

EXPLORATION BIOCHIMIQUE DES GLUCIDES

PR B.AIT ABDELKADER

EXPLORATION DU METABOLISME GLUCIDIQUE

- **Les objectifs**

- Définir la glycémie
- Illustrer les mécanismes de régulation de l'homéostasie glycémique
- Développer les moyens d'exploration de la glycémie,
- les indications et l'interprétation des différentes épreuves.
- Décrire Les variations pathologiques de la glycémie

- **Plan :**

I. Introduction

II. Généralités

III. Définition de la glycémie

IV. Les moyens d'exploration

V. Les pathologies

I. Introduction

Le glucose est le **principal carburant** de la plupart des organismes et occupe une **position centrale** dans le **métabolisme cellulaire**.

Le métabolisme des glucides a pour **principale fonction** d'assurer **l'homéostasie glucidique**, un processus physiologique vital qui permet le maintien d'un taux de glucose sanguin (**ou glycémie**) **stable**. Il **met en jeu différentes voies métaboliques** qui permettent :

- Soit **d'utiliser le glucose** sanguin **d'origine alimentaire** lorsqu'il est **abondant**, par **oxydation** (**glycolyse**), ou **de le stocker** sous forme de réserves de glycogène **dans le foie et les muscles** (**glycogénogenèse**)
- Soit, au contraire, à **distance des apports alimentaires**, **de produire du glucose à partir des réserves de glycogène** (**glycogénolyse**) ou à partir d'acides aminés (**néoglucogenèse**).

II. GENERALITES

1. LES APPORTS:

A. LES SOURCES EXOGÈNES:

Leur principale source est le milieu végétal. Nos besoins quotidiens en glucides sont de 4 grammes par Kg de poids et par jour.

1 gramme de glucide fournit 4 calories.

L'index glycémique :

- C'est la mesure de l'importance et de la rapidité de l'élévation de la glycémie après l'ingestion d'un aliment contenant des glucides, elle renseigne sur la qualité de l'aliment pas sur la quantité.

Avec l'IG on a pu classer les glucides (et les aliments) en:

- 1-Sucres lents avec IG < 50
Fructose=23, lactose=46
- 2- Sucres moyens avec IG entre 50-70
Saccharose=65
- 3-Sucres rapides avec IG >70
Glucose=100, maltose=105

Avec l'IG on peut adapter l'alimentation diététique pour les diabétiques.

- **B. LES SOURCES ENDOGÈNES :**

Mobilisation des réserves : glycogénolyse hépatique et musculaire

Synthèse de novo : néoglucogenèse à partir des précurseurs non glucidique

• III.DEFINITION DE LA GLYCEMIE :

Le mot **glycémie** vient du grec *glucos* = sucre et *hemos* = sang.

- **La glycémie**=taux de glucose libre dans le sang ; où il est sous sa forme stable.
- Elle est exprimée généralement en **gramme/litre** et parfois en **milli mole/litre** (1 mole = 180 grammes).
- **À jeun, la glycémie est comprise** (selon la méthode de dosage) **entre 0,70 et 1,10 g/L (3,8 et 6,1 mmol/L)**
- **Au-dessous de 0,70 g/l** il y a **hypoglycémie**, **et au-dessus de 1,10 g/l** il y a **hyperglycémie**.

- **IV. LES MECANISMES DE REGULATION :**

En vue d'éviter tout accroissement de la glycémie après un repas ou tout effondrement au cours de l'effort musculaire ou du jeûne, l'organisme fait intervenir un ensemble de régulation qui a pour but de maintenir l'homéostasie glycémique.

1. LA RÉGULATION MÉTABOLIQUE :

Une régulation rigoureuse du métabolisme est nécessaire pour coordonner les processus de dégradation et de synthèse dans nos cellules.

Cette régulation s'effectue grâce à des effecteurs allostériques qui activent ou inhibent les enzymes clés des voies métaboliques.

Elle tient compte des besoins de l'organisme (Situation métabolique et l'effort physique) .

Période post-absorptive: commence quelques heures après la consommation d'un repas lorsque le contenu intestinal a été absorbé => Mise en marche des anabolismes: **lipogenèse + glycogénogenèse**

Jeune physiologique: moins de 12h

- **Glycogénolyse** hépatique/musculaire (muscle squelettique et myocarde)
- **Néoglucogenèse** hépatique
- **Lipolyse** => **précurseurs de la néoglucogenèse**

Jeune court: moins d'une semaine

- **Épuisement du glycogène hépatique et musculaire** (réserves de 18h – 24h)
- **Lipolyse ++**
- **Protéolyse musculaire**
- **Cétogenèse:** cerveau, muscles ----> économiser les protéines musculaires

2. LA RÉGULATION NERVEUSE :

- Le système sympathique **stimule la sécrétion** de glucagon et **inhibe celle** de l'insuline (**Hyperglycémiant**).
- Le système parasympathique **stimule la sécrétion** d'insuline et **inhibe celle** du glucagon (**Hypoglycémiant**).

3. LA RÉGULATION HORMONALE :

- **L'équilibre entre** les voies consommatrices et les voies génératrices du glucose sanguin est **assuré par 2 systèmes endocriniens antagonistes**:
- **Hypoglycémiant** : une seule hormone l'insuline
- **Hyperglycémiant** : un groupe d'hormones ; **glucagon, adrénaline (catécholamines), somatostatine, cortisol, GH, thyroxine**

Vue d'ensemble de la régulation de la glycémie

Prise d'un repas
riche en glucides

Hyperglycémie

Stimulation des
cellules β

Libération d'insuline
dans le sang

Action sur des
organes cibles

Foie

Muscles

Tissu adipeux

Retour vers une
normoglycémie

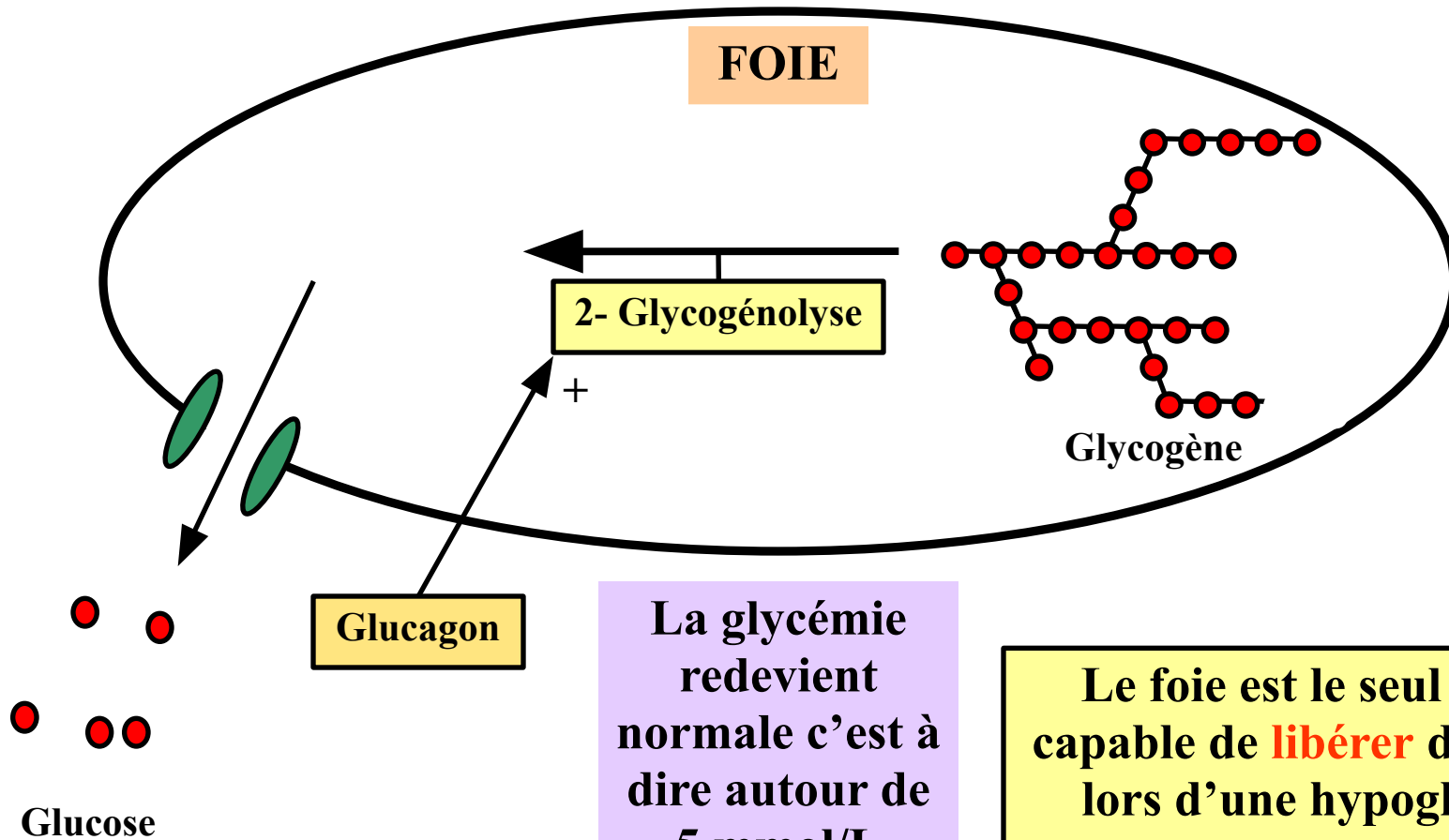
Jeûne, état
postprandial

Hypoglycémie

Stimulation des
cellules α

Libération de glucagon
dans le sang

Le foie : un organe de libération de glucose



La glycémie redevient normale c'est à dire autour de 5 mmol/L

Le foie est le seul organe capable de **libérer** du glucose lors d'une hypoglycémie

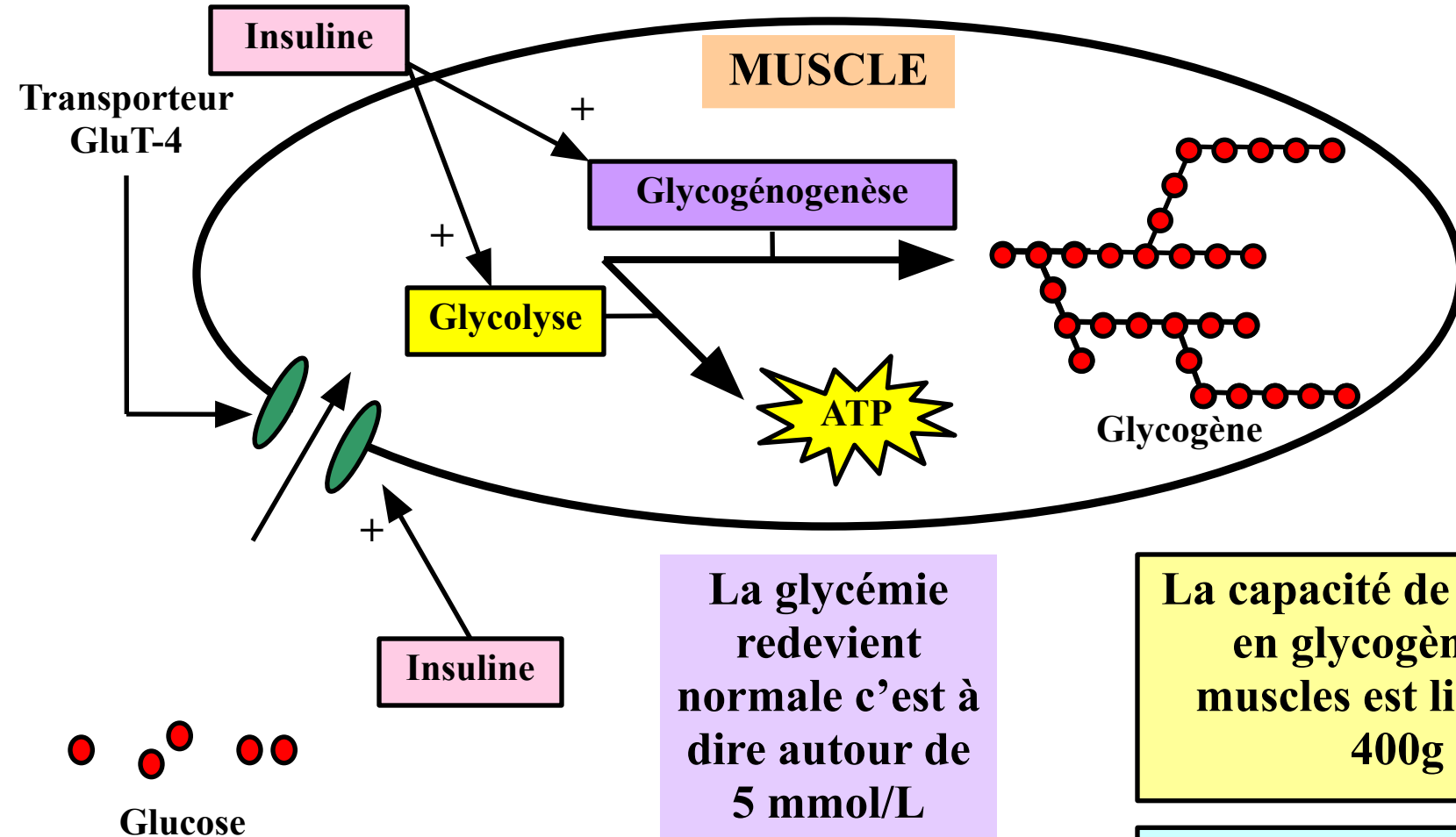
La libération du **glucose hépatique** permet de maintenir stable la glycémie entre les repas

Le glucagon est une hormone hyperglycémiant stimulant la glycogénolyse hépatique

Glycémie = 5 mmol/L

2- Si hypoglycémie

Les muscles et la régulation de la glycémie



La glycémie redevient normale c'est à dire autour de 5 mmol/L

La capacité de stockage en glycogène des muscles est limitée à 400g

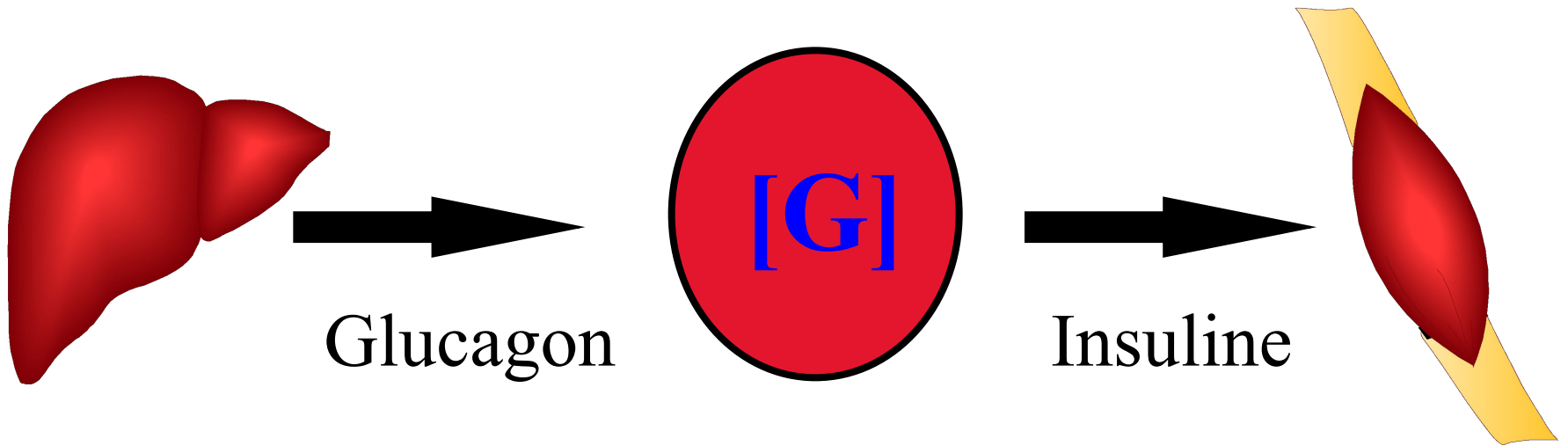
Après un repas, l'excédent de glucose est mis en **réserve** dans les cellules **hépatiques** et **musculaires**

3- L'insuline stimule surtout la glycolyse musculaire

Glycémie = 5 mmol/L

1- Si hyperglycémie

La régulation de la glycémie



1. Glycogénolyse
2. Néoglucogénèse

1. Glycogénèse
2. Glycolyse
3. Oxydation du glucose

V. LES MOYENS D'EXPLORATION BIOCHIMIQUES

1. Les tests statiques

- 1- Les tests à visée diagnostic

A. La glycémie à jeun :

Conditions de prélèvement :

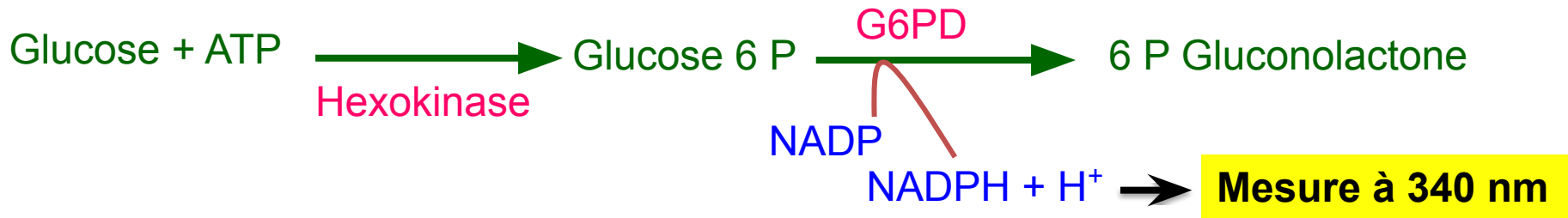
- Sujet à jeun depuis 08h-10h (Examen d'urgence)
- Sang sur tube hépariné (plasma) ou tube sec (sérum)

Temps d'attente avant le dosage : 1h max (cas contraire fluorure de Na⁺ **ou** mono iodoacétate de Na⁺)=>
antiglycolytique,

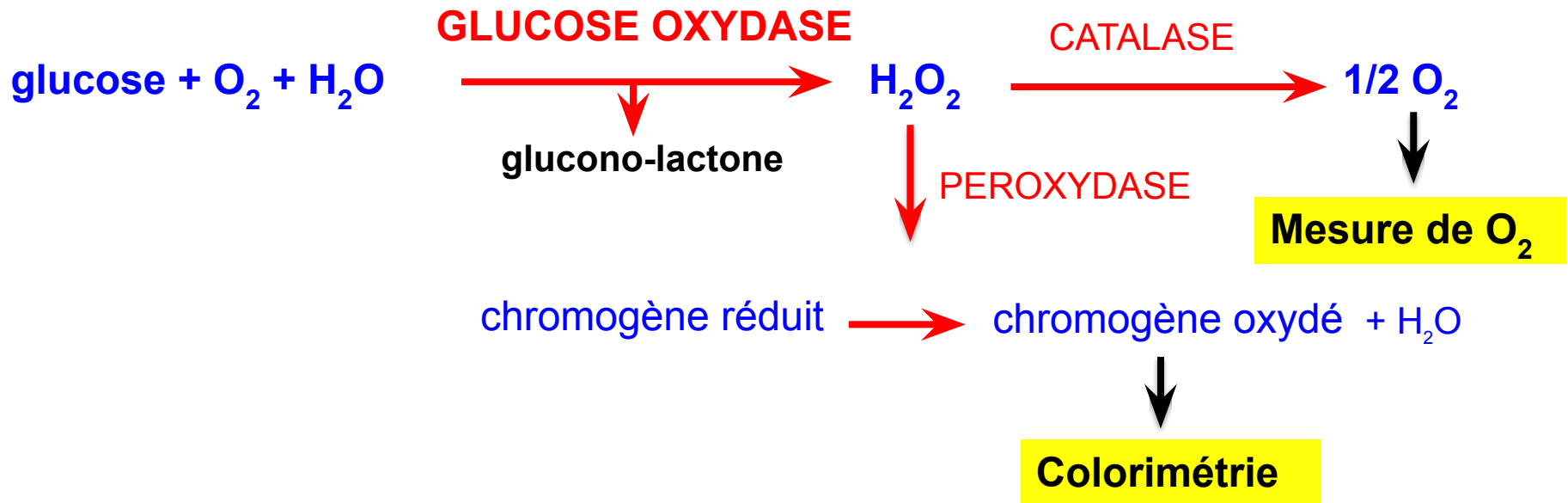
- Sang total veineux ou capillaire (glycémie au doigt)

Méthodes de mesure du glucose

Méthode de référence = mesure avec hexokinase



Méthode à la Glucose Oxydase



Valeur Normale (selon la méthode de dosage) :

- **GOX/POD:** 3,80-6,10 mmol/l (0,70-1,10g/l)
- **HK:** 4,10–6,38 mmol/l (0,75–1,15 g/l)

Conversion : $\text{g/l} \times 5.55 = \text{mmol/l}$

Variations:

- 1mois – 4 ans = -20%
- 4 ans – 10ans = -10%
- > 60ans = +10%

Émotion et froid, alcool ($\uparrow$ 20-50%)

Lecteurs de Glycémie

Caractéristiques:

- Sang capillaire
- Mesure d'une glycémie plasmatique ou sur sang total**
- méthode de dosage= Glucose oxydase** ou **glucose déshydrogénase**



Indications:

- auto-surveillance glycémique

Valeur Normale (selon la méthode de dosage) :

- **GOX/POD:** 3,80-6,10 mmol/l (0,70-1,10g/l)
- **HK:** 4,10–6,38 mmol/l (0,75–1,15 g/l)

Conversion : g/l x 5.55 = mmol/l

Variations:

- 1mois – 4 ans = -20%
- 4 ans – 10ans = -10%
- > 60ans = +10%

Émotion et froid, alcool (↑ 20-50%)

B. Glycémie post-prandiale :

Dosage de la glycémie deux heures après l'ingestion de charge glucidique :

VN <1,40 g/l

Renseigne sur l'adaptation de l'organisme (**système de régulation**)

C. Glycosurie :

- **Prélèvement:** urines fraîches provenant d'une miction ou des urines de 24h
- **Méthode:**
 - dosage semi-quantitatif** avec **bandelette réactive** à la **glucose oxydase** apparition d'une **coloration** qui permet la comparaison **avec une échelle colorimétrique**
 - **Les faux positifs** : eau de Javel, liquide de Dakin, acides...
 - **Les faux négatifs**: Vit C, aspirine, L-Dopa, diurèse ++, bactéries ++, cétonurie ++.

Dosage quantitatif avec les mêmes méthodes: **GOX/POX ou HK**

Valeurs normales: **glycosurie = 0** chez un sujet sain

Glycémie > 10 mmol/l = **seuil de réabsorption rénale**=> glycosurie apparaît

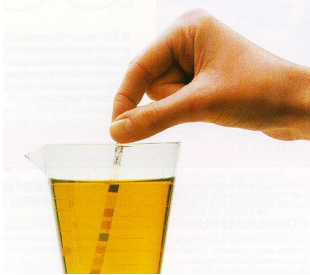
Bandelette urinaire

Plages réservées à la mesure de plusieurs paramètres, l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration

- **Mesure semi-quantitative en nombre de +**

- **Urines 2^{ème} jet**

- Lecture faussée par vitamine C, dakin, eau de javel....



Paramètres dépistés

pH: 5 - 9

Densité urinaire

Sang

Nitrites

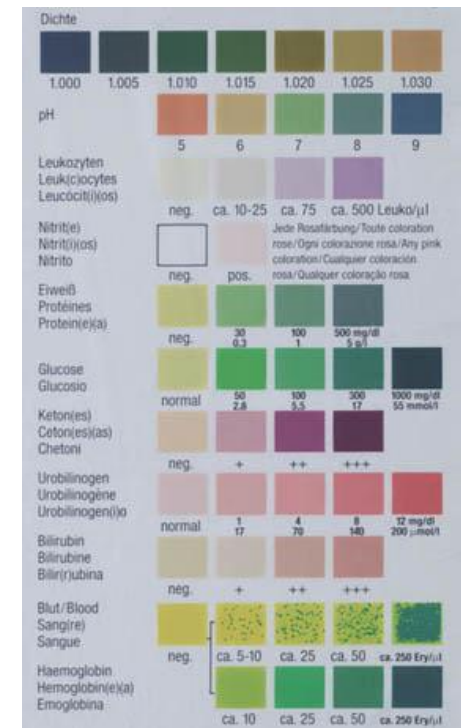
Protéines

Glucose : lim. Détec = 0.4 g/L

Méthode: glucose oxydase

Détection du glucose mais aussi lactose, galactose, fructose...ac.salicylique

Corps cétoniques : lim. détec= 0.05g/L



2. Les tests à visée étiologiques

A. Dosage de l'insuline

- Intérêt : **Exploration de la sécrétion d'insuline** (les hypoglycémies)
- **Prélèvement** : sérum ou plasma recueilli sur EDTA ou héparine (sujet à jeun)
- **Méthode de dosage**: **ECLIA sandwich**
- **Valeurs usuelles**: **Sujet à jeun** : 10-20 mU/l , En **post prandiale**:100-160 mU/l

B. Dosage du peptide C :

Reflète la sécrétion endogène d'insuline, **Demi-vie**: 20 min dosage facile.

- **Prélèvement** : sérum (sujet à jeun), urines de 24H
- **Méthode de dosage** : ECLIA sandwich
- **Valeur normale**: **Sérum** : 1-2 ng/ml
Dosage urinaire 10 – 60 nmol/24h ou 30 – 180 µg/24h

C. Dosage du glucagon :

- - **Prélèvement** : sérum ou plasma EDTA (sujet à jeun)
- - **Méthode de dosage** : immunochimique
- - **Valeur normale**: Sérum :80 à 120 pg/ml.

2. Les tests dynamiques:

- Les épreuves dynamiques **sont destinées à explorer la régulation** de la glycémie
- Chez un **sujet placé dans des conditions physiologiques de repos et d'équilibre nutritionnel**, **on provoque une perturbation du métabolisme glucidique** (hyper ou hypoglycémie)
- On **enregistre aussitôt les effets de cette perturbation et la réponse de l'organisme**
 - En milieu hospitalier
 - Sous surveillance médicale

1. Les épreuves hyperglycémiantes

A. Hyperglycémie provoquée par voie orale: HGPO

- Elle consiste à mesurer **les variations de la glycémie** après une charge de glucose.

- **Indications:**

Dépistage du diabète, du diabète gestationnel et de l'intolérance aux hydrates de carbone ; Diagnostic des hypoglycémies fonctionnelles

- **Précautions:**

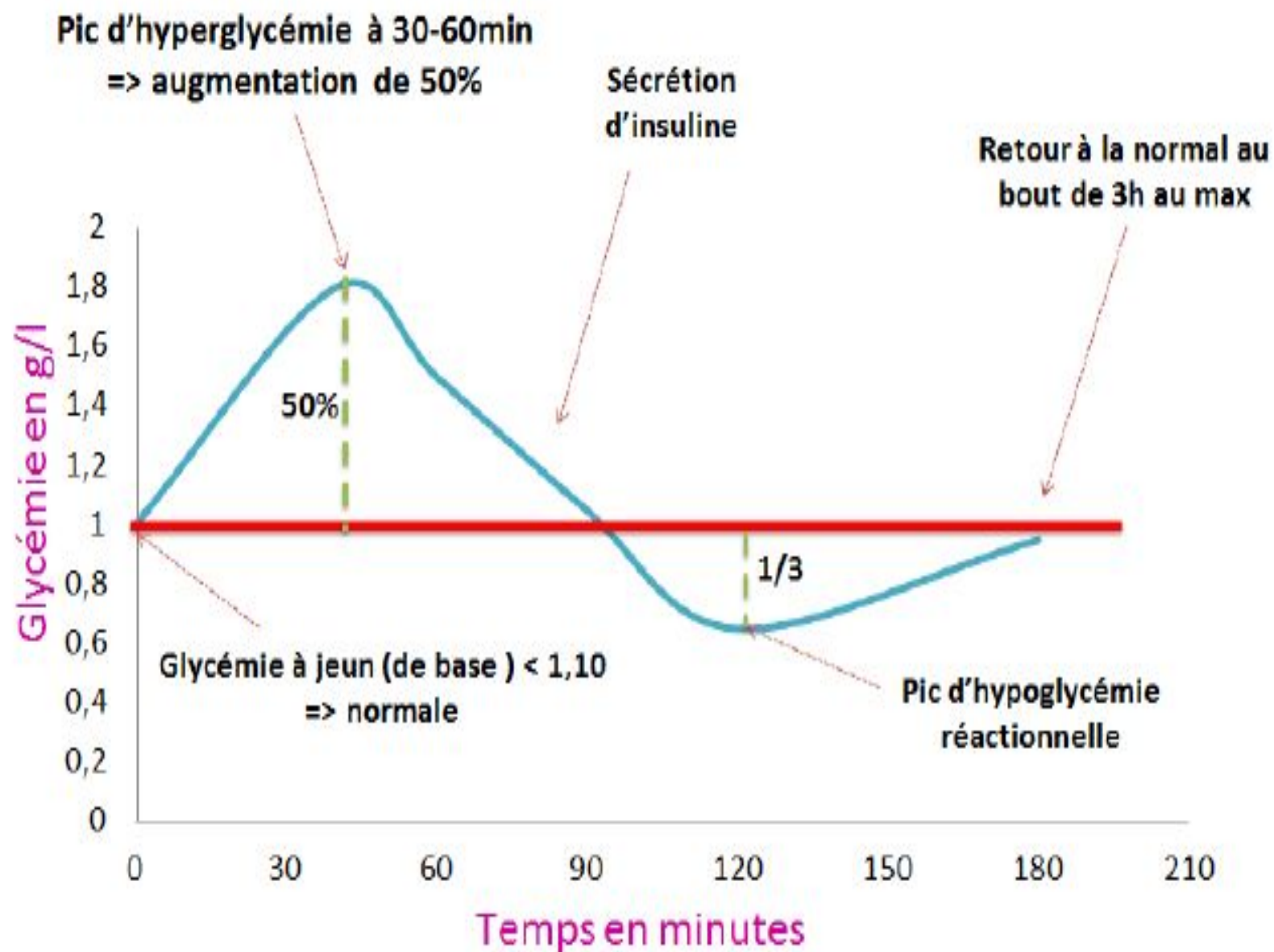
Sujet à jeun depuis **12 heures** au moins, **au repos physique et psychique**.

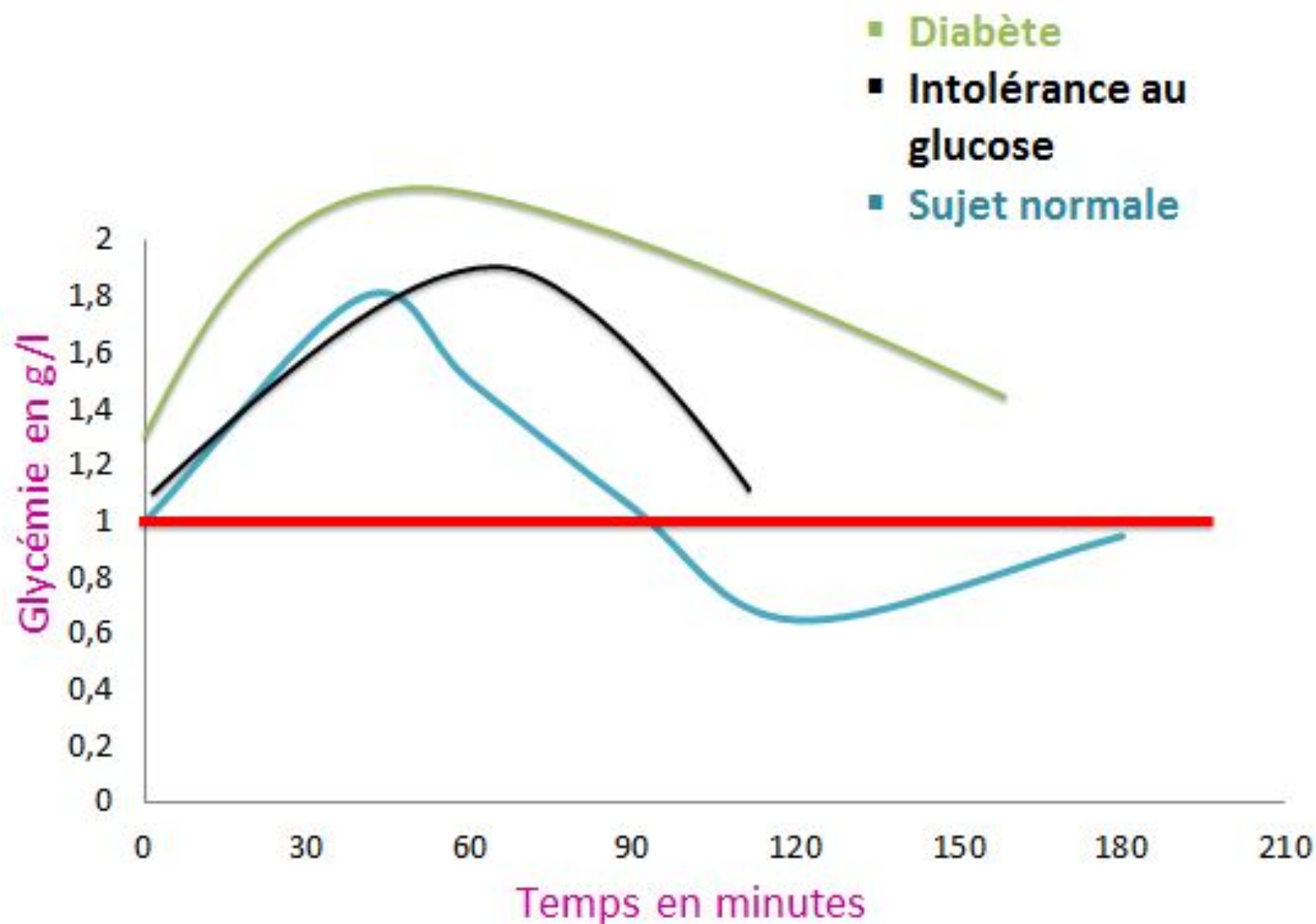
Respect d'un régime glucidique équilibré (200g d'hydrate de carbone/j) **dans les 3 j qui précèdent l'épreuve.**

Proscrire les médicaments qui diminuent **la tolérance au glucose** (corticoïdes, diurétiques, oestroprogestatifs...)

- **Protocole:**

- **Ingestion par voie orale en 5'** de **75g de glucose dissoutes dans 250 ml d'eau** chez l'adulte, soit (45g/m²) et a raison (**1,75g/kg de poids** chez l'enfant)
- **Mesurer la glycémie à jeun**, et **les glycémies toutes les ½ heures pendant 3h** par la même méthode.





- L'épreuve d'HGPO peut être simplifiée à 2H → glycémie post prandiale
- Critères proposés par l'Association américaine du diabète ADA (1997)

	Glycémie à jeun	Glycémie 2H après charge en glucose
sujet normal	< 6,1 mmol/l < 1,10 g/l	< 7,8 mmol/l < 1,40 g/l
Intolérance au glucose	6,1 – 7 mmol/l 1,10-1,26 g/l	7,8- 11,1 mmol/l 1,40-2,00 g/l
Diabète sucré	≥ 7 mmol/l ≥ 1,26 g/l	≥ 11,1 mmol/l ≥ 2,00 g/l

- L'épreuve peut être prolongée sur 5 heures afin de rechercher une hypoglycémie réactionnelle (< 0,50 g/l après 3h).

Hyperglycémie provoquée par voie orale: HGPO Chez la femme enceinte

Intérêt: Le dépistage du diabète gestationnel entre 24 et 28 semaines d'aménorrhée. La plupart des « guidelines », incluant celles **de L'ADA en 2016** recommandent **un dépistage universel** du diabète gestationnel, mais d'autres organisations, comme l'association anglaise **NICE** (*National Institute for Health and Care Excellence*), **en 2015**, recommandent uniquement **un dépistage ciblé** sur **les facteurs de risque** de diabète gestationnel

- Les facteurs de risque du diabète gestationnel:
 - Un indice de masse corporelle (IMC) supérieur à 30 kg/m²,
 - L'âge >35ans
 - Un antécédent de macrosomie de 4,5 Kg ou plus,
 - Un diabète gestationnel antérieur,
 - Une histoire familiale de diabète

Tableau : Seuils glycémiques proposés par l'IADPSG pour le diagnostic du diabète gestationnel lors d'une HGPO à 75 grammes.

Seuils glycémiques avant et après charge orale de 75 g de glucose		
Glycémie à jeun	$\geq 0,92 \text{ g/l}$	$\geq 5,1 \text{ mmol/l}$
et/ou glycémie à 1 heure	$\geq 1,80 \text{ g/l}$	$\geq 10,0 \text{ mmol/l}$
et/ou glycémie à 2 heures	$\geq 1,53 \text{ g/l}$	$\geq 8,5 \text{ mmol/l}$

Si une valeur est pathologique, le diagnostic de diabète gestationnel est établi et la prise en charge débute.

C. Hyperglycémie provoquée par voie intra-veineuse : HGPIV

- **Intérêt:** supprime la traversée digestive et l'action stimulante de l'insuline par les cellules pariétales gastriques

- **Indication:**

Troubles de l'absorption intestinale

Troubles gastriques (gastrectomie)

- **Protocole:**

- Un sujet à jeun, au repos
- Détermination de la glycémie à jeun
- Injection intra veineuse en 1 à 2 min de de glucose d'une solution à 50 % soit 25 g de glucose pour un sujet de 60Kg
- Mesure des glycémies chaque 10min pendant 90 min

D. TEST AU GLUCAGON

Explore:

- Action glycogénolytique hépatique = capacité à libérer le glucose.
- Réponse des cellules β pour l'insulino-sécrétion secondaire à l'hyperglycémie,

Résultats pathologiques:

- Absence d'hyperglycémie
- Epuisement des réserves hépatiques
- Déficit enzymatique dans la voie métabolique (glycogénoses hépatiques).
- Retour à la normale retardé: diabète
- Augmentation anormale de la sécrétion d'insuline: l'insulinome.

2. Les épreuves hypoglycémiantes :

- Dangereuses
- Doivent se dérouler **en milieu hospitalier** et **sous surveillance stricte**.

intérêt:

- Apprécier l'efficacité des **systèmes hyperglycémiant**s
- Explorer **les hypoglycémies**

A. Test à l'insuline

Ce test **doit être impérativement** réalisé en milieu hospitalier.

- **Intérêt:** Exploration des hormones hyper-glycémiantes, de la sensibilité des tissus à l'insuline et les réserves glycogéniques
- **Protocole:** Ce test consiste à induire l'apparition d'une hypoglycémie par injection IV 0,1 UI/Kg
- **Résultats:** diminution de 50% de la glycémie vers 30min puis retour à la normale au bout de 60 - 90min
- **Résultats anormaux :**

1/ Hypersensibilité à l'insuline: hypoglycémie importante > 50% retour à la normale retardé:

- Glycogénoses
- Affections endocriniennes (hyposécrétion des hormones hyperglycémiantes)

2/ Hypo-sensibilité à l'insuline = insulino-résistance: Hypoglycémie modérée:

- Diabète type 2
- Déficit en récepteurs d'insuline
- Hypersécrétion des hormones hyperglycémiantes

B. Test au tolbutamide

Le tolbutamide (**sulfamide hypoglycémiant**) provoque une hypoglycémie par stimulation **de la sécrétion d'insuline** => explore la fonction endocrine du pancréas

Protocole:

- Mesure de la glycémie à jeun
- injection en 2min d'1g de tolbutamide de Na
- Prélèvements effectués 5 à 15min après l'injection puis toutes les 30min pendant 3h

Résultats :

- Baisse de la glycémie: - **50% vers 30min**
- Retour à la **normale à 2h**

Résultats anormaux

Pancréas hyperfonctionnel:

- **Hypoglycémie importante >50% => insulinome**

Pancréas peu ou pas fonctionnel :

- **Hypoglycémie modérée ou absente avec retour à la normale retardé**
=> diabète insulino-dépendant (type1)

LES EXAMENS DE SURVEILLANCE

- De l'équilibre glycémique : **HbA1c** et les **fructosamines**
- Des complications: **micro-albuminurie**
- La glycation : **fixation** non enzymatique **d'oses simples** sur des groupements **d'acides aminés libre de la chaîne protidique**, pour former une **liaison céton-amine stable**.
 - - Ce phénomène **est général** et affecte **l'ensemble des protéines de l'organisme**, et **directement proportionnel à la concentration en oses**.
 - - Elle touche l'albumine -> **Fructosamines**
 - - Elle touche l'hémoglobine -> **Hémoglobine glyquée**

1. L'hémoglobine glyquée :

L'HbA1C, dont le **taux reflète** l'équilibre glycémique **des 8-12 semaines** précédant le **prélèvement** ,

- Prélèvement **de sang veineux** recueilli sur tube EDTA **Le jeune n'est pas impératif**

- **Méthodes de dosage:**

- **Chromatographiques:**

- Colonne d'Échange d'ions

- HPLC couplée à une colonne échangeuse d'ions (cations ou anions)

- HPLC couplée à une spectrométrie de masse (méthode de référence)

- **Immunochimiques**

- **Valeurs normales:**

- Sujet non diabétique: 4 – 6 %

- sujet diabétique équilibré: < 7%

- Non équilibré:> 7%

- Variation physiologique : âge ; augmentation du taux de l'HbA1c

- Les difficultés de validation du dosage de l'HbA1c => situations modifiant la durée de vie habituelle des globules rouges (120 Jours) ou le métabolisme de l'hémoglobine

Hémoglobinopathies

Hb S faussent souvent le résultat **à la baisse**

Hb F faussent souvent le résultat **à la hausse**

L'hémolyse, l'anémie ou les saignées faussent le résultat **à la baisse**

La carence martiale fausse le résultat **à la hausse**

Prise de certains médicaments

- Aspirine forte dose fausse **à la hausse** (Hb acétylée)
 - **Vitamine C et E à forte dose** faussent **à la baisse** (inhibition de la glycation)

Hyper TG et hyper bilirubinémie: Interférences analytique avec les méthodes immunologiques

2. Les fructosamines

- Toutes les protéines plasmatiques subissent des réactions de glycation => l'albumine est la principale protéine (80%) en raison de ses nombreux résidus lysine:

Demi-vie de l'albumine 20jrs

Variations récente de la glycémie : Le dosage des fructosamines reflète l'équilibre glycémique des 2-3 semaines précédant le prélèvement

Prélèvement : sérum ou plasma (héparine ou EDTA),

- Le dosage est souvent couplé au dosage des protéines totales.
- Valeur normale : 200-265 μ mol/l
- Indications:
 - Dans le diabète type 1 récent ou instable => adapter la dose d'insuline.
 - Surveillance du diabète gestationnel.
 - Les difficultés d'interprétation de l'HbA1c.

3. La micro-albuminurie

- Elle est définie par une augmentation de l'excrétion urinaire de l'albumine, **non détectable par l'utilisation de bandelettes ou par les techniques chimiques classiques.**
- Elle nécessite l'emploi de **techniques plus sensibles**
- **Prélèvement** : urine du matin, ou recueil des urines de 24h.
- **Valeur normale:**

	Échantillon urinaire	Urines de 24 h
Normo albuminurie	< 20 mg/l	< 30 mg/24h
Micro albuminurie	< 20 –200	30 -300
Macro albuminurie	> 200 mg/l	> 300 mg/24h

- **intérêt:**

La micro-albuminurie **témoigne, de façon précoce, d'une néphropathie glomérulaire, à un stade encore réversible.**

Marqueur des complications vasculaires du diabète (micro et macro-angiopathies)