats de la néoglucogénèse. Dans les tissus périphériques, les glucocorticoïdes favorisent la protéolyse et inhibent la biosynthèse des protéines.

Effet sur le catabolisme des lipides : les glucocorticoïdes facilitent l'effet lipolytique des catécholamines dans le tissu adipeux, ce qui conduit à une élévation de la concentration des acides gras libres dans le plasma sanguin.



**E/ L'hormone de croissance :**

Ou hormone somatotrophique ou GH (growth hormone) est une hormone protéique sécrétée par l'antéhypophyse. Elle a un effet antagoniste à celui de l'insuline. La néoglucogenèse est stimulée entraînant une hyperglycémie. Parallèlement, la lipolyse est augmentée et la liposynthèse est inhibée. Sur la synthèse protéique, elle a une action stimulatrice, ce qui est indispensable à la formation de nouveaux tissus.

**F/Hormones thyroïdiennes :**

Les hormones thyroïdiennes augmentent le métabolisme de base et la production de chaleur. Elles stimulent la néoglucogenèse, la glycogénolyse et la lipolyse.

**III/ EXPLORATION DE LA GLYCOREGULATION**

La glycémie représente la concentration sérique du glucose. C'est une des constantes biologiques fondamentales située entre 0,70 et 1,10 g/l dont la stabilité est le reflet d'un équilibre dynamique entre les entrées du glucose dans le compartiment vasculaire et ses sorties hors de ce dernier. De sa stabilité dépendent en particulier le fonctionnement du cerveau et certains troubles hydro électrolytiques.

**A/ Méthodes statiques :****1/ Glycémie :**

La détermination de la glycémie n'a de valeur que sous 3 conditions :

- ❖ La qualité du prélèvement
- ❖ La qualité de la technique
- ❖ La répétition de l'examen si nécessaire

**a/ Conditions de prélèvement :**

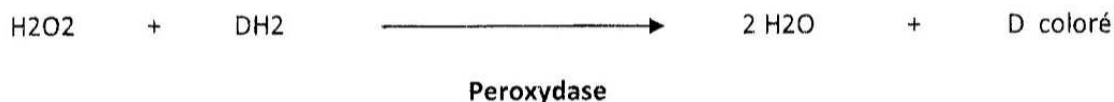
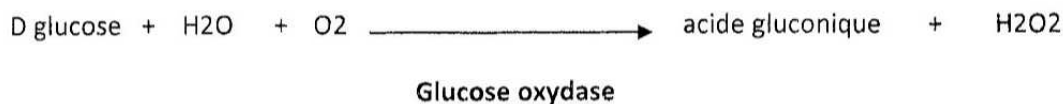
- Sujet strictement à jeun depuis au moins 8 heures
- Prélèvement de 5 ml de sang veineux dans un tube contenant un inhibiteur de la coagulation (oxalate de K) et un inhibiteur de la glycolyse (fluorure de Na). Cependant la glycémie peut être dosée aussi bien sur sang total hépariné (plasma) que sur tube sec (sérum). D'autre part la conservation de l'échantillon prélevé en l'absence d'agent inhibiteur de la glycolyse ne doit pas dépasser une heure.
- Mélanger immédiatement le sang par retournement, pour éviter de briser les globules rouges sensibles aux chocs. La glycémie étant identique de part et d'autre de la membrane érythrocytaire, un certain degré d'hémolyse ne gêne pas ; cependant une forte hémolyse pourrait être gênante pour le dosage.

**b/ Méthodes de dosage :**

Représentées essentiellement par les méthodes enzymatiques qui sont utilisées aussi bien dans le sang que dans l'urine ou le liquide céphalorachidien. A l'inverse des autres techniques qui utilisent le pouvoir réducteur des oses (méthodes réductométriques et furfuraliques) et par conséquent dosent

indistinctement le glucose et les autres hexoses éventuellement présents, les méthodes enzymatiques sont spécifiques au glucose. On distingue :

**Méthode à la glucose oxydase :** (préparée à partir de certaines bactéries)



DH<sub>2</sub> = chromogène réduit et incolore

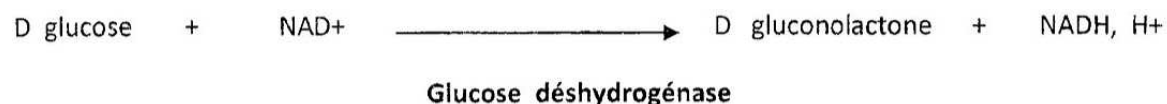
Plusieurs chromogènes sont utilisés : l'orthoanisidine, l'orthodianisidine, l'orthotoluidine, et la 4 amino-phénazone. Ce dernier chromogène donne les meilleurs résultats : c'est la méthode de TRINDER.

A l'aide d'un spectrophotomètre, on mesure l'intensité de la coloration (l'absorbance) à 525 nm.

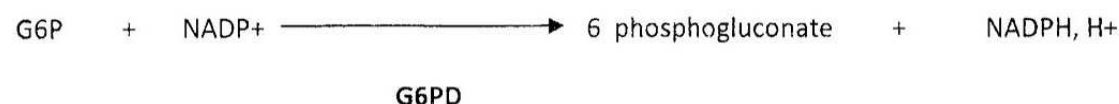
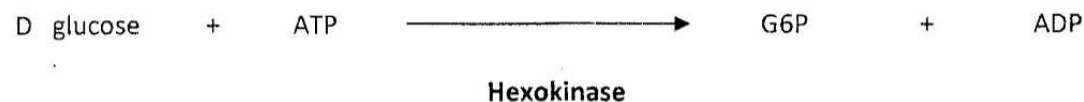
Cette méthode peut aussi être réalisée à l'aide de bandelettes réactives dont l'extrémité, imprégnée de réactifs, reçoit une goutte de sang. La variation de la coloration est appréciée soit visiblement à l'aide d'une échelle colorée, soit par un lecteur portable indépendant et elle permet d'estimer la valeur de la glycémie. Le prélèvement au bout du doigt permet donc de réaliser facilement l'autocontrôle glycémique qui reste important pour équilibrer la glycémie des diabétiques.

D'autres méthodes mettent en jeu des réactifs à base de coenzymes nicotiques comme indicateurs. C'est le cas de la :

**Méthode à la glucose déshydrogénase :**



**Méthode à l'hexokinase :**



On suit dans les deux cas à 340 nm, la cinétique d'apparition du coenzyme nicotinique réduit qui rend compte de la quantité de glucose présente dans l'échantillon.

La méthode à l'hexokinase est la méthode la plus spécifique, considérée comme méthode de référence.

**Valeurs normales :**

La zone de normalité est comprise entre 0,70 et 1,10 g/l de 10 à 60 ans

Elle est de : - moins 20 % de 1 mois à 4 ans

- moins 5% à moins 10 % de 4 à 10 ans

- plus se 10 % après 60 ans

Au cours de la grossesse : elle doit être inférieure à 0,92 g/l

**2/ Recherche de glucose dans l'urine :**

Elle s'effectue par une méthode enzymatique : sous l'influence de la glucose oxydase, le glucose est oxydé en acide gluconique avec formation d'eau oxygénée. En présence de peroxydase, l'eau oxygénée produite transforme un chromogène en un composé coloré. Ces réactifs imprègnent une bandelette de papier filtre qu'il suffit de tremper dans l'urine en surveillant au bout de quelques secondes l'apparition de la coloration. La comparaison avec une échelle colorimétrique permet un dépistage semi-quantitatif. Cette méthode peut donner des résultats faussement positifs par des oxydants comme les hypochlorites, eau de javel, soluté de Dakin et faussement négatifs par des réducteurs tel que l'acide ascorbique. Les contaminants bactériens peuvent consommer le glucose éventuellement présent dans l'urine, entraînant des résultats faussement négatifs.

En cas de recherche positive (glycémie supérieure au seuil rénal de glucose qui est de 1,80 g/l), il est nécessaire de quantifier l'élimination urinaire de glucose. Le dosage du glucose urinaire se fait sur les urines de 24 heures de la même manière que pour le glucose sanguin.

**B/ Exploration fonctionnelle :**

Les épreuves fonctionnelles destinées à explorer la régulation de la glycémie, exigent des précautions techniques comparables car elles font appel au même principe : chez un sujet placé dans des conditions physiologiques de repos et d'équilibre nutritionnel, on provoque une perturbation du métabolisme glucidique. On enregistre aussitôt les effets de cette perturbation et la réponse de l'organisme.

**1/ Conditions opératoires :**

- Le sujet est à jeun depuis 8 heures au moins, ayant reçu au préalable une alimentation équilibrée (200 à 300 g de glucides) dans les trois jours qui précèdent l'épreuve.
- Proscrire si possible, au moins trois jours avant la réalisation de l'épreuve, les corticoïdes, les diurétiques thiazidiques, les catécholamines, les oestroprogestatifs qui diminuent la tolérance au glucose
- L'épreuve ne doit pas être faite au cours ou au décours immédiat d'une maladie aiguë et le délai est au minimum de 15 jours.
- Le sujet ne doit ni fumer ni ingérer des boissons caféinées ou alcoolisées avant le prélèvement car ceux-ci peuvent entraîner une augmentation de la glycémie.

- Le test doit être réalisé dans des conditions de confort suffisantes pour limiter au maximum les réactions neuroendocriniennes (par la voie des catécholamines) : préparation psychologique élémentaire, emploi éventuel de sédatifs légers.

## **2/ Epreuves sans stimulation :**

### **a/ Glycémie post prandiale :**

On pratique une glycémie à jeun et une glycémie 2 heures après l'ingestion d'un repas d'épreuve spécialement riche en glucides. Cet examen renseigne sur l'adaptation de l'organisme à l'apport glucidique dans les conditions physiologiques. Chez le sujet normal, la glycémie post prandiale ne doit pas dépasser 1,40 g/l

### **b/ Cycle glycémique :**

C'est la détermination de la glycémie à intervalles réguliers et rapprochés pendant 12 heures ou 24 heures. Le sujet est au repos, couché et reçoit une alimentation normale. Les prélèvements sanguins sont réalisés toutes les 2 heures (soit 6 prises de sang pour une épreuve de 12 heures).

Résultats : chez le sujet normal, la glycémie varie peu durant la journée : la glycémie la plus élevée ne dépasse pas 1,40 g/l, et la glycémie la plus basse ne descend jamais en dessous de 0,50 g/l

Indications : - C'est la première épreuve d'un sujet hypoglycémique, surtout si les accidents d'hypoglycémie sont fréquents ou intenses.

- C'est également une épreuve de surveillance des sujets diabétiques traités à l'insuline.

### **c/ Epreuve du jeun :**

L'action initiale consiste à doser la glycémie après 12 heures de jeun. En présence de symptômes, une glycémie à jeun  $\leq 0,60$  g/l signe le diagnostic d'hypoglycémie organique. Si la glycémie est supérieure à 0,60 g/l, il faut prolonger le jeun jusqu'à midi et parfois jusqu'à 16 heures, et refaire une autre glycémie.

Cette épreuve permet de mettre en évidence : soit un hyperinsulinisme, soit un trouble de la glyco-généolyse (hépatites aiguës, tumeurs primitives ou métastatiques du foie), soit une défaillance du système hyperglycémiant (insuffisance surrénalienne, insuffisance anté-hypophysaire)

### **d/ Glycosurie fractionnée :**

La miction est fractionnée en prélèvement de deux heures, sur lequel on détermine la quantité de glucose éliminée.

Indication : cette épreuve n'a d'intérêt que chez le sujet diabétique. Elle permet par un procédé simple de juger des variations de la glycémie : tout passage de la glycémie au dessus du seuil rénal (1,80 g/l), se traduit par une glycosurie. On parvient ainsi à adapter les doses et les horaires de l'insuline.

## **3/ Epreuves avec stimulation :**

### **a/ Epreuves d'hyperglycémie provoquée :**

- **Hyperglycémie provoquée par voie orale ou HGPO :**

Entre les valeurs glycémiques normales ( $\leq 1,10$  g/l) et les valeurs glycémiques définissant un diabète ( $\geq 1,26$  g/l), il existe une zone intermédiaire. L'HGPO est indiquée si la glycémie à jeun est dans cette zone intermédiaire et/ou si la glycémie post prandiale est supérieure à 1,40 g/l et inférieure à 2g/l.

On administre au sujet une quantité de glucose standard de 75g dans 250ml d'eau (ou 45 g /m<sup>2</sup> de surface corporelle). Un prélèvement est réalisé à jeun et 2 heures après l'ingestion de glucose. On peut faire en plus un prélèvement 1 heure après l'ingestion de glucose, voire des prélèvements toutes les 30 minutes pendant 3 heures.

Résultats : chez le sujet normal, la glycémie doit être inférieure à 1,40 g/l

Si la glycémie est supérieure ou égale à 2 g/l, cela signe un diabète

Si la glycémie est comprise entre 1,40 et 1,99 g/l, cela signe une intolérance aux hydrates de carbone

Remarque : pour un enfant, la dose prescrite est fonction du poids : 1,75 g/kg sans dépasser 75 g.

Pour le diagnostic du diabète gestationnel :

Une HGPO avec 75g de glucose entre 24 et 28 semaines avec 3 valeurs dont une seule pathologique permet de retenir le diagnostic de diabète gestationnel :

T<sub>0</sub>  $\geq 0,92$  g/l , T 1h  $\geq 1,80$  g/l , T 2h  $\geq 1,53$  g/l

Pour le suivi, l'objectif est : - à jeun une glycémie  $< 0,95$  g/l

- à 2 heures en post prandial, une glycémie  $< 1,20$  g/

- **Hyperglycémie provoquée par voie veineuse :**

Elle est destinée à supprimer la traversée digestive du glucose ( sujet gastrectomisé)

**b/ Hyperglycémies provoquées sensibilisées :**

- Test à la cortisone glucose : 50 mg d'acétate de cortisone sont donnés par voie orale, 8 heures puis 2 heures avant une hyperglycémie provoquée. Toute glycémie dépassant 1,40 g/l à la deuxième heure témoigne d'un diabète latent
- Test à l'insuline glucose

**c/ Epreuves d'hypoglycémie :**

Les épreuves d'hypoglycémie provoquées sont dangereuses et doivent se dérouler en milieu hospitalier et sous surveillance stricte : on doit pouvoir pratiquer dans la minute, une injection de glucagon ou une injection intraveineuse de sérum glucosé hypertonique dès l'apparition des signes cliniques d'hypoglycémie.

- Test à l'insuline : ce test doit être impérativement réalisé en milieu spécialisé. Ce test consiste à induire l'apparition d'une hypoglycémie par injection de 0,1U/Kg d'insuline. Normalement, le peptide C doit alors diminuer de plus de 70%, ce qui n'est pas le cas s'il y a un insulinome.

#### **4/ Dosages et épreuves complémentaires :**

##### **a/ Dosage de l'insulinémie :**

- Sujet à jeun depuis 12 heures
- Prélèvement sanguin sans anticoagulant
- Dosage rapide car l'insulinase plasmatique détruit l'insuline : sinon conservation du sérum à -20°C
- Dosage par une méthode radio-immunologique ou immunoenzymatique
- Valeur normale : 10 à 20 µU/ml

**Indications :** ce dosage permet d'évaluer l'hypoglycémie à jeun (insulinome ou hypoglycémie idiopathique de l'enfant) et permet également de distinguer le DID hypo insulinaire du DNID normo insulinaire ou légèrement hyper insulinaire.

##### **b/ Dosage du peptide C. Test au glucagon :**

Le peptide C est déterminé par une technique radio immunologique ou immunoenzymatique chez un sujet à jeun depuis 12 heures: Les valeurs normales sont de 1 à 2 ng/ml

La détermination du peptide C est un meilleur indicateur de l'intégrité fonctionnelle des cellules B que la détermination de l'insuline (due à la présence des anticorps anti insuline qui sont une cause d'erreur dans la détermination de l'insuline).

**Indications :** Ce dosage permet de distinguer les diabétiques insulinodépendants (diabète de type 1) des non insulinodépendants (diabète type 2)

Ce dosage est également utile dans les cas d'hypoglycémies : il permet de distinguer l'hyperinsulinisme causé par une tumeur (insulinome), de l'hyperinsulinisme causé par une administration d'insuline inadéquate ou à des fins criminelles. Dans les cas de tumeur l'insuline et le peptide C sont tous les deux augmentés, alors que dans les cas d'administration d'insuline le taux d'insuline est augmenté et le taux de peptide C est bas.

On étudie souvent le peptide C sous stimulation du pancréas endocrine par le test au glucagon. On administre au sujet 1mg en IV ou IM de glucagon et on fait des prélèvements au bout de 4, 6, 10, et 20 minutes. Les taux sont de 1 à 2 ng/ml à jeun et s'élèvent rapidement vers la 4<sup>ème</sup> à la 6<sup>ème</sup> minute où ils atteignent le double du taux de base.

#### **5/ Tests de surveillance du diabète :**

##### **a/ Hémoglobine glyquée :**

Définition de la glycation : la glycation est la réaction entre un sucre et une protéine. C'est une réaction non enzymatique qui se déroule en deux étapes :

Dans un premier temps, le groupement aldéhyde du sucre réagit de façon réversible avec un groupement aminé de la protéine pour former une aldimine ou base de schiff.

Dans un deuxième temps, l'aldimine subit un réarrangement interne (réarrangement d'AMADORI) pour donner une céto-amine dont la formation est irréversible. Cette céto-amine demeure unie à la protéine durant toute la vie de celle-ci.

Le globule rouge contient normalement de l'hémoglobine adulte A qui se sépare en deux fractions principales :

L'hémoglobine A0 : se compose en majorité d'hémoglobine non glyquée et représente plus de 90% de l'hémoglobine totale

L'hémoglobine A1 : est composée uniquement d'hémoglobine glyquée. Elle se divise en sous fractions A1a, A1b, A1c qui représente 4% à 6%. Cependant l'Hb glyquée A1c est plus stable et pratiquement spécifique. Elle est le fruit de la réaction entre la molécule de glucose et la valine terminale de l'une ou des deux chaînes  $\beta$  de l'hémoglobine. Cette sous fraction A1c voit son taux augmenter dans le diabète (la multiplication des poussées hyper glycémiques entraînera l'augmentation du taux de ce marqueur) et présente donc un intérêt clinique important.

Compte tenu de la durée de vie des hématies qui est de 120 jours, le dosage de l'Hb glyquée reflète l'équilibre glycémique des 6 à 8 semaines précédant le prélèvement.

**Dosage :** méthodes chromatographiques

**Valeur normale :** Hb A1c = 4 à 6 %

#### **b/ Fructosamine :**

On désigne sous ce nom, l'ensemble des céto-amines produit par réaction de glycation du glucose avec les protéines plasmatiques. Toutes les protéines plasmatiques subissent des réactions de glycation ; mais en raison de son abondance et de ses nombreux résidus lysine, l'albumine rend compte à elle seule d'environ 80 % de la fructosamine plasmatique. Sur la base d'une demi-vie de 20 jours de l'albumine, le dosage de la fructosamine reflète l'équilibre glycémique des 2 à 3 semaines précédant le prélèvement.

**Valeur normale :** 165 à 285  $\mu\text{mol/l}$

Comme la fructosamine est sensible à des variations plus récentes de la glycémie, son dosage présente plus d'intérêt que le dosage de l'HbA1c dans :

- Le diabète type 1 récent pour lequel il est important de déterminer la dose efficace d'insuline
- Le diabète type 1 instable, mal contrôlé, pour lequel il est important de changer les doses d'insuline
- La surveillance du diabète gestationnel

- Ce test est également utilisé dans les cas d'hémoglobinopathies, d'anémie hémolytique, ou de transfusions sanguines récentes ; dans ces cas là, on ne peut pas doser l'HbA1

#### **6/ Autres examens :**

**a/ Corps cétoniques** : la présence de corps cétoniques (acéto-acétate et  $\beta$  hydroxy-butyrat) provient du catabolisme lipidique lorsque les cellules manquent de glucose. On peut les observer dans les urines dans deux circonstances :

- Le diabète sucré décompensé : ils accompagnent alors une glycosurie importante et une hyperglycémie
- Une cétose de jeûne : dans ce cas la glycosurie est absente

**b/ Lactate et pyruvate** : ces anions se dosent en cas de coma par acidose lactique

#### **7/ Surveillance des complications du diabète :**

##### **a/ Bilan lipidique :**

- dosage du cholestérol total : 1,50 à 2,10 g/l
- dosage des triglycérides : 0,70 à 1,50g/l
- dosage du HDL-cholestérol : homme : supérieur à 0,35g/l  
femme : supérieur à 0,40g/l
- calcul du LDL-cholestérol : inférieur à 1,20g/l

##### **b/ Dosage de la micro albuminurie :**

La micro albuminurie représente un marqueur de l'atteinte rénale du diabète. Elle est définie par une excrétion d'albumine dans l'urine de la nuit ou de 24heures comprise entre 20 et 200 mg/l ou 30 à 300 mg/ 24 heures et vérifiée à au moins 2 reprises dans un délai de 6 mois.

C'est une élimination urinaire supérieure à la normale mais inférieure à la quantité de protéines détectable par les bandelettes réactives. Son intérêt est d'identifier les sujets à risque élevé d'insuffisance rénale

#### **IV/ Variations pathologiques :**

##### **A/ Hyperglycémies :**

Représentées par le diabète sucré qui est défini comme une augmentation chronique anormale du taux de glucose sanguin. Cette hyperglycémie peut s'accompagner de symptômes tels que soif, polyurie, amaigrissement. Dans d'autres cas, les symptômes sont beaucoup moins marqués, voire absents.

Les risques à court terme sont représentés par les complications aiguës : coma acido-cétosique, coma hypoglycémique, coma hyperosmolaire.



Les risques à long terme résident dans la survenue de complications rétiniennes, rénales, neurologiques, et l'augmentation du risque d'athérosclérose au niveau des artères cérébrales, coronaires et des membres inférieurs.

### **Classification du diabète sucré selon l'OMS :**

- **Diabète type 1**
- **Diabète type 2**
  - sujet obèse
  - sujet non obèse
- **Diabète secondaire ou associé à :**
  - maladies pancréatiques
  - maladies endocriniennes
  - traitements ou chimiothérapies
  - anomalies de l'insuline ou de ses récepteurs
  - syndromes génétiques
  - divers
- **Anomalie de la tolérance au glucose :**
  - sujet obèse
  - sujet non obèse
  - associée à certaines situations ou syndromes
- **Diabète gestationnel**

Le diabète type 1 est caractérisé par son début en général brutal survenant surtout chez le sujet jeune. Il est en général définitif, du fait de la destruction complète du pancréas endocrine

Le diabète type 2 représente environ 85 % des cas de diabète. Il comporte un élément génétique et est le plus souvent associé à une obésité. Son début est progressif et il est souvent découvert à l'occasion d'un examen systématique.

### **B/ Hypoglycémies :**

On parle d'hypoglycémie lorsque la glycémie est inférieure à 0,50g/l. les signes cliniques sont représentés par des sueurs profuses, des vertiges, des tremblements, une tachycardie, une sensation de faim. Des signes de souffrance cellulaire sont également associés tels que : Céphalées,

troubles visuels, troubles de la vigilance, troubles du comportement (agitation, agressivité ...). A l'extrême, il peut s'agir de convulsions, perte de connaissance, coma.

**Etiologies** : - hypoglycémies fonctionnelles : Classiquement, ces hypoglycémies fonctionnelles surviennent en post prandial, de façon réactionnelle à une prise alimentaire riche en sucre, sans manifestations de neuroglucopénie. Elles se voient dans les circonstances où le transit digestif est accéléré (gastrectomie). Des mesures simples d'hygiène alimentaire avec éviction des glucides rapides et apports réguliers et suffisants de sucres lents doivent être proposées. Si ces règles hygiéno-diététiques ne permettent pas d'améliorer la symptomatologie, une épreuve de jeûne pourra alors être réalisée dans un second temps afin d'éliminer le diagnostic d'hypoglycémie organique.

- adénome Langerhansien (insulinome) : tumeur hypoglycémisante avec prolifération des cellules pancréatiques B
- tumeurs extra pancréatiques : tumeurs mésoenchymateuses intra-thoraciques ou rétro-péritonéales sécrétant de l'IGF2, avec insulinémie et C-Peptide bas.
- insuffisances anté-hypophysaires
- insuffisances surrénaliennes
- alcoolisme : surtout lorsque l'alcoolisation est aiguë et massive survenant chez un sujet à jeun
- insuffisance hépatique sévère
- atteintes enzymatiques : glycogénoses, galactosémie congénitale, fructosémie congénitale.

#### V/ Diagnostic des sucres urinaires :

**1/ Définition** : on donne le nom de méliurie à l'élimination en quantité anormale d'un ou de plusieurs sucres dans l'urine.

#### **2/ Etiologies :**

##### **a/ Méliuries physiologiques :**

- nouveau-né et prématuré : méliurie inférieure à 2 g/l touchant le lactose, le galactose, le fructose et le glucose
- femme en fin de grossesse : lactosurie
- méliuries diverses : buveurs de bière (maltosurie), absorption excessive de miel ou de jus de fruit (fructosurie), pentosuries alimentaires après ingestion d'oignons et de certains fruits tels que les prunes et les cerises (élimination d'arabinose, de xylulose, de xylose).

**b/ Mélituries pathologiques :**➤ **Mélituries glycosuriques :**

Avec hyperglycémie : diabète sucré

Sans hyperglycémie : diabète rénal (ou glycosurie néphrogène) : maladie héréditaire due à une mauvaise réabsorption tubulaire du glucose. Elle est caractérisée par un abaissement du seuil rénal de la réabsorption du glucose.

➤ **Mélituries non glycosuriques :**

- Secondaires à une insuffisance hépatique : élimination urinaire de galactose et de fructose

- Secondaires à une malabsorption intestinale : élimination urinaire de lactose et de saccharose

Secondaires à un déficit enzymatique congénital : - galactosémie congénitale et fructosémie congénitale. Ces deux maladies sont caractérisées par une diarrhée, des vomissements, une hypoglycémie, une hépatomégalie, un ictère et parfois une cirrhose. Élimination urinaire de galactose et de fructose.

- Fructosurie par absence de fructokinase

- Déficit en disaccharidases (enzymes intestinales) : élimination urinaire de saccharose, de lactose et de maltose.