

LISTE DES ABREVIATIONS

ABCA1.....	ATP Binding Cassette A1
ACAT.....	Acétyl Coenzyme A Cholestérol Acyl Transférase
Acétyl-CoA.....	Acétyl Coenzyme A
ADA.....	American Diabetes Association
ADP.....	Adénosine DiPhosphate
AGE.....	Advanced Glycated End-products
Alb.....	Albuminémie
anti-GAD.....	anti-Glutamic Acid Decarboxylase
Apo (A-I, B48, B100, C II, C III, E).....	Apoprotéine (A-I, B48, B100, C II, C III, E)
ATP.....	Adénosine TriPhosphate
C3.....	Complément 3
CCMH.....	Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine
CDA.....	Citrate Dextrose Adénine
CETP.....	Cholestéryl Ester Transfer Protein
cf.....	confère
CG	Cockcroft et Gault
C-HDL.....	Cholestérol-HDL
Chol.....	Cholestérol
CKD-EPI.....	Chronic Kidney Disease EPIdemiology
CLBP.....	Chromatographie Liquide à Basse Pression

C-LDL.....	Cholestérol-LDL
CLHP.....	Chromatographie Liquide Haute Performance
CMH.....	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CML.....	Cellules Musculaires Lisses
Cr.....	Créatinine sérique
CT.....	Cholestérol Total
DAM.....	DiAcétylMonoxime
DFG.....	Débit de Filtration Glomérulaire
DTPA- ⁹⁹ Tc.....	Diethylene Triamine Pentacetic Acid- ⁹⁹ Technicium
DT1.....	Diabète de Type 1
DT2.....	Diabète de Type 2
EDTA.....	Ethylène Diamine TetraAcétate
EDTA- ⁵¹ Cr.....	Ethylène Diamine TetraAcétate- ⁵¹ Chrome
<i>e.g.</i>	<i>exempli gracia</i>
ERO.....	Espèces Réactives de l'Oxygène
F.....	Femme
FIELD.....	Fenofibrate Intervention and Event Lowering in type 2 Diabetes
G6PDH.....	Glucose-6-Phosphate DésHdrogénase
GB.....	Globules Blancs
GIP.....	Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide
GLP-1.....	Glucagon-Like Peptide 1
GLUT2.....	GLUcose Transporter 2
GLUT4.....	GLUcose Transporter 4

GM-CSF.....	Granulocyte Monocyte- Colony Stimulating Factor
GOD.....	Glucose OxyDase
GR.....	Globules Rouges
GTP.....	Guanosine TriPhosphate
H.....	Homme
Hb.....	Hémoglobine
HbA _{1C}	Hémoglobine glyquée A _{1C}
HbF.....	Hémoglobine F
HDL.....	High Density Lipoproteins
HDL-Chol.....	HDL-Cholestérol
HEAR	Hôpital d'Enfants Albert Royer
HGPO-2h.....	Hyper Glycémie Provoquée par Voie Orale après 2 heures
HLA.....	Human Leucocyte Antigen
HMF.....	Hydroxy-Méthyl-Furfural
HMG-CoA.....	HydroxyMéthylGlutaryl-Cenzyme A
IA.....	Indice d'Athérogénicité
IAPP.....	Islet Amyloïd PolyPeptide
ICAM-1	Intracellular Adhesion Molecule -1
IDDM1.....	Insulin Dependant Diabetes Melitus 1
IDL.....	Intermediary Density Lipoproteins
IDMS.....	Spectrométrie de Masse avec Dilution Isotopique
<i>i.e</i>	<i>id este</i>
IgG.....	Immunoglobuline de classe G

IgM.....	Immunoglobuline de classe M
IL2.....	InterLeukine 2
IL-6.....	InterLeukine 6
IMAO.....	Inhibiteurs des Monoamines Oxydase
IMC.....	Indice de Masse Corporelle
IMG.....	Indice de Masse Grasse
IRE.....	Insulin Response Element
IRS.....	Insulin Receptor Substrate
KCNJ11.....	Potassium inwardly- rectifying Channel, subfamily J, member 11.
KDa.....	KiloDalton
LCAT.....	Lécithine Cholestérol Acyl Transférase
LDL.....	Low Density Lipoproteins
LDL-Chol.....	LDL-cholestérol
Lp (a).....	Lipoprotéine (a)
LRP.....	LDL-related Receptor Protein
LTCD4.....	Lymphocyte T Cluster Differentiation 4
LTCD8.....	Lymphocyte T Cluster Differentiation 8
MBTH.....	Méthyl Benzo Thiazolone Hydrazone
MDRD.....	Modification of Diet in Renal Disease
MCP-1.....	Monocyte Chemotactic Protein-1
M-CSF.....	Monocyte- Colony Stimulating Factor
ND.....	Néphropathie Diabétique
NAD ⁺	Nicotinamide Adénine Dinucléotide (oxydé)

NADH, H ⁺	Nicotinamide Adénine Dinucléotide (réduit)
NADP ⁺	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate (oxydé)
NADPH, H ⁺	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate (réduit)
NF-κB	Necrosis Factor κB
NHANES III.....	Third National Health and Nutrition Examination Survey
NKF.....	National Kidney Foundation
ODS.....	OctaDécyl-Silane
OMS.....	Organisation Mondiale de la Santé
PC1.....	Proteine Convertase type 1
PC2.....	Protéine Convertase type 2
PEG 6000.....	PolyEthylène Glycol 6000
PGDF.....	Platelet Derived Growth Factor
pH	potentiel d'Hydrogène
PKC.....	Protéine Kinase C
PLQ.....	PLaquettes
PM.....	Poids Moléculaire
POD.....	PerOxyDase
PPARG.....	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma
RA.....	Risque Athérogène
RAC.....	Ratio Albumine Créatinine
RAGE.....	Receptors of Advanced Glycated End-products
RLO.....	Radicaux Libres Oxygénés
SFBC.....	Société Française de Biochimie Clinique

SR-AI et II.....	Scavenger Receptor-class I et II
SR-B1.....	Scavenger Receptor type B1
TCF7L2.....	TransCRIPTION Factor 7-Like 2
TCMH.....	Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine
TG.....	TriGlycérides
TGF β	Tumor Growth Factor β
TGLH.....	Triglycérides Lipase Hépatique
TNF α	Tumor Necrosis Factor α
U.....	Urée sanguine
UCAD2.....	Université Cheikh Anta Diop de Dakar 2
UCP-2.....	UnCoupling Protein- 2
U.V.....	Ultra Violet
VCAM-1.....	Vascular Cell Adhesion Molecule -1
VEGF.....	Vascular Endothelium Growth Factor
VGM.....	Volume Globulaire Moyen
VLDL.....	Very Low Density Lipoproteins
VNTR.....	Variable Number Tandem Repeat

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : équations du CKD-EPI	100
Tableau II : valeurs usuelles du débit de filtration glomérulaire (DFG) selon l'âge et le sexe	101
Tableau III : valeurs usuelles et variations pathologiques de l'HGPO après 2 heures.....	106
Tableau IV: caractéristiques des lipoprotéines plasmatiques à l'ultracentrifugation de flottation et à l'électrophorèse.....	117
Tableau V : équations du CKD-EPI chez les sujets de race noir.....	139
Tableau VI: comparaison des moyennes des variables anthropométriques entre sujets diabétiques de type 1 et témoins.....	141
Tableau VII : comparaison des moyennes des variables anthropométriques entre sujets diabétiques de type 1 et sujets diabétiques de type 2.....	141
Tableau VIII : comparaison des moyennes des variables hématologiques entre sujets diabétiques de type 1 et témoins.....	142
Tableau IX : comparaison des moyennes des variables hématologiques entre sujets diabétiques de type 1 et sujets diabétiques de type 2.....	142
Tableau X : comparaison des moyennes des variables biochimiques (glucidiques et lipidiques) entre sujets diabétiques de type 1 et témoins.....	145
Tableau XI : Comparaison des moyennes des variables biochimiques (glucidiques et lipidiques) entre sujets diabétiques de type 1 et sujets diabétiques de type 2.....	145
Tableau XII: comparaison des moyennes des variables biochimiques du bilan rénal entre sujets diabétiques de type 1 et témoins.....	147
Tableau XIII: Comparaison des moyennes des variables biochimiques du bilan rénal entre sujets diabétiques de type 1 et sujets diabétiques de type 2.....	147
Tableau XIV: Comparaison de la capacité des formules de CG et du MDRD à déterminer le DFG sur la base de la fréquence (%) des valeurs du DFG obtenues chez les sujets témoins.....	147

Tableau XV : Comparaison de la capacité des formules de CG et du CKD-EPI à déterminer le DFG sur la base de la fréquence (%) des valeurs du DFG obtenues chez les sujets témoins.....	149
Tableau XVI: Comparaison de la capacité des formules du MDRD et du CKD-EPI à déterminer le DFG sur la base de la fréquence (%) des valeurs du DFG obtenues chez les sujets témoins.....	150
Tableau XVII: Comparaison des coefficients de corrélation entre 1/créatininémie (l/ μ mol) et les DFG calculés avec les formules de CG et du MDRD, selon les valeurs du DFG (ml/min/1,73m ²), obtenues chez les sujets témoins.....	151
Tableau XVIII : Comparaison des coefficients de corrélation entre 1/créatininémie (l/ μ mol) et les DFG calculés avec les formules de CG et du CKD-Epi, selon les valeurs du DFG (ml/min/1,73m ²), obtenues chez les sujets témoins.....	152
Tableau XIX : Comparaison des coefficients de corrélation entre 1/créatininémie (l/ μ mol) et les DFG calculés avec les formules du MDRD et du CKD-EPI, selon les valeurs du DFG (ml/min/1,73m ²), obtenues chez les sujets témoins.....	153
Tableau XX : Comparaison de la capacité des formules de CG et du MDRD à déterminer le DFG sur la base de la fréquence (%) des valeurs du DFG obtenues chez les sujets diabétiques de type 1.....	156
Tableau XXI : Comparaison de la capacité des formules de CG et du CKD-EPI à déterminer le DFG sur la base de la fréquence (%) des valeurs du DFG obtenues chez les sujets diabétiques de type 1.....	156
Tableau XXII : Comparaison de la capacité des formules du MDRD et du CKD-EPI à déterminer le DFG sur la base de la fréquence (%) des valeurs du DFG obtenues chez les sujets diabétiques de type 1.....	157
Tableau XXIII : Comparaison des coefficients de corrélation entre 1/créatininémie (l/ μ mol) et les DFG calculés avec les formules de CG et du MDRD, selon les valeurs du DFG (ml/min/1,73m ²), obtenues chez les sujets diabétiques de type 1.....	158

Tableau XXIV : Comparaison des coefficients de corrélation entre 1/créatininémie (l/ μ mol) et les DFG calculés avec les formules de CG et du CKD-EPI, selon les valeurs du DFG (ml/min/1,73m ²), obtenues chez les sujets diabétiques de type 1.....	159
Tableau XXV : Comparaison des coefficients de corrélation entre 1/créatininémie (l/ μ mol) et les DFG calculés avec les formules du MDRD et du CKD-EPI, selon les valeurs du DFG (ml/min/1,73m ²), obtenues chez les sujets diabétiques de type 1.....	159
Tableau XXVI : Comparaison de la capacité des formules de CG et du MDRD à déterminer le DFG sur la base de la fréquence (%) des valeurs du DFG obtenues chez les sujets diabétiques de type 2.....	162
Tableau XXVII: Comparaison de la capacité des formules de CG et du CKD-EPI à déterminer le DFG sur la base de la fréquence (%) des valeurs du DFG obtenues chez les sujets diabétiques de type 2.....	163
Tableau XXVIII: Comparaison de la capacité des formules du MDRD et du CKD-EPI à déterminer le DFG sur la base de la fréquence (%) des valeurs du DFG obtenues chez les sujets diabétiques de type 2.....	163
Tableau XXIX: Comparaison des coefficients de corrélation entre 1/créatininémie (l/ μ mol) et les DFG calculés avec les formules de CG et du MDRD, selon les valeurs du DFG (ml/min/1,73 m ²), obtenues chez les sujets diabétiques de type 2.....	164
Tableau XXX : Comparaison des coefficients de corrélation entre 1/créatininémie (l/ μ mol) et les DFG calculés avec les formules de CG et du CKD-EPI, selon les valeurs du DFG (ml/min/1,73m ²), obtenues chez les sujets diabétiques de type 2.....	165
Tableau XXXI : Comparaison des coefficients de corrélation entre 1/créatininémie (l/ μ mol) et les DFG calculés avec les formules du MDRD et du CKD-EPI, selon les valeurs du DFG (ml/min/1,73m ²), obtenues chez les sujets diabétiques de type 2.....	165
Tableau XXXII : Comparaison des moyennes des variables anthropométriques entre sujets diabétiques de type 1 avec néphropathie et sujets diabétiques de type 1 sans néphropathie.....	168

Tableau XXXIII: Comparaison des moyennes des variables anthropométriques entre sujets diabétiques de type 2 avec néphropathie et sujets diabétiques de type 2 sans néphropathie.....	169
Tableau XXXIV : Comparaison des moyennes des variables hématologiques entre sujets diabétiques de type 1 avec néphropathie et sujets diabétiques de type 1 sans néphropathie.....	170
Tableau XXXV : Comparaison des moyennes des variables hématologiques entre sujets diabétiques de type 2 avec néphropathie et sans néphropathie.....	170
Tableau XXXVI : Comparaison des moyennes des variables biochimiques (glucidique et lipidiques) entre sujets diabétiques de type 1 avec néphropathie et sans néphropathie.....	171
Tableau XXXVII : Comparaison des moyennes des variables biochimiques (glucidique et lipidiques) entre sujets diabétiques de type 2 avec néphropathie et sans néphropathie.....	172
Tableau XXXVIII : Comparaison des moyennes des variables biochimiques du bilan rénal entre sujets diabétiques de type 1 avec néphropathie et sans néphropathie.....	173
Tableau XXXIX: Comparaison des moyennes des variables biochimiques du bilan rénal entre sujets diabétiques de type 2 avec néphropathie et sans néphropathie.....	174
Tableau XXXX : Comparaison de la fréquence (%) des sujets présentant une variation pathologique des variables biochimiques entre sujets diabétiques de type 1 avec néphropathie et sans néphropathie.....	175
Tableau XXXXI : Comparaison de la fréquence (%) des sujets présentant une variation pathologique des variables biochimiques entre sujets diabétiques de type 2 avec néphropathie et sans néphropathie.....	177
Tableau XXXXII : coefficient de corrélation entre le DFG obtenu à l'aide de la formule du Cockcroft et Gault et les différents paramètres biochimiques de l'étude chez les diabétiques de type 1 ayant ou non une néphropathie.....	179

Tableau XXXXIII: coefficient de corrélation entre le DFG obtenu à l'aide de la formule du CKD-EPI et les différents paramètres biochimiques de l'étude chez les diabétiques de type 2 ayant ou non une néphropathie.....	181
--	-----

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : DFG-Cockcroft et Gault (ml/min/1,73m ²) en fonction de 1/ créatininémie (l/μmol) chez les sujets témoins.....	154
Figure 2 : DFG-MDRD modifié (ml/min/1,73m ²) en fonction de 1/ créatininémie (l/μmol) chez les sujets témoins.....	155
Figure 3 : DFG-CKD-EPI (ml/min/1,73m ²) en fonction de 1/ créatininémie (l/μmol) chez les sujets témoins.....	155
Figure 4 : DFG-Cockcroft et Gault (ml/min/1,73m ²) en fonction de 1/ créatininémie (l/μmol) chez les sujets diabétiques de type 1.....	160
Figure 5: DFG-MDRD modifié (ml/min/1,73m ²) en fonction de 1/ créatininémie (l/μmol) chez les sujets diabétiques de type 1.....	161
Figure 6: DFG-CKD-EPI (ml/min/1,73m ²) en fonction de 1/ créatininémie (l/μmol) chez les sujets diabétiques de type 1.....	161
Figure 7: DFG-Cockcroft et Gault (ml/min/1,73m ²) en fonction de 1/ créatininémie (l/μmol) chez les sujets diabétiques de type 2.....	166
Figure 8: DFG-MDRD modifié (ml/min/1,73m ²) en fonction de 1/ créatininémie (l/μmol) chez les sujets diabétiques de type 2.....	167
Figure 9: DFG-CKD-EPI (ml/min/1,73m ²) en fonction de 1/ créatininémie (l/μmol) chez les sujets diabétiques de type 2.....	167

INTRODUCTION :

Le diabète constitue un véritable problème de santé publique. C'est un « tueur silencieux ». Il tue non pas de lui-même mais par les complications qu'il entraîne au fur et à mesure de son évolution. Les complications qui découlent du diabète sont nombreuses, diverses et variées. Nous en retiendrons deux qui nous intéressent essentiellement : la microangiopathie et la macroangiopathie.

Parmi les complications microangiopathiques on note la néphropathie. Celle-ci se traduit par une modification histologique de la membrane glomérulaire rénale caractérisée par la présence d'albumine dans les urines. Toutefois, l'albumine peut être présente à des concentrations si faibles, qu'elle ne pourrait être détectée par les méthodes utilisées en routine (bandelettes réactives ou techniques colorimétriques). Ces taux d'albumine définissent la micro ou la pauci-albuminurie. Marqueur de la néphropathie diabétique débutante réversible avec un bon contrôle glycémique, la microalbuminurie au même titre que les triglycérides, le cholestérol et ses différentes fractions sériques constitue également chez le sujet diabétique un marqueur de risque cardiovasculaire.

A côté de la microalbuminurie le débit de filtration glomérulaire est aussi un marqueur de la néphropathie au cours du diabète. Le débit de filtration glomérulaire est défini par la quantité de sang qui traverse le glomérule par unité de temps. C'est par ailleurs la clairance d'une substance plasmatique filtrée au niveau du glomérule et totalement excrétée dans les urines sans avoir au préalable été réabsorbée ou sécrétée le long du tubule rénal. Le débit de filtration glomérulaire est déterminé par :

-la clairance rénale de certaines substances exogènes comme des polysaccharides (inuline, sinistrine...) ou des substances radioactives ($\text{EDTA-}^{51}\text{Cr}$, $\text{DTPA-}^{99}\text{Tc}$...). Ce sont les méthodes de référence mais elles sont coûteuses et de mise en œuvre très lourde.

-la clairance rénale de certaines substances endogènes comme la créatinine... Cette méthode n'est pas coûteuse et elle est facile à mettre en œuvre. Elle nécessite un dosage de la créatinine non seulement dans le sérum mais aussi dans les urines. Etant donné que le recueil des urines pour la détermination de la clairance rénale de la créatinine pose beaucoup de problèmes, des formules ont été élaborées pour estimer le débit filtration glomérulaire. Il s'agit notamment de la formule de Cockcroft et Gault, de la formule du MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) qui a été par la suite modifiée. Face aux limites de la formule du MDRD simplifiée, celle du CKD-EPI (Chronic Kidney Disease - Epidemiology) a été récemment conçue.

Fort de ces constats, il semble pertinent d'identifier, parmi les formules de Cockcroft et Gault, du MDRD simplifiée et du CKD-EPI, la mieux adaptée pour estimer le débit de filtration glomérulaire chez les sujets diabétiques de type 1 et de type 2. Il serait également intéressant de rechercher les interrelations qui existeraient entre le débit de filtration glomérulaire d'une

part avec les marqueurs du contrôle glycémique (glycémie, HbA_{1c}) et d'autre part avec les marqueurs biochimiques classiques du risque cardiovasculaire (triglycérides, cholestérol et ses différentes fractions). Les résultats obtenus pourraient sans doute aider à diagnostiquer et à prévenir la survenue des complications rénales et cardiovasculaires chez les sujets atteints de diabète.

Ainsi, pour mener cette étude, nous allons, après une revue de la littérature, énoncer les critères de sélection de la population d'étude, décrire les méthodes utilisées et présenter les résultats et la discussion.

PREMIERE PARTIE : REVUE DE LA LITTERATURE

I. Définition et critères diagnostiques du diabète

I-1. Définition du diabète [5]

Le diabète sucré est un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie chronique qui résulte d'un défaut de la sécrétion de l'insuline ou d'une anomalie de l'action de l'insuline sur ses cellules cibles ou encore de ces deux anomalies associées. Cette hyperglycémie chronique se traduit sur le plan clinique par l'apparition de symptômes cardinaux du diabète à type de polyurie, polydipsie, amaigrissement et quelques fois de polyphagie et de troubles de la vision [5].

I-2. Critères diagnostiques du diabète [4, 5, 44]

Chez un sujet dont l'homéostasie glucidique est normale, la glycémie veineuse à jeun d'au moins 8 heures se situe entre 0,70 et 1,10 g/l et l'hyperglycémie veineuse après 2 heures à la suite d'une charge orale d'au plus 75 g de glucose (HGPO-2h) doit être inférieure à 1,40 g/l.

Le diagnostic de diabète est basé sur la glycémie à jeun et l'HGPO-2h. En effet, le diagnostic de diabète est retenu :

- lorsque, chez un sujet, la glycémie à jeun, sur deux jours consécutifs, reste supérieure ou égale à 1,26 g/l.
- lorsque, chez un sujet présentant des signes cliniques cardinaux du diabète, à un moment quelconque de la journée, la glycémie est supérieure ou égale à 2g/l.
- lorsque, chez un sujet, la glycémie à jeun est comprise entre 1,10 g/l et 1,26 g/l et l'HGPO-2h est supérieure ou égale à 2 g/l.

D'autres anomalies de la régulation de l'homéostasie glucidique sont également définies. Elles précèdent le plus souvent l'apparition du diabète. Il s'agit notamment de l'hyperglycémie modérée à jeun et de l'intolérance au glucose.

Dans l'hyperglycémie modérée à jeun, la glycémie à jeun est comprise entre 1,10 g/l et 1,26 g/l.

Dans l'intolérance au glucose, l'HGPO- 2h est comprise entre 1,40 g/l et 2 g/l.

Les valeurs seuil de 1,26 g/l pour la glycémie à jeun et de 2 g/l pour l'HGPO-2h sont retenues car elles correspondent aux valeurs de la glycémie à partir desquelles la rétinopathie apparaît le plus souvent chez les sujets diabétiques. A ces valeurs de glycémie s'associent des valeurs d'HbA_{1c} qui permettent d'adopter, des critères diagnostiques du diabète, en sus des

critères mentionnés ci-dessus. Ainsi, lorsque les résultats de la glycémie à jeun de même que de l'HbA_{1c} sont simultanément disponibles, le diagnostic du diabète est retenu si :

- la glycémie à jeun est supérieure ou égale à 1,26 g/l et l'HbA_{1c} supérieure ou égale à 6,5%
- la glycémie à jeun pour une première fois est supérieure ou égale à 1,26 g/l tandis que l'HbA_{1c} est inférieure à 6,5% et que pour une seconde fois la glycémie à jeun est supérieure ou égale à 1,26 g/l même si l'HbA_{1c} reste inférieure à 6,5%.
- la glycémie à jeun pour une première fois est inférieure à 1,26 g/l alors que l'HbA_{1c} est supérieure ou égale à 6,5% et que pour une seconde fois la glycémie à jeun est inférieure à 1,26 g/l mais que l'HbA_{1c} reste supérieure à 6,5%.

II- Rôle de l'insuline dans l'homéostasie glucidique [5, 26, 38, 67, 74, 115, 135]

Au cours d'un repas, le glucose présent dans la lumière intestinale induit la sécrétion du GLP-1 (Glucagon-like peptide 1) par les cellules L du jéjunum, de l'iléon et du côlon. Avec les acides gras libres, le glucose provoque aussi la sécrétion du GIP (Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide) par les cellules K du duodénum. Par la production de ces incrétines (GIP, GLP-1), l'appareil digestif annonce à l'organisme l'absorption de glucose. Les cellules β du pancréas se préparent en conséquence en augmentant la biosynthèse et la sécrétion de l'insuline; ce qui doit permettre l'atténuation de la vague d'hyperglycémie postprandiale. Dans le processus d'installation du DT2, la réponse pancréatique à la stimulation des incrétines est abolie [38].

En période postprandiale, le glucose, à un taux élevé dans le plasma (portal), diffuse à travers la membrane plasmique et se retrouve dans le compartiment intracellulaire de la cellule β des îlots de Langerhans du pancréas. Cette diffusion du glucose est facilitée par une perméase exprimée principalement sur la membrane plasmique des cellules β du pancréas et des hépatocytes où elle contribue à l'équilibre du taux de glucose entre le compartiment extracellulaire et le compartiment intracellulaire. Cette perméase est appelée transporteur GLUT2. Elle est spécifique au glucose, non insulino-dépendante, avec une faible affinité, d'où son intervention seulement en période post-prandiale lorsque la glycémie (portale) est élevée [26]. Dans la cellule β du pancréas, le glucose est phosphorylé en glucose-6-phosphate en présence d'ATP par l'hexokinase. Cette phosphorylation, en soustrayant le glucose dès son entrée dans la cellule, maintient un gradient de concentration entre les compartiments extra- et intra-cellulaires favorable à son entrée dans la cellule ; en plus, la molécule de glucose-6-

phosphate chargée négativement au niveau de son groupement phosphoryle ne peut plus retraverser la membrane plasmique [26]. Cette réaction de phosphorylation du glucose est la première réaction dans la voie glycolytique d'Embden-Meyerhoff. C'est une réaction limitante de la glycolyse. Cette voie glycolytique avec le cycle tricarboxylique de Krebs produit de l'énergie sous forme d'ATP qui inhibe le canal potassique ATP-dépendant. Il s'en suit une dépolarisation de la membrane plasmique de la cellule β du pancréas ; ce qui provoque une ouverture des canaux calciques de la membrane plasmique et une entrée massive du calcium dans le compartiment intracellulaire, entraînant la libération de l'insuline dans le sang par exocytose des granules de sécrétion d'insuline [26, 38, 135]. Pour qu'une surproduction d'ATP ne bloque pas la sécrétion d'insuline, une protéine découple autant que de besoin l'expulsion du proton de la production d'ATP. La protéine découplante (UCP-2 : UnCoupling Protein type 2) est exprimée sur la membrane mitochondriale des cellules β du pancréas. Le fonctionnement inadéquat de cette UCP-2 est impliqué dans le mécanisme moléculaire du DT2 [38].

L'insuline, synthétisée et libérée dans le sang en réponse à un stimulus exercé principalement par un taux élevé de glucose dans le sang portal et accessoirement par des incréтины (GIP, GLP-1), par des acides aminés (leucine, arginine), par une augmentation de la kaliémie dans le compartiment extracellulaire, par un afflux du calcium intracellulaire, exerce son activité principalement au niveau du foie, des muscles et du tissu adipeux [38]. La fixation de l'insuline à des récepteurs spécifiques de la membrane plasmique d'une cellule cible déclenche une cascade d'événements intracellulaires. Les récepteurs possèdent une affinité spécifique pour l'insuline ; il existe un seuil d'action et un effet de saturation des sites. Le nombre de récepteurs varie en fonction de la structure cellulaire considérée et des conditions physiologiques et pathologiques. L'affinité pour l'insuline est telle qu'elle ne nécessite pas la saturation de l'ensemble des récepteurs pour une activité maximale. L'activation de la voie signalétique persiste même si l'insuline se détache de son récepteur [135].

La stimulation de l'activité tyrosine kinase intrinsèque du récepteur de l'insuline constitue l'événement initial, il entraîne une augmentation de la phosphorylation des tyrosines du récepteur, puis la phosphorylation d'une ou plusieurs molécules substrats du récepteur de l'insuline (IRS 1 à 4). Cette augmentation des phosphotyrosines stimule l'activité de nombreuses molécules intracellulaires telles que des protéines kinases, des kinases de lipides, qui jouent toutes un rôle dans certaines actions métaboliques de l'insuline. Ces actions

métaboliques sont fonction des cellules cibles considérées. La régulation du nombre de récepteurs est sous la dépendance de l'insulinémie. Deux types d'anomalies des récepteurs de l'insuline peuvent être envisagés :

- une diminution du nombre absolu des récepteurs
- une anomalie du fonctionnement des récepteurs, expliquant, par exemple, une diminution de l'activité biologique malgré une hyperinsulinémie [115, 135].

AU NIVEAU DU FOIE,

L'insuline induit la synthèse de la glucokinase qui catalyse la phosphorylation du glucose en glucose-6-phosphate. Avec comme but principal le stockage de l'énergie excédentaire, le glucose-6-phosphate, sous l'influence de l'insuline, s'engage dans trois voies métaboliques différentes [74]:

-le glucose-6-phosphate s'engouffre dans la glycogénogenèse. En effet, l'insuline, via l'activation de la protéine phosphatase- 1, maintient la glycogène synthase sous forme activée. En plus, le glucose (d'origine alimentaire) inactive directement la glycogène phosphorylase bloquant ainsi la glycogénolyse. Ceci est observé dans les hépatocytes et les myocytes [74, 135].

-le glucose-6-phosphate emprunte la voie de la glycolyse. En effet, l'insuline induit la synthèse de l'enzyme phosphofructokinase-1 qui est l'enzyme impliqué dans la principale réaction limitante de la glycolyse. Les deux principaux produits de cette voie glycolytique dans le foie et le tissu adipeux sont l'acétyl-CoA utilisable dans la synthèse des acides gras et du cholestérol et le glycérol-3-phosphate impliqué avec les acides gras dans la synthèse des triglycérides et des glycérophospholipides [26, 74, 135].

-le glucose-6-phosphate prend enfin la voie des pentoses monophosphates. Dérivé de la glycolyse, le shunt des pentoses a pour but d'être source de NADPH, H^+ , coenzyme réduit nécessaire aux réactions de synthèse des acides gras et du cholestérol [26,74, 135].

Par ailleurs, l'insuline, en activant une phosphatase, maintient indirectement par déphosphorylation l'acétyl-coenzyme A carboxylase à l'état actif. En plus, avec la disponibilité des substrats provenant de la glycolyse et du shunt des pentoses (acétyl-coenzyme A, ATP, NADPH, H^+), on assiste à la synthèse des acides gras qui, avec le

glycérol-3-phosphate d'origine glycolytique, conduit à la synthèse des triglycérides [26, 74, 135].

De la même manière, l'insuline intervient dans la synthèse du cholestérol. L'insuline active une phosphatase qui procède à la déphosphorylation de l'HMG-CoA réductase, enzyme de la réaction limitante dans la biosynthèse du cholestérol, qui se retrouve à l'état activé. L'accélération de cette réaction limitante par activation de l'HMG-CoA réductase associée à la disponibilité des substrats provenant de la glycolyse et du shunt des pentoses (acétyl-coenzyme A, ATP, NADPH, H⁺) favorisent la synthèse du cholestérol [26, 74, 135].

Enfin, l'insuline stimule le transport des acides aminés et la synthèse des protéines telles que les apolipoprotéines, entre autres, au niveau hépatique et les protéines structurales au niveau musculaire [26, 74, 135].

AU NIVEAU DU TISSU MUSCULAIRE,

L'insuline induit la translocation du transporteur GLUT4, perméase insulino-dépendante et à forte affinité pour le glucose. Cela entraîne un afflux massif de glucose dans la cellule musculaire. A l'intérieur de celle-ci, l'insuline favorise surtout le stockage du glucose sous forme de glycogène par activation de la glycogénogenèse et par blocage de la glycogénolyse [26].

AU NIVEAU DU TISSU ADIPEUX,

L'insuline induit la translocation du transporteur GLUT4, perméase insulino-dépendante à forte affinité pour le glucose ; d'où un afflux massif de glucose dans la cellule adipeuse. A l'intérieur de celle-ci, l'insuline favorise surtout le stockage du glucose sous forme de triglycérides par activation de la glycolyse, de la voie des pentoses monophosphates et de la lipogenèse et par blocage de la lipolyse [26, 135].

Toutes ces actions combinées de l'insuline contribuent à l'abaissement de la charge glucidique post-prandiale afin que la glycémie retrouve sa valeur à l'état basal et que l'excédent énergétique soit stocké sous forme de macromolécules (glycogène, triglycérides).

FORMATION DE PROTEINES GLYQUEES (hémoglobine glyquée ou HbA_{1c})

Lorsqu'il subsiste une dysrégulation chronique, le glucose excédentaire, circulant dans le sang avec son groupement hydroxyle hémiacétalique, peut réagir de manière spontanée, sans intervention aucune d'une enzyme, avec le groupement aminé du résidu N-terminal ou de la chaîne latérale dibasique d'un peptide ou d'une protéine sanguine ou tissulaire entraînant la formation de protéines glyquées. Cette réaction purement chimique appelée réaction de Maillard se déroule comme suit :

- condensation du groupement carbonyle du glucose avec le groupement aminé de l'acide aminé N-terminal ou d'un acide aminé dibasique en position latérale d'un peptide ou d'une protéine ;
- élimination d'une molécule d'eau créant une imine intermédiaire ou base de Schiff (aldimine), à ce stade la réaction est réversible ;
- réarrangement d'Amadori, réaction pratiquement irréversible, faisant apparaître un nouveau groupement carbonyle (cétimine) [26].

L'HbA_{1c}, produit de Maillard, correspond à la fixation du glucose sur la valine N-terminale de la chaîne β de l'hémoglobine, modifiant ainsi les propriétés physicochimiques de l'hémoglobine. En effet, après glycation, on observe en particulier une modification de charge et une modification de structure de l'hémoglobine. Ces nouvelles propriétés acquises par l'hémoglobine sont exploitées dans le dosage de l'HbA_{1c}.

L'HbA_{1c} est utilisée dans la surveillance du diabète: c'est un marqueur rétrospectif et il est admis qu'il reflète l'équilibre glycémique des 6 à 8 semaines précédant la mesure. En effet, la réaction de glycation est, entre autres, dépendante de la demi-vie de la protéine sur laquelle le glucose est fixé. En plus, l'HbA_{1c} est actuellement proposée comme critère de diagnostic du diabète [5, 67].

Au niveau rénal, la réaction de Maillard peut se dérouler entre le glucose et des protéines tissulaires telles que le collagène, contribuant ainsi à asseoir les bases de la physiopathologie de la néphropathie au cours du diabète.

III- Métabolisme des lipoprotéines [14, 24, 38, 74].

III-1. Chylomicrons :

Les chylomicrons sont les lipoprotéines de plus basse densité parmi toutes les lipoprotéines. Ils ont une demi-vie de 10 à 20 minutes. A l'état physiologique, ils disparaissent totalement du sérum après 12 heures de jeûn. Les chylomicrons sont synthétisés à partir des lipides alimentaires (triglycérides, cholestérol) par les entérocytes qui synthétisent également leurs apolipoprotéines principales (ApoA-I, ApoB-48). Ils sont sécrétés dans le chyle, circulent dans la lymphe, se jettent dans la circulation sanguine par le canal lymphatique thoracique. Dans la circulation sanguine, les HDL leur cèdent des apoprotéines ApoE (ligand des récepteurs E du foie) et ApoC-II (activateur de la lipoprotéine lipase plasmatique). Arrivés au niveau du myocarde, des muscles ou du tissu adipeux, les chylomicrons, devenus matures, adhèrent à la surface de l'endothélium des capillaires. L'ApoC-II active alors la lipoprotéine lipase plasmatique. Celle-ci procède à l'hydrolyse des triglycérides qui donnent d'une part du glycérol qui gagne le foie (seul organe disposant de la glycérol kinase qui phosphoryle le glycérol en glycérol-3-phosphate, accepteur de groupement acyles ou substrat de la néoglucogénèse) et d'autre part des acides gras qui sont captés par les cellules qui les utilisent comme substrat énergétique (myocarde, muscle) ou qui les recombinent avec le glycérol-3-phosphate (produit de la réduction des trioses phosphates d'origine glycolytique) sous forme de triglycérides de réserve (tissu adipeux). Les chylomicrons deviennent ainsi des remnants, particules résiduelles appauvries en triglycérides et relativement enrichies en cholestérol. Certains remnants participent à la formation des HDL. En effet, ils échangent avec les HDL d'une part des lipides grâce à la CETP (Cholestéryl Ester Transfer Protein), s'enrichissant en esters de cholestérol et s'appauvrissant en triglycérides et d'autre part des apolipoprotéines en restituant aux HDL les ApoC-II et en leur cédant les ApoA-I qui activent la LCAT au sein des HDL. D'autres remnants sont captés dans le foie par endocytose grâce à un récepteur appelé récepteur LRP (LDL-related Receptor Protein) qui se lie spécifiquement à l'Apo E. L'hydrolyse des triglycérides est achevée par la triglycéride lipase hépatique qui libère des acides gras réestérifiés en triglycérides qui sont incorporés dans les VLDL. Le cholestérol libéré est soit éliminé tel quel par la bile dans l'intestin, soit transformé en acides biliaires, soit incorporé dans les VLDL [14, 24, 38, 74].

III-2. VLDL:

Les VLDL (Very Low Density Lipoproteins) sont des lipoprotéines de très basse densité. Elles ont une demi-vie de 4 à 6 heures. A l'état physiologique, elles représentent 5 à 10% des lipoprotéines sériques après un jeûne de 12 heures. Elles sont synthétisées par les hépatocytes, de même que leur apolipoprotéine spécifique (ApoB-100). Leurs triglycérides et cholestérol sont d'origine endogène. Le métabolisme plasmatique des VLDL est analogue à celui des chylomicrons : une fois sécrétées dans le sang, les VLDL s'enrichissent en ApoE et en ApoC-II (cofacteur avec les phospholipides de la lipoprotéine lipase plasmatique) en provenance des HDL. Dès leur arrivée au niveau du myocarde, des muscles ou du tissu adipeux, les VLDL devenues matures s'agrippent à l'endothélium des capillaires. La lipoprotéine lipase, en présence de ses cofacteurs (ApoC-II et phospholipides), entre alors en action en procédant à l'hydrolyse des triglycérides présents dans le core lipidique des VLDL. Il en résulte une libération de glycérol, qui gagne le foie, et d'acides gras qui sont captés par les myocytes et les cellules adipeuses. Par ailleurs, la LCAT (Lécithine Cholestérol Acyl Transférase) estérifie le cholestérol en esters de cholestérol. En conséquence, les VLDL sont transformées en IDL (Intermediary Density Lipoproteins ou lipoprotéines de densité intermédiaire). Ces dernières sont des particules résiduelles appauvries en triglycérides et relativement enrichies en cholestérol. Les IDL sont soit captées par les hépatocytes par l'intermédiaire des récepteurs des LDL, soit transformées en LDL. La transformation des IDL en LDL se fait d'une part par perte d'une très grande part de leurs ApoE et d'autre part par un échange, avec les HDL, de lipides grâce à la CETP, en s'enrichissant de façon absolue en esters de cholestérol et en s'appauvrissant en triglycérides ; et des apolipoprotéines en restituant l'ApoC et en donnant de l'ApoA [14, 24, 38, 74].

III-3. LDL :

Les LDL (Low Density Lipoproteins) sont des lipoprotéines de basse densité. Elles ont une demi-vie de 3 à 4 jours. A l'état physiologique, elles représentent 50 à 55% des lipoprotéines sériques après un jeûne de 12 heures.

Les LDL sont formées à partir des VLDL via les IDL. Elles sont constituées principalement d'ApoB-100 et de cholestérol libre et estérifié. Elles circulent dans le sang vers le foie (seul organe à même d'éliminer le cholestérol sous forme de sels biliaires), les tissus périphériques et les macrophages. Si les VLDL sont rapidement catabolisées (demi-vie 4 à 6 heures), il n'en est pas de même des LDL dont la demi-vie dépasse plusieurs jours. Les LDL peuvent passer à travers les jonctions intercellulaires, entre les cellules endothéliales capillaires, et se fixer aux récepteurs des LDL des membranes cellulaires qui reconnaissent l'ApoB-100.

Au niveau du foie et des tissus périphériques (myocarde, muscles, tissus adipeux, organes stéroïdogènes), les cellules expriment sur leur membrane plasmique les récepteurs des LDL ou récepteurs apoB/E qui ont pour ligands l'apoB-100 des LDL. Ce récepteur apoB/E peut être régulé par le cholestérol libre intracellulaire. Les LDL intactes sont d'abord reconnues par les récepteurs apoB/E puis internalisées par endocytose ensuite dégradées en acides aminés, acides gras, glycérol et cholestérol. La concentration du cholestérol intracellulaire déclenche les mécanismes régulant la concentration des LDL circulantes. En effet, l'influx de cholestérol inhibe (à l'opposé de l'insuline) la transcription des gènes de l'HMG-CoA réductase, enzyme catalysant la réaction limitante de la biosynthèse du cholestérol. En outre, le cholestérol libre intracellulaire exerce un contrôle négatif de la synthèse des récepteurs apoB/E : d'où une suppression coordonnée de la synthèse et de la capture du cholestérol. Le cholestérol libre intracellulaire est également à même d'induire sa propre estérification en stimulant l'Acétyl-CoA Cholestérol Acyl Transférase (ACAT).

Au niveau de la membrane cellulaire des macrophages, sont également exprimés des récepteurs éboueurs SR-AI et II (Scavenger Receptor-class I et II). Ces récepteurs ne sont pas régulables par le cholestérol libre intracellulaire. Lorsque les LDL persistent dans la circulation sanguine, elles peuvent être modifiées (principalement par oxydation, accessoirement par glycation...). En conséquence, elles ne peuvent plus être reconnues par les récepteurs apoB/E mais peuvent être reconnues par les SR-AI et II. Elles sont ensuite internalisées par endocytose puis dégradées en acides aminés, acides gras, glycérol et cholestérol. Le cholestérol libre intracellulaire stimule l'ACAT qui le transforme en

cholestérol estérifié. Ce processus intervient « physiologiquement » à concentration normale en LDL et il est majoré en cas d'augmentation de concentration de cette lipoprotéine. Quand les macrophages sont surchargés en esters de cholestérol, ils se transforment en « cellules spumeuses », constituants bien connus des plaques d'athérome. Il existe une corrélation positive entre l'incidence de l'athérosclérose coronarienne et la concentration plasmatique de cholestérol LDL [14, 24, 38, 74].

III-4. HDL :

Les HDL (High Density Lipoproteins) sont des lipoprotéines de haute densité. Les HDL ont une demi-vie de 3 à 4 jours. A l'état physiologique, elles représentent 40 à 45% des lipoprotéines sériques après 12 heures de jeûne.

L'intestin grêle et le foie, principalement, synthétisent les HDL natives constituées de phospholipides, d'apoC, d'apoE, de LCAT (Lécithine Cholestérol Acyl Transférase), de CETP (Cholestéryl Ester Transfer Protein).

En circulant vers les tissus périphériques, les HDL natives donnent aux chylomicrons et aux VLDL de l'apoC et de l'apoE et en reçoivent de l'apoA-I nécessaire à son propre métabolisme. Les HDL natives sont reconnues, par l'intermédiaire de leur apoA-I, par les récepteurs SR-B1 (Scavenger Receptor type B1) exprimés sur la membrane plasmique des cellules des tissus périphériques. Elles extraient alors le cholestérol excédentaire des cellules par le biais des transporteurs ABCA1 (ATP Binding Cassette A1). La LCAT, activée par l'apoA-I, catalyse ensuite, au fur et à mesure, la réaction d'estérification entre le cholestérol extrait, et désormais présent sur la bicouche phospholipidique des HDL natives et l'acide gras du deuxième atome de carbone de la phosphatidyl choline. Il en découle la formation d'une lysolécithine qui est transférée sur l'albumine plasmatique et d'un ester de cholestérol non polaire qui gagne alors le core lipidique de la lipoprotéine qui passe ainsi d'une forme discoïde à une forme sphérique et devient de facto une HDL3.

En circulation vers le foie et les tissus stéroïdogènes, les HDL3 rencontrent les chylomicrons et les VLDL, et grâce à la CETP, leur donnent des esters de cholestérol et reçoivent de leur part des triglycérides et de l'apoC. A la suite de cet échange, les lipoparticules obtenues à partir des HDL3 deviennent pauvres en esters de cholestérol, riches en triglycérides, plus grosses et moins denses : ce sont des HDL2. Celles-ci poursuivent leur chemin jusqu'au foie et aux tissus stéroïdogènes où elles sont reconnues grâce à leur apoA-I

par les SR-B1 exprimés sur la membrane des cellules. Sans subir d'endocytose, les HDL2 délivrent aux cellules les esters de cholestérol. Par ailleurs, leur apoC active la TGLH (Triglycéride Lipase Hépatique) qui procède à l'hydrolyse des triglycérides contenus dans le noyau des HDL2 qui deviennent alors des HDL3. Cette transformation entre HDL2 et HDL3 est appelée cycle des HDL. Les HDL assurent donc le transport inverse du cholestérol qui est conduit des tissus périphériques au foie et aux tissus stéroïdogènes. Dans le foie, le cholestérol est excrété tel quel dans la bile ou transformé d'abord en sels biliaires. Dans les tissus stéroïdogènes, le cholestérol est utilisé en tant que précurseur des hormones stéroïdes (progestérone, androgènes, œstrogènes, glucocorticoïdes, minéralocorticoïdes).

Les concentrations en HDL varient en sens inverse des concentrations en triglycérides plasmatiques et en fonction directe de l'activité de la lipoprotéine lipase. Les concentrations en HDL2, quant à elles, sont inversement corrélées à l'indice de l'athérosclérose coronarienne [14, 24, 38, 74].

IV- Définition, caractéristiques et physiopathologie du diabète de type 1[5, 51, 94, 100].

Le diabète de type 1 correspond à une hyperglycémie chronique suite à une insuffisance ou à une absence totale de sécrétion d'insuline due une destruction partielle en continu ou totale des cellules β insulino-sécrétrices des îlots de Langerhans du pancréas [5]. Le diabète de type 1 est subdivisé en :

IV-1. Diabète de type 1 auto-immun :

Le diabète de type 1 auto-immun apparaît généralement chez le sujet jeune (enfant et adolescent) mais peut aussi survenir à tout âge, y compris après 70 ans. La destruction des cellules β du pancréas, rapide (enfant et adolescent) ou plus lente (adulte), est due à un processus auto-immun authentifié par la présence d'auto-anticorps dirigés contre les cellules β du pancréas ou leurs produits. Ce sous type de diabète est fortement associé aux gènes DQA et DQB du système HLA et est influencé par les gènes DRB. D'autres affections auto-immunes peuvent être associées (vitiligo, maladie de Biermer, maladie d'Addison, maladie de Basedow, thyroïdite d'Hashimoto...) [5].

IV-2. Diabète de type 1 idiopathique :

Il est retrouvé chez une minorité de patients. Certains présentent une insulino-pénie permanente avec une céto-acidose d'origine inconnue ; ce sous type à forte composante héréditaire est plus fréquent chez les sujets d'origine africaine ou asiatique. Chez les africains, une forme voisine se caractérise par une céto-acidose révélatrice après laquelle l'insulinothérapie n'est plus indispensable [5].

IV-3. Physiopathologie :

Le diabète de type 1 auto-immun survient sur un terrain génétique prédisposé. La région du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH ou HLA) sur le chromosome 6p21 (locus désigné IDDM1, et en particulier les allèles HLA DR2, DR3, DQ B1 0201 et DQ B1 0302) reste le déterminant génétique majeur dans la susceptibilité génétique au diabète de type 1 [51,100]. Le VNTR (Variable Number Tandem Repeat) de la région promotrice du gène de l'insuline est identifié comme l'IDDM2. L'allèle d'IDDM2 serait responsable d'une diminution de l'expression thymique du très petit nombre de cellules exprimant le gène de l'insuline, conduisant à un défaut de tolérance immunitaire vis-à-vis de cet autoantigène [102]. D'autres loci à effet non négligeable ont été localisés sur les chromosomes 15q, 11q13,

6q25, 2q31, 6q27, 3q, 10 ou 14q (désignés respectivement IDDM3, IDDM4, IDDM5, IDDM7, IDDM8, IDDM9, IDDM10, IDDM11) [100]. Il faut dire que cette susceptibilité génétique est faible. En effet, dans 85% des cas il n'existe pas d'antécédents familiaux de diabète de type 1. En sus, lorsque la mère est diabétique de type 1, le risque pour l'enfant est de 2 à 3% ; lorsque le père est diabétique de type 1, le risque pour l'enfant est de 4 à 5%. Lorsqu'il existe des frères et sœurs, le risque est de 5% et lorsqu'il s'agit de jumeaux univitellins, la concordance n'est que de 30 à 40% [51].

Cette dernière constatation et le fait que l'incidence du diabète de type 1 augmente à une vitesse plus rapide que ne la causerait une éventuelle sélection génique rendent compte de l'existence de facteurs environnementaux déclencheurs du processus auto-immunitaire. Ces facteurs environnementaux peuvent être nutritionnels, toxiques ou viraux. Les virus pourraient présenter un mimétisme antigénique avec des protéines de cellules β (il existe une séquence peptidique commune entre le virus Coxsackie et la décarboxylase de l'acide glutamique) ; ou encore ils pourraient participer à l'induction d'une apoptose des cellules β . Ce qui peut initier le processus auto-immunitaire. En effet, à la suite d'une apoptose des cellules β du pancréas que pourrait favoriser un virus, les macrophages du pancréas procèdent à la phagocytose des cellules β mortes. Ils vont par la suite présenter les peptides antigéniques aux lymphocytes TCD4, TCD8 et aux lymphocytes B. La sous population de LTCD4 ayant reconnu les peptides antigéniques, se multiplie, se différencie et sécrète des cytokines qui, dans un premier temps, stimulent l'activité des macrophages et, dans un second temps, activent la multiplication et la différenciation des sous populations de LTCD8 et lymphocytes B. La stimulation des macrophages induit la production par ceux-ci de cytokines inflammatoires (IL2, interféron γ , TNF α ...) caractérisant ainsi le développement d'une insulite. Cette dernière est accentuée pendant la phase terminale par l'infiltration très prononcée des lymphocytes CD8 cytotoxiques autour des îlots. A l'instar du développement de cette immunité cellulaire, les plasmocytes issus des lymphocytes B activés procèdent à la sécrétion d'auto-anticorps anti-îlots (islet cell antibody), anti-GAD (décarboxylase de l'acide glutamique), anti-IA2 dirigés contre une tyrosine phosphatase membranaire et anti-insuline. Ces auto-anticorps n'ont pas en eux-mêmes de rôle pathogène mais sont des marqueurs fiables du déroulement du processus auto-immun. La destruction auto-immune des cellules β se déroule à bas bruit pendant des années avant le début brutal du diabète de type 1 auto-immun [51, 94, 100].

L'effondrement du taux d'insuline ou l'absence de sécrétion d'insuline qui fait suite à la destruction des cellules β produit comme conséquence une réduction du taux de translocation des transporteurs GLUT4 au niveau des tissus adipeux et musculaire. Ce qui induit un défaut de captation du glucose par ces tissus, et occasionne une hyperglycémie [145]. En sus, au niveau des tissus adipeux l'insuffisance de la stimulation des récepteurs par l'insuline entraîne le blocage de la glycolyse, de la voie des pentoses monophosphates et de la lipogenèse mais lève l'inhibition sur la lipolyse. La dégradation des triglycérides produit des acides gras et du glycérol. Les triglycérides sont transportés vers les tissus musculaires et le foie ; le glycérol est acheminé vers le foie.

Au niveau des muscles, la réduction de l'action de l'insuline sur les récepteurs entraîne, entre autres conséquences, le blocage de la glycogénogenèse et la stimulation de la glycogénolyse. Le stock de glycogène musculaire est ainsi épuisé. Comme source énergétique, les muscles utilisent alors les acides gras en provenance du tissu adipeux mais également les acides aminés glucoformateurs issus de la dégradation des protéines structurales [26].

L'épuisement du stock de lipides au niveau du tissu adipeux et la dégradation des protéines structurales au niveau musculaire expliquent l'amaigrissement observé chez les patients qui souffrent de diabète [4, 5, 51, 100].

Au niveau hépatique, la diminution ou l'absence de la sécrétion d'insuline ne diminuent pas la captation du glucose par les hépatocytes mais contribuent au redémarrage de la glycogénolyse et de la néoglucogenèse à partir du glycérol, du lactate provenant de la glycolyse musculaire, mais aussi des acides aminés glucoformateurs en provenance de la dégradation des protéines structurales musculaires. Il s'ensuit une hyperglycémie [3, 4, 38, 104]. Au même moment, les acides gras issus de la lipolyse dans le tissu adipeux s'engouffrent dans la β -oxydation en produisant de l'acétyl-CoA, qui, ne pouvant se combiner avec l'oxaloacétate au niveau du compartiment intramitochondrial (car l'oxaloacétate est utilisé dans la néoglucogénèse) emprunte la cétogenèse ou voie de production de corps cétoniques (acétone, acide acétoacétique et acide β -hydroxybutyrique). Le point de départ de la découverte d'un diabète de type 1 est généralement la ceto-acidose [4, 5, 51, 100, 112].

L'hyperglycémie résultant d'une part d'un défaut de captation du glucose par les tissus musculaire ou adipeux et d'autre part de la néoglucogénèse hépatique est responsable d'une

glucosurie qui s'accompagne d'une polyurie par phénomène osmotique. La polyurie quant à elle entraîne par phénomène compensatoire une polydipsie [4, 5, 51, 100, 112, 145].

IV-5. Profil lipidique du diabète de type 1

La lipidémie du diabète de type 1 est caractéristique et elle est fonction du degré du contrôle glycémique.

Ainsi, dans le diabète de type 1 mal équilibré, l'activité de la lipoprotéine lipase est abaissée dans les tissus où elle est régulée par l'insulinémie. Ceci rend compte de l'augmentation de la triglycéridémie, quoique l'élévation des VLDL observée représente généralement une surproduction, combinée dans les cas les plus sévères à une diminution de la clairance. Une élévation du taux des LDL peut coexister lorsque la déficience en insuline est majeure et se répercute sur la fonction du récepteur des LDL partiellement régulé par l'insulinémie.

Dans le diabète de type 1 équilibré, l'activité de la lipoprotéine lipase est habituellement normale, les taux de triglycérides, de VLDL et de LDL sont généralement normaux, de même que les taux de HDL [74].

V- Définition, caractéristiques et physiopathologie du diabète de type 2

V-1. Définition et caractéristiques

Le diabète de type 2 était autrefois appelé diabète non insulino-dépendant ou diabète de l'adulte. Il représente actuellement 90 à 95 % des cas de diabète. Il inclut les patients qui présentent une insulino-résistance associée à une insulino-pénie relative (plutôt qu'absolue) tout au moins à l'entame de la maladie. Les patients diabétiques de type 2 n'ont pas souvent besoin d'un traitement à l'insuline pour survivre. Il existe sans doute différentes causes pour cette forme de diabète. Bien que les étiologies spécifiques du diabète de type 2 ne soient pas encore connues, la destruction auto-immune des cellules β n'intervient pas, de même que les autres causes des autres formes de diabète [4, 5, 38, 50, 74, 100, 135].

La plupart des patients atteints de diabète de type 2 sont obèses. L'obésité elle-même provoque un certain degré de résistance à l'insuline. Les patients qui ne sont pas obèses selon les critères de poids traditionnels présentent une répartition androïde des graisses [4, 5, 38, 50, 74, 100, 135].

Dans cette forme de diabète, la céto-acidose se produit rarement de manière brutale et elle survient généralement en association avec le stress induit par une autre maladie comme une infection. Ce type de diabète reste fréquemment non diagnostiqué pendant des années du fait que l'hyperglycémie se développe progressivement pour ne laisser apparaître les signes cliniques cardinaux du diabète que très tardivement. Néanmoins, ces patients ont un risque accru de développement de complications micro et macroangiopathiques [5, 38, 50, 74, 100, 135].

Dans le diabète de type 2, la sécrétion d'insuline est insuffisante pour compenser la résistance à l'insuline. Cette insulino-résistance peut s'améliorer avec la réduction du poids et / ou le traitement pharmacologique de l'hyperglycémie. Le risque de développer cette forme de diabète augmente avec l'âge, l'obésité et le manque d'activité physique. Le diabète de type 2 survient plus fréquemment chez les femmes ayant développé un diabète gestationnel et chez les sujets souffrant d'hypertension ou de dyslipidémie [5, 38, 50, 74, 100, 135].

Le diabète de type 2 est souvent associé, comme le diabète de type 1 auto-immun, sinon plus que celui-ci, à une forte prédisposition génétique. Lorsque l'un des deux parents est

diabétique, le risque pour les enfants est de 30% mais, lorsque les deux parents sont atteints, le risque pour les enfants est de 50%. Cependant, la génétique de cette forme de diabète est complexe et pas clairement définie. Une faible association entre le diabète de type 2 et 10 gènes répertoriés a été démontrée, et le peu de variants de susceptibilité connus (PPARG, KCNJ11) n'augmente que très légèrement le risque de survenue du diabète de type 2. Il a récemment été identifié, dans 20% des cas, un gène majeur de susceptibilité du diabète de type 2 (TCF7L2). Ce gène est associé à l'altération de la sécrétion de l'insuline [43, 58, 85, 97, 141].

V-2. Insulinorésistance

L'insulino-résistance correspond à une diminution de la sensibilité tissulaire (foie, muscles, tissu adipeux...) aux effets de l'insuline. Chez le sujet diabétique de type 2, l'insulinorésistance se traduit comparativement aux sujets normoglycémiques par une réduction de l'influx du glucose dans les tissus périphériques, particulièrement dans les tissus musculaire et adipeux. Cette diminution du flux du glucose insulino-dépendant fait suite à un défaut de translocation des transporteurs du glucose GLUT4 du cytosol vers la surface cellulaire [46, 145]. Cette défaillance de translocation s'explique principalement par les deux mécanismes suivants:

- Primo, après fixation de l'insuline sur son récepteur, l'utilisation de la résonance magnétique a révélé, chez le diabétique de type 2, une inhibition de la phosphorylation des résidus tyrosine de l'IRS (Insulin Receptor Substrate), ce qui entraîne une diminution dans l'association entre l'IRS et les sous-unités régulatrices du phosphatidylinositol 3 kinase (p85). On assiste alors à une réduction de la cascade de la voie signalétique de l'insuline responsable de la stimulation de l'entrée du glucose dans le compartiment intracellulaire par translocation des transporteurs GLUT4 des vésicules intracellulaires vers la membrane plasmique [46, 135, 145].
- Secundo, chez les patients diabétiques de type 2, surtout ceux qui présentent une obésité ou une répartition androïde des graisses, le tissu adipeux, par levée de l'inhibition insulino-dépendante de la lipolyse, libère une quantité massive de triglycérides et surtout d'acides gras libres à destination particulièrement des cellules musculaires. En outre, le tissu adipeux libère des adipocytokines (TNF- α , IL-6, résistine) à action antagoniste de l'insuline. Ces adipocytokines participent activement à la stimulation de l'oxydation des acides gras libres qui arrivent dans le compartiment

intracellulaire des cellules musculaires en stimulant une protéine kinase AMP-dépendante. Les métabolites (acyl-CoA, diacylglycérol) générés par l'oxydation de ces acides gras libres s'accumulent dans le compartiment intracellulaire et stimulent la protéine kinase C qui, à son tour, procède à la phosphorylation des résidus sérine de l'IRS, occasionnant ainsi une réduction dans la transduction du signal de l'insuline responsable de la translocation des perméases GLUT4 [46, 135, 145].

Par ailleurs, le foie, dont la sensibilité à l'insuline est diminuée, procède, en permanence (i.e. même en période post-prandiale), à une production excessive de glucose. Cela passe principalement par la néoglucogenèse de sensibilité moindre à l'insuline et accessoirement par la levée de l'inhibition insulino-dépendante de la glycogénolyse. En effet, la β -oxydation de l'importante quantité des acides gras libres qui parviennent aux hépatocytes, génère en abondance des cofacteurs (ATP, acétyl-CoA, NADH) nécessaires à la gluconéogenèse. Cette néoglucogenèse est activée, même en période post-prandiale, par le glucagon libéré en excès dans le sang par les cellules α du pancréas via la stimulation de l'expression des gènes qui codent pour les enzymes clés de la néoglucogenèse tels la phosphoénolpyruvate carboxykinase ou la glucose-6-phosphatase [15, 33, 73, 97, 113].

La réduction de la captation du glucose par les tissus périphériques (muscles, tissu adipeux...) et la surproduction de glucose par le foie, qui font suite à l'insulinorésistance, conduisent à une hyperglycémie chronique. Mais, tant que la capacité résiduelle de sécrétion d'insuline par les cellules β n'est pas diminuée à hauteur de 50%, on observe une hyperinsulinémie compensatrice qui permet le maintien d'une homéostasie glucidique normale. La transition de cet état pré-diabétique à l'état de diabète de type 2 se caractérise par une diminution de l'insulinosécrétion compensatrice. Cette réduction de l'insulinosécrétion due à la baisse de la masse des cellules β du pancréas par apoptose a probablement des origines génétiques, certainement polygéniques, mais également des facteurs aggravants peuvent intervenir [95, 135, 142] :

- Les dépôts d'amyline (islet amyloid polypeptide ou IAPP, polypeptide pancréatique co-sécrété en même temps que l'insuline) qu'on retrouve en excès dans la cellule β des patients diabétiques de type 2 comparativement aux sujets non diabétiques.

- L'accumulation de triglycérides dans les cellules β pancréatiques secondaire à l'augmentation chronique de la concentration des acides gras et des triglycérides dans le plasma conduisant au phénomène de lipotoxicité
- L'hyperglycémie accroît l'insulino-résistance, contribuant ainsi à la majoration du déficit insulinosécrétoire : c'est le phénomène de la glucotoxicité.
- La glycation avancée, particulièrement au niveau du promoteur du gène de l'insuline
- Plus pertinent est le rôle des espèces réactives de l'oxygène produites en excès dans le diabète mal contrôlé. Dans les cellules β , la production mitochondriale d'ions superoxyde, induite par l'hyperglycémie, active la protéine UCP2 (UnCoupling Protein 2, protéine découplante type 2), résultant de la décroissance du ratio ATP/ADP intracytosolique, et de la sécrétion de l'insuline stimulée par le glucose. Sécrétion de l'insuline, diminution de l'ATP et du ratio ATP/ADP, hyperpolarisation anormale de la membrane mitochondriale, toutes ensemble avec une hyperexpression d'UCP2, des complexes I et V de la chaîne respiratoire, et un niveau élevé des marqueurs du stress oxydatif (nitrotyrosine) sont présentes dans les îlots de Langerhans du pancréas des diabétiques.

Les cellules β pancréatiques, génétiquement programmées et ayant subi ces différentes agressions, entrent en apoptose ou deviennent fonctionnellement altérées. Dès lors, la sécrétion de l'insuline par ces cellules β du pancréas devient qualitativement défectueuse, quantitativement réduite et dynamiquement inappropriée.

Au plan qualitatif, suite à des défauts primaires de maturation polypeptidique (impliquant les endopeptidases PC1, PC2...), il y a, de la part des cellules β , une libération massive de précurseurs immatures de l'insuline (proinsuline intacte, proinsuline clivée en 32-33 ou en 64-65) qui n'ont pas l'activité biologique escomptée de l'insuline mature. En effet, chez le diabétique de type 2, il existe un déficit réel en insuline circulante masqué par une circulation à hauteur de 40% de ces prohormones au lieu de 5% par rapport à la quantité totale d'insuline plasmatique [122].

Au plan quantitatif, l'insulino-résistance entraîne pendant 10 à 20 ans un hyperinsulinisme permettant pendant des années de maintenir la glycémie à jeun inférieure à 1,2 g/l. Généralement, le diagnostic du diabète de type 2 est établi 10 ans après le début de l'apoptose des cellules β . Il est à préciser qu'au moment du diagnostic, la capacité résiduelle de sécrétion

de l'insuline est diminuée de 50% ; puis l'insulinémie décroît progressivement en même temps que la glycémie à jeun dépasse 1,2 g/l. Cette régression de l'insulinémie se poursuit de sorte qu'au bout de 6 ans après le diagnostic du diabète de type 2, il y a une perte surajoutée de 15% de la capacité résiduelle de la sécrétion d'insuline [57, 130]. L'insulinodéficiency est d'abord relative puis elle devient absolue lorsque la glycémie à jeun dépasse 2 g/l. L'histoire naturelle de la mort cellulaire de la masse des cellules β du pancréas dure 20 à 25 ans [44].

Au plan dynamique, chez les patients diabétiques de type 2, à l'état basal, on observe une réduction ou une absence des pics de sécrétion rapide. Chez le diabétique de type 2, la sécrétion d'insuline stimulée est marquée par un abolissement de la première phase et la dernière phase est réduite et retardée. La première phase de sécrétion de l'insuline est fondamentale dans la transition entre l'état de jeûne et l'état post-absorptif et postprandial dans la mesure où elle contribue à l'inhibition de la production de glucose par le foie, à l'inhibition de la lipolyse au niveau du tissu adipeux, à la préparation des cellules cibles à l'action de l'insuline. L'altération de la première phase intervient tôt dans le processus d'installation du diabète de type 2 puisque cette phase est observée dans l'hyperglycémie modérée à jeun et dans l'intolérance au glucose [95, 101].

V-3. Dyslipidémie associée à l'insulino-résistance [48, 50, 74]:

Le diabète de type 2 n'est pas la seule conséquence de l'insulinorésistance et de l'hyperinsulinisme compensateur qui en résulte. En effet, d'autres anomalies métaboliques lui sont associées. Au premier rang de ces anomalies, il y a la dyslipidémie caractérisée par :

- une élévation des VLDL véhiculant particulièrement les triglycérides dans le sang

L'insulino-résistance au niveau du tissu adipeux se manifeste par une diminution de la captation des acides gras libres par les cellules graisseuses. Elle est due à une lipolyse exacerbée des triglycérides et une libération exagérée d'acides gras libres dans le sang ; ce qui expose, de manière permanente, le foie à une importante charge d'acides gras libres. Ces acides gras libres jouent un rôle direct de stimulation de la sécrétion de VLDL et donc des triglycérides par les hépatocytes. L'hypertriglycéridémie due à l'insulinorésistance peut être considérée comme un match de ping-pong que joueraient les cellules adipeuses et les cellules hépatiques, où les VLDL et les AGL représentent les balles de ping-pong qui conduisent l'énergie de part et d'autre entre le foie et le tissu adipeux.

A l'opposé, des acides gras libres, et contre toute attente, l'hyperinsulinémie compensatrice ne joue pas de manière directe un rôle de stimulation de la synthèse des VLDL par le foie. Elle intervient dans la genèse de l'hypertriglycémie en exerçant une action inhibitrice sur la lipoprotéine lipase plasmatique dans la mesure où l'insuline provoque une surexpression de l'apoCIII.

-un taux normal de LDL par rapport à la population générale et une production de LDL petites, denses et particulièrement oxydables

Dans le plasma, les collisions entre VLDL et LDL, en présence de CETP, stimulent le transfert de triglycérides, des VLDL vers les LDL en échange avec du cholestérol estérifié. Les LDL ainsi enrichies en triglycérides, deviennent des substrats privilégiés de la triglycéride lipase hépatique (et probablement de la lipoprotéine lipase plasmatique). L'hydrolyse des triglycérides contenus dans ces LDL conduit à la formation de LDL petites, denses et particulièrement oxydables.

- une diminution des HDL

L'une des deux principales sources de HDL est la libération de composants de surface des chylomicrons et des VLDL au cours de l'hydrolyse des triglycérides de ces lipoprotéines par la lipoprotéine lipase. Dans le syndrome d'insulinorésistance avec hyperinsulinémie, l'insuline, en se fixant sur l'élément de réponse à l'insuline (IRE) retrouvé sur le promoteur de l'apoCIII, provoque une surexpression de l'apoCIII (puissant inhibiteur de la lipoprotéine lipase). Il s'ensuit une diminution de l'activité de la lipoprotéine lipase et donc une diminution de l'une des sources de production de HDL.

VI- Physiopathologie des complications macrovasculaires au cours du diabète [26, 38, 40, 74, 92, 100, 103, 112]

L'athérome du diabétique n'a pas de particularité anatomique par rapport à l'athérome observé chez les sujets non diabétiques. Sa gravité clinique n'est pas fonction de la durée et de l'importance de l'hyperglycémie, bien que celle-ci puisse influencer sa constitution (modifications des composants lipidiques athérogènes et des facteurs de la coagulation). Elle est plus fréquente, plus précoce et plus grave que chez les non diabétiques et n'épargne pas les femmes diabétiques non ménopausées. Elle est proportionnelle à l'importance des facteurs de risque cardiovasculaire associés. Cet excès de risque concerne à la fois les diabétiques de type 1 et ceux de type 2 et affecte aussi les sujets ayant une simple intolérance au glucose. Les mécanismes conduisant aux lésions athéroscléreuses sont probablement univoques, la maladie diabétique, avec son lot de perturbations métaboliques, ne ferait qu'accélérer ces phénomènes.

L'athérosclérose est une pathologie inflammatoire chronique de l'intima des artères de gros et moyen calibre, causée par les lipoprotéines de très basse (VLDL) ou de basse densité (LDL) modifiées (oxydation, glycation, acétylation...). Elle résulte d'une cascade d'interactions complexes entre 3 types d'acteurs :

- des acteurs plasmatiques : les LDL ;
- des acteurs cellulaires circulants : monocytes, lymphocytes T, thrombocytes ;
- des acteurs cellulaires pariétaux : cellules endothéliales (intima), cellules musculaires lisses (média) et matrice extracellulaire.

Les lipoprotéines, sous l'effet de la pression artérielle, s'infiltrant et sont retenues par liaison aux protéoglycannes et à l'élastine dans l'espace sous-endothélial. Les cellules endothéliales produisent des radicaux libres oxygénés (RLO) qui vont modifier les LDL par oxydation. Les LDL oxydées ne sont plus reconnaissables par leurs récepteurs au niveau des cellules musculaires lisses. Leur accumulation dans l'espace sous-endothélial et leur modification déclenchent une réponse défensive de la part des cellules endothéliales. En effet, celles-ci procèdent à un recrutement de cellules inflammatoires par une expression accrue de molécules d'adhésion des cellules vasculaires (VCAM-1 : Vascular Cell Adhesion Molecule ; ICAM-1 : Intracellular Adhesion Molecule -1). Ces molécules interagissent préférentiellement avec les monocytes et les lymphocytes T. Par ailleurs, les cellules

endothéliales activées augmentent l'expression de cytokines telles que la protéine chimiotactique monocyttaire (MCP-1 ; Monocyte Chemotactic Protein-1) qui activent le passage à travers les jonctions interépithéliales des monocytes adhérents et le facteur de stimulation de la colonisation monocyttaire (M-CSF; Monocyte- Colony Stimulating Factor) qui active la différenciation des monocytes en macrophages.

Ces cellules synthétisent et sécrètent des chimiokines qui entretiennent leur recrutement et leur prolifération.

Les macrophages fixent de manière non spécifique les LDL oxydées par leurs récepteurs éboueurs SR-A I et SR-A II, puis les internalisent ainsi que leur contenu en cholestérol. Etant donné que, d'une part ces récepteurs éboueurs ne sont pas régulés par le contenu intracellulaire en cholestérol des macrophages contrairement aux récepteurs spécifiques des LDL et, d'autre part les macrophages ne sont pas à même de cataboliser le cholestérol, il va sans dire que l'on assiste à une accumulation considérable et non contrôlée de cholestérol dans les macrophages. Ces derniers vont alors se métamorphoser en cellules spumeuses, « bourrées » de vacuoles lipidiques. Les cellules spumeuses, en se regroupant, concourent à la formation des stries lipidiques qui constituent les lésions précoces de l'athérosclérose. A cela s'ajoute le fait que les macrophages pariétaux continuent la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (TNF : Tumor Necrosis Factor ; IL-1 : Interleukine-1) contribuant à la chronicité, à l'exacerbation et à l'amplification de la réponse inflammatoire au sein de la lésion, et à l'entretien de la production de radicaux libres oxygénés (RLO).

La surcharge lipidique continue, le maintien de l'inflammation et la production accrue d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) conduisent inéluctablement à la mort par apoptose ou par nécrose des macrophages et des cellules spumeuses. Il s'en suit une libération de débris cellulaires et du contenu lipidique qui concourent à la formation du centre lipidique ou centre nécrotique de la lésion d'athérosclérose.

Les cellules musculaires lisses (CML) s'infiltrant, à partir de la média, dans l'intima. Cette migration est déclenchée par de nombreux facteurs de croissance et cytokines synthétisés et sécrétés par les macrophages et les cellules spumeuses. Elles prolifèrent sous l'action de facteurs de croissance (p. ex. le PGDF, Platelet Derived Growth Factor, produit par les lymphocytes T en particulier). Elles subissent une transition du phénotype contractile vers le phénotype sécrétoire à l'origine de la synthèse d'une matrice extracellulaire riche en éléments fibreux, en particulier le collagène. La plaque d'athérome est ainsi constituée d'un cœur

nécrotique et lipidique recouvert, vers la face luminale de la lésion, par une chape fibreuse formée de cellules musculaires lisses noyées dans une matrice extracellulaire fibreuse, plus ou moins abondante. La cohésion de la plaque ainsi que sa stabilité sont dictées par l'intégrité de la chape fibreuse.

L'athérosclérose est l'origine principale des maladies cardiovasculaires. Les manifestations cliniques, souvent sévères, dépendent de la localisation des plaques d'athérome dans l'arbre artériel et nécessitent souvent une évolution de la lésion athéroscléreuse sur plusieurs dizaines d'années. Les complications sont de trois ordres :

- + Dysfonctionnement endothélial par diminution de la vasomotricité liée à la diminution de la production de monoxyde d'azote (qui est vasodilatateur) ;
- + Sténose entraînant une insuffisance de l'oxygénation des territoires vascularisés en aval lorsque leur demande en oxygène augmente (exemple : angine de poitrine)
- + Thrombose : à l'occasion d'une érosion endothéliale ou de la rupture d'une plaque devenue instable, les thrombocytes sont mis en contact avec le sous-endothélium, entraînant la formation d'un caillot (thrombus) obstruant l'artère (exemple : accident ischémique cardiaque ou cérébral) ou se détachant pour aller boucher une artère en aval.

L'athérosclérose est ainsi le résultat d'une réaction inflammatoire qui s'est emballée, mais dont le but originel était l'épuration de la surcharge lipidique intinale.

VI-1. Rôle de l'hyperglycémie [26, 136]:

La responsabilité de l'hyperglycémie chronique dans l'athérogenèse s'établit, entre autres, sur des données biochimiques. L'hyperglycémie chronique agirait comme une répétition d'agressions aiguës du métabolisme cellulaire liées à l'effet toxique du glucose aboutissant à des modifications macromoléculaires irréversibles. L'hyperglycémie chronique agit sur plusieurs cibles du métabolisme cellulaire comme la voie des polyols et l'activité Na⁺K⁺ATPase d'une part, et la voie du diacylglycérol et l'activité protéine kinase C d'autre part. Cependant, c'est surtout par la génération de produits terminaux de glycation avancée (AGE) dont le plus connu est l'hémoglobine glyquée (HbA_{1c}) que l'hyperglycémie participe à la genèse des lésions vasculaires. Ces AGE sont pratiquement irréversibles et répondent à l'amélioration de l'équilibre glycémique.

La liaison des AGE à leurs récepteurs (RAGE) situés à la surface des cellules endothéliales et des macrophages induit d'une part une dysfonction endothéliale augmentant ainsi l'expression des molécules chimiotactiques (GM-CSF, IL-6) et des molécules d'adhésion leucocytaire (VCAM, sélectines) ; et d'autre part, un stress oxydatif.

Par ailleurs, la glycation des apoB des VLDL et LDL induite directement par l'hyperglycémie chronique et l'oxydation des apoB provoquée indirectement via le stress oxydatif par l'hyperglycémie chronique réduisent la captation des VLDL et des LDL par leurs récepteurs normaux (eux-mêmes pouvant être l'objet de glycation) ; en conséquence, la demi-vie des VLDL et des LDL augmente dans le plasma, de même, leur captation via les récepteurs scavengers des macrophages devient plus importante. Ce qui participe à la stimulation générale du processus d'athérogenèse.

VI-2. Rôle de la dyslipidémie [9, 27, 47, 60, 92, 103, 115, 135]

Les anomalies des lipoprotéines diffèrent selon le type de diabète. Au sein de chaque type, la lipidémie est habituellement dichotomisée en relation avec la qualité du contrôle glycémique contemporain [60, 135].

Dans le diabète de type 1 non traité, l'insulinopénie sévère est responsable d'anomalies lipoprotéiniques qualitatives. Cependant, l'insulinothérapie optimisée corrige toutes ces anomalies. Dans le diabète de type 1 traité et correctement équilibré, ne sont donc retrouvées que des anomalies qualitatives. Cependant, ces anomalies qualitatives des lipoprotéines ne sont pas décelables dans un bilan lipidique standard. Néanmoins, les anomalies qualitatives des lipoprotéines retrouvées dans le diabète de type 1 traité sont susceptibles de donner au profil lipidique du patient un caractère athérogène alors que le taux plasmatique des différentes lipoprotéines apparaît normal [60, 135].

Le diabète de type 2 se caractérise par des anomalies quantitatives et qualitatives des lipoprotéines qui concourent au développement de la macroangiopathie. On décrit principalement une augmentation du taux des VLDL, une diminution du taux des HDL. Le taux des LDL chez le diabétique de type 2 est moins élevé que celui observé dans la population générale et les LDL du diabétique de type 2 sont majoritairement composées de LDL petites et denses. Il est rapporté que le risque athérogène est moins élevé dans la population générale que dans la population diabétique de type 2. A y voir de plus près et pris dans son ensemble, le profil lipidique du diabète de type 2 est athérogène à plus d'un titre :

Primo, non seulement il augmente le taux des VLDL qui sont à même de traverser la paroi vasculaire et de s'accumuler dans la plaque athérosclérotique, mais ces VLDL, par le fait qu'elles reçoivent plus d'esters de cholestérol des autres lipoprotéines (HDL...) par le biais d'un transfert médié par le CETP, sont capables de transférer plus de cholestérol à la paroi vasculaire [92,103].

En plus, les VLDL circulantes, surtout avec un taux élevé dans le sang, peuvent entrer en compétition, en période post-prandiale, avec les chylomicrons au niveau de la lipoprotéine lipase plasmatique, diminuant ainsi la clairance des chylomicrons ; ce qui contribue positivement à l'hyperlipidémie post-prandiale qui est indépendamment associée à l'athérosclérose [47].

Secundo, les LDL petites et denses, sont probablement beaucoup plus athérogènes. Elles seraient consubstantiellement beaucoup plus sensibles à l'oxydation (cette sensibilité à l'oxydation est en partie due à la diminution du taux des HDL qui jouent un rôle d'antioxydant des lipoprotéines) ; elles auraient aussi plus de facilité à traverser et à s'accoler au sous-endothélium de la paroi vasculaire. Les LDL petites et denses, mal ou non reconnues par les récepteurs de Goldstein et Brown, stagnent dans la circulation et sont alors sujettes aux phénomènes d'oxydation et de glycation. Epurées par les récepteurs éboueurs des macrophages, elles contribuent alors significativement à la stimulation générale du processus d'athérogenèse [9, 115].

Finalement, le processus d'athérogenèse est amplifié par la réduction du taux des HDL. En effet, la diminution du taux des HDL signifie que moins que ce qu'il fallait de particules de HDL s'engagent dans le transport inverse du cholestérol à partir des tissus périphériques. En outre, la réduction du taux des HDL veut dire que le rôle des HDL en tant qu'antioxydant est revu à la baisse. En conséquence, on assiste à une levée de l'inhibition de l'oxydation des LDL et de l'expression des molécules d'adhésion à l'endothélium des monocytes. Il faut noter en plus que le transfert du cholestérol estérifié des HDL aux VLDL médié par le CETP, non seulement, enrichit une lipoprotéine athérogène en cholestérol mais encore contribue à dévier le cholestérol de sa voie de transport inverse, autrement dit de sa voie normale de dégradation en sels biliaires [27].

VI-3. Rôle de la microalbuminurie [65]

La microalbuminurie est considérée comme un nouveau facteur de risque d'athérosclérose. La microalbuminurie est le marqueur prédictif des affections cardiovasculaires les plus connues chez les patients atteints de diabète de type 2.

Dans la troisième étude transversale de Copenhagen City Heart incluant 2.613 sujets indemnes de diabète et d'affections rénales ou du tractus urinaire, il a été établi une corrélation positive entre le taux d'excrétion urinaire d'albumine durant la nuit et les antécédents d'infarctus aigu du myocarde. Cette association est indépendante de l'âge, du sexe, des facteurs classiques de risque d'athérosclérose et du débit de filtration glomérulaire.

Les sujets présentant une microalbuminurie persistante élèvent leur perte systémique transvasculaire d'albumine à un niveau qui égale celui rencontré chez les patients qui montrent une manifestation clinique sévère d'athérosclérose. Cela ne pourrait s'expliquer ni par les différences dans la pression artérielle ou dans la lipoprotéïnémie (toutes deux étaient plus athérogènes chez les sujets microalbuminuriques), ni par les différences dans le volume plasmatique ou dans l'albuminémie, les facteurs anthropométriques, la sensibilité à l'insuline, ou les habitudes tabagiques. Est émise l'hypothèse selon laquelle la perméabilité systémique transvasculaire devrait aussi inclure les lipoprotéines, occasionnant ainsi une accumulation accrue des lipides dans les parois vasculaires.

La perméabilité pourrait être due à des facteurs hémodynamiques ou à des modifications structurelles ou fonctionnelles de l'endothélium ou de la matrice sous-endothéliale.

VII- Caractéristiques et physiopathologie de la néphropathie diabétique

[7, 15, 28, 31, 42, 59, 63, 80, 81, 94, 111, 117, 119, 122, 127]

VII-1. Caractéristiques

La néphropathie diabétique survient chez 20-40% des patients diabétiques .Il s'agit d'une complication microangiopathique du diabète qui affecte les reins. Elle est d'autant plus redoutable qu'elle peut évoluer en l'absence de surveillance ou de traitement soit vers une insuffisance rénale chronique dans le diabète de type 1 soit vers des complications cardiovasculaires dans le diabète de type 2. Elle constitue la cause principale de l'insuffisance rénale chronique dans le monde. Encore appelée glomérulopathie diabétique, elle se caractérise à ses tous débuts par un trouble hémodynamique caractérisé par une élévation du débit de filtration glomérulaire et par une microalbuminurie; ces signes sont réversibles avec un contrôle de la glycémie pouvant être surveillé par la détermination du taux d'hémoglobine HbA_{1c}. Peuvent ensuite apparaître des modifications histologiques du filtre glomérulaire consistant généralement en son épaissement et en des pertes de charge suite à un mauvais contrôle de la glycémie. L'épaississement de la membrane glomérulaire, associé à la perte de charge, préside à la diminution du débit de filtration glomérulaire. Il s'en suit une élévation du taux plasmatique de substances endogènes normalement éliminées par les reins comme l'urée, la créatinine, la cystatine C...A ce stade, on observe une albuminurie persistante. Au stade de la glomérulopathie diabétique débutante, l'albuminurie est tellement faible que les méthodes de routine deviennent insuffisantes pour quantifier l'albumine dans les urines : on parle de paucialbuminurie ou de microalbuminurie. Au stade déclaré de la glomérulopathie diabétique, l'élimination urinaire d'albumine est si importante qu'on en arrive plutôt au terme de protéinurie.

VII-2. Physiopathologie

A son entrée dans le glomérule rénal, l'artériole afférente se résout en un réseau de capillaires branchés et enroulés en pelotte serrée, le floculus, puis elle forme l'artériole efférente. Contrairement aux autres capillaires, le capillaire glomérulaire présente une grande perméabilité à l'eau (conductivité hydraulique). Comme les autres capillaires, il est relativement imperméable aux macromolécules. Cette propriété fondamentale de filtre sélectif est conférée à la barrière de filtration glomérulaire par l'existence, entre autres, de trois couches structurales : l'endothélium vasculaire et son glycocalyx, la membrane basale glomérulaire et l'épithélium urinaire.

-L'endothélium des capillaires présente des fenestrations, pores transcellulaires de 60-80 nm de diamètre. Ces pores favorisent la traversée vers la chambre glomérulaire de petites molécules (glucose, urée, créatinine, cystatine C...) mais s'opposent au passage de cellules sanguines et de macromolécules de poids moléculaire supérieur à 68 KDa. Les pores mettent en contact direct le plasma avec la membrane basale. L'expression «mettre en contact direct » est à prendre ici de manière relative car il a été démontré très récemment qu'il existe un glycocalyx qui est une couche dynamique d'environ 200- 400 nm d'épaisseur, recouvrant à la fois les domaines fenêtrés ou non de l'endothélium glomérulaire. Il est hydraté, composé en grande partie de glycoprotéines et de protéoglycannes avec des protéines plasmatiques adsorbées. Les protéoglycannes héparane sulfate sont responsables pour une large part des charges négatives caractéristiques du glycocalyx. La suppression du glycocalyx augmente la perméabilité vasculaire aux protéines, à l'albumine en particulier, ce qui témoigne son opposition au passage des macromolécules. Les espèces réactives de l'oxygène qui désorganisent le glycocalyx provoquent une protéinurie massive sans qu'aucune modification de la structure de la barrière de filtration du glomérule ne puisse être identifiée.

-La membrane basale, partie centrale acellulaire de la barrière de filtration glomérulaire, d'épaisseur 240- 340 nm, est en continuité avec la membrane de la capsule de Bowman, au pôle vasculaire. Elle sépare l'endothélium vasculaire de l'épithélium urinaire. C'est une lame basale sécrétée par les cellules endothéliales et les podocytes. Il s'agit d'un maillage de collagènes et de laminines hydratées sur lesquels viennent se greffer des protéoglycannes héparane sulfate chargées négativement. Des concepts traditionnels ont donc conféré à la membrane basale glomérulaire une fonction de barrière sélective vis-à-vis des grosses molécules chargées négativement. Cependant, des analyses récentes indiquent qu'elle

n'apporte qu'une très modeste contribution en tant que barrière s'opposant au passage des protéines.

-L'épithélium urinaire est constitué par les podocytes. Ces derniers reposent sur la lame basale et entourent les capillaires glomérulaires. Les pédicelles, recouverts d'un manteau de glycoprotéines chargé négativement, s'interdigitent avec les prolongements primaires et secondaires d'autres podocytes formant ainsi une sorte de réseau complexe de petites fentes appelées fentes de filtration (25 - 60 nm). Ces dernières sont recouvertes par un mince diaphragme de 2 nm d'épaisseur. Il s'agit d'une structure moléculaire dont on pense qu'elle forme la barrière la plus restrictive au passage de l'eau et des macromolécules. La mutation d'une protéine spécifique des podocytes, à savoir la néphrine, conduit à un syndrome néphrotique congénital indiquant le rôle important des podocytes dans la résistance au passage des macromolécules.

Le mésangium est l'élément de base du tissu intercapillaire de soutien. Il est composé d'une matrice intercellulaire et de cellules mésangiales qui sont des fibroblastes spécialisés possédant des propriétés contractiles et macrophagiques (contrôle du « turnover » du matériel formant la membrane basale).

Le passage des protéines à travers le filtre dépend de plusieurs facteurs :

- Les caractéristiques physico-chimiques du filtre glomérulaire : en particulier, la charge, la taille des pores et la surface disponible aux échanges.
- La taille et la charge électrique des solutés du plasma, en particulier des protéines :

Les molécules de petite taille qui ont un poids moléculaire de l'ordre de 30- 44 KDa, soit un diamètre de 18- 40 angströms, traversent plus facilement le filtre glomérulaire.

Pour deux molécules de tailles superposables, celle qui est neutre ou chargée positivement est favorisée pour son passage à travers le filtre glomérulaire

- Les systèmes de pression intra-rénale que sont :

-Le flux plasmatique rénal qui dépend en partie de la pression systémique et de la résistance des artérioles afférentes et efférentes. Vingt pour cent (20 %) du flux plasmatique sont filtrés. La diminution du débit plasmatique rénal augmente le temps de contact et donc la fraction filtrée ; d'où augmentation de la concentration des protéines dans le capillaire glomérulaire.

-Le gradient de pression hydraulique transglomérulaire qui exprime la différence entre les pressions intracapillaire et intra-urinaire.

$$PTM = (P \text{ entrée} + P \text{ sortie} - \pi \text{ entrée} + \pi \text{ sortie}) / 2 - PUF$$

PTM= Pression transmembranaire

P = Pression hydrostatique

π = Pression oncotique

PUF = Pression de l'ultrafiltrat

Mécanisme de transfert de l'eau et des solutés dans la chambre glomérulaire

Transfert par filtration :

L'eau franchit la barrière glomérulaire, non pas à travers le cytoplasme des cellules, mais plutôt via les lacunes, à travers les cellules ou entre les cellules. La haute conductivité hydraulique est donc fonction de la présence des fenêtres endothéliales et des fentes de filtration podocytaires. La résistance hydraulique est assurée pour une moitié par les deux couches de cellules endothéliale et podocytaire, et pour une autre moitié par la membrane basale glomérulaire.

Transfert par convection :

C'est le transfert simultané de solutés (albumine ...), avec l'eau plasmatique à travers la barrière de filtration glomérulaire, sous l'action de la pression hydraulique transglomérulaire. Le taux de convection d'un soluté dépend du débit de filtration et de son coefficient de réflexion qui est fonction de la taille du soluté. Plus un soluté est grand plus son coefficient de réflexion est élevé et plus le soluté passe à travers le filtre glomérulaire par convection (e.g. : albumine).

$$Q_m = T.Cs.QUF$$

$$Q_m = T.Cs.Kh.S.PTM$$

Q_m = Quantité de soluté transféré par UF

T = Coefficient de tamisage

Cs = Concentration moyenne de soluté

QUF = Débit d'UF

Kh = Coefficient de perméabilité hydraulique

S = Surface de la membrane

PTM = Pression transmembranaire

Transfert par diffusion :

C'est le transfert passif de solutés (urée, créatinine, acide urique...) à travers la barrière de filtration glomérulaire sans passage d'eau plasmatique selon un gradient de concentration. Le taux de diffusion d'un soluté dépend non seulement de sa concentration de part et d'autre de la barrière de filtration glomérulaire mais aussi de sa diffusivité. Un soluté est d'autant plus perméable que sa taille est petite.

$$Q_d = C_m \cdot S \cdot K_o$$

Q_d = quantité d'un soluté traversant la membrane

C_m = gradient moyen de concentration du soluté

K_o = Coefficient global de perméabilité de la membrane

S = Surface de la membrane

La mesure du flux global d'un soluté est donnée par le coefficient de tamisage qui exprime le rapport de la concentration d'un soluté dans l'ultrafiltrat et dans le plasma en un moment donné. Pour l'albumine le coefficient de tamisage est $< 0,001$.

Les solutés de grande taille traversent la barrière de filtration glomérulaire plus par convection que par diffusion tandis que ceux de petite taille préfèrent la diffusion plus que la convection. En ce qui concerne le transfert de l'albumine dans la chambre glomérulaire, la convection et la diffusion contribuent pratiquement dans les mêmes proportions puisque le nombre de Peclet qui exprime le ratio de la contribution de la convection et de la diffusion dans le transfert d'un soluté est pour l'albumine proche de l'unité. En conséquence, une augmentation du débit de filtration glomérulaire se traduira par une élévation du flux de convection de l'albumine. Toutefois, les meilleures estimations indiquent qu'une élévation de 50% du débit de filtration glomérulaire entraînerait une albuminurie mais seulement dans les limites de la sub-microalbuminurie si l'on tient compte de la réabsorption tubulaire de l'albumine présente dans l'ultrafiltrat glomérulaire. Il va sans dire que pour que le transfert de l'albumine soit suffisamment élevé pour pouvoir induire une microalbuminurie en tenant compte de la réabsorption tubulaire de l'albumine, la survenue d'une altération physique de la barrière de filtration glomérulaire doit nécessairement survenir afin d'augmenter le coefficient de tamisage de l'albumine à travers la barrière. Chacune des trois couches de la barrière de filtration glomérulaire contribue pour une part non négligeable à la perméabilité

sélective du filtre aux protéines. Une altération de la sélectivité de chacune de ces couches affecte la perméabilité globale du filtre glomérulaire aux protéines au même degré (*i.e.* une modification de 20% de la perméabilité d'une des trois couches entrainera un changement de 20% de la perméabilité globale de la barrière de filtration glomérulaire). Cela signifie que, dans la survenue d'une microalbuminurie, ce qui compte c'est moins la capacité consubstantiellement restrictive de la couche du filtre glomérulaire atteinte que la modification de sa perméabilité.

Les modifications de la structure du glomérule typiques de la néphropathie diabétique sont perceptibles dès l'apparition de la microalbuminurie. Elles comprennent une prise de volume des capillaires glomérulaires, un épaissement de la membrane basale glomérulaire atteignant 3 à 5 fois la taille normale, une expansion mésangiale et un élargissement des pédicelles des podocytes. Ces changements de la structure du glomérule sont moins marqués chez les diabétiques de type 2, avec seulement un tiers qui répond au schéma classique décrit chez les diabétiques de type 1. L'élargissement des pédicelles des podocytes de même que l'épaississement de la membrane basale glomérulaire sans modification dans sa composition chimique sont faiblement associés à la microalbuminurie. Par contre, dans le diabète de type 1 une forte réduction du volume du glycocalyx systémique due à l'hyperglycémie est fortement corrélée à la présence d'une microalbuminurie.

L'analyse de la perméabilité de la barrière de filtration glomérulaire à des molécules de taille variable chargées électriquement de manière différente peut être mise à contribution dans le but d'estimer si l'augmentation du flux d'albumine dans la chambre glomérulaire est due à une perte, au niveau du filtre glomérulaire, de la sélectivité de taille ou de charge électrique. C'est ainsi qu'il est démontré que, chez des sujets microalbuminuriques non diabétiques, le filtre glomérulaire perd à la fois sa sélectivité de taille et de charge. Par contre, chez des patients diabétiques de type 1 microalbuminuriques, la défaillance dans la sélectivité de charge électrique précède celle de la sélectivité de taille. De même, chez les Indiens Pima diabétiques de type 2, on note une perte de la sélectivité de charge tandis que la défaillance dans la sélectivité de taille n'est détectée que chez ceux qui présentent une macroalbuminurie.

La microalbuminurie est associée, aussi bien chez les diabétiques de type 1 que ceux de type 2, à une élévation des taux sérique et urinaire du VEGF (Vascular Endothelium Growth Factor ou facteur de croissance de l'endothélium vasculaire) sécrété par les podocytes. De même, chez les diabétiques de type 2, la microalbuminurie est associée à l'augmentation du

taux urinaire du TNF α (Tumor Necrosing Factor α ou facteur de nécrose tumorale type α). Comme le VEGF, le TNF α augmente directement la perméabilité vasculaire et, en plus, perturbe la formation du glycocalyx. Pendant ce temps, l'augmentation des taux sérique et urinaire du TGF β (Tumor Growth Factor β ou facteur de croissance tumorale type β) n'est pas associée à la microalbuminurie. Néanmoins, elle reste associée au degré de l'expansion mésangiale (les cellules mésangiales secrètent le collagène de types I et IV de la membrane basale glomérulaire), à la fibrose interstitielle et à l'insuffisance rénale.

Les cellules mésangiales, de par leur contraction, contribuent à l'élévation de la pression transglomérulaire. Certaines substances telles que l'angiotensine II, dont le taux sérique est augmenté au cours de la néphropathie diabétique, exercent leur action vasoconstrictrice sur les cellules musculaires lisses de l'endothélium des artérioles efférentes essentiellement, augmentant ainsi les résistances artériolaires. Pendant ce temps, l'hyperglycémie, par le biais du stress oxydatif, conduit à une vasodilatation rénale. Cette vasodilatation associée à l'élévation des résistances artériolaires concourt à la diminution du débit plasmatique rénal. En conséquence, le débit de filtration glomérulaire, qui ne dépend plus que du flux plasmatique et de la pression transglomérulaire, augmente. C'est l'hyperfiltration glomérulaire qui favorise la filtration des protéines, en particulier l'albumine, probablement aggravée par un déficit en charges électronégatives du filtre glomérulaire. Comme conséquences de ces anomalies hémodynamiques, on note une accumulation de protéines dans le mésangium.

La prolifération mésangiale induite par l'afflux de protéines (albumine, fibrine, IgG, Ig M, C3) et par les facteurs de croissance (TGF β) favorise la sclérose du glomérule qui s'accompagne d'une diminution de la filtration glomérulaire, d'une macroalbuminurie et éventuellement d'une protéinurie.

Les néphrons restants compensent cette perte fonctionnelle par une hyperfiltration glomérulaire (qui entretient le phénomène) responsable d'une perte néphronique progressive aboutissant à l'insuffisance rénale.

Au total, on pourra retenir que les anomalies de l'hémodynamique sont consécutives à la diminution de la surface de filtration des capillaires glomérulaires.

Cette surface de filtration est réduite par l'expansion mésangiale et/ou une réduction congénitale du capital néphronique.

L'hypertension glomérulaire secondaire qui en résulte et, éventuellement, la glomérulosclérose réduisent également la surface de filtration ; d'où l'établissement d'un cercle vicieux

VII-3. Rôle de l'hyperglycémie chronique [17, 52, 98, 138, 139] :

Les modifications de la composition de la membrane basale, de la fonction de la cellule endothéliale, de la prolifération mésangiale, de la fluidité sanguine sont toutes proportionnelles au degré d'hyperglycémie et à sa durée, et peuvent être, au moins corrigées par la réduction de l'hyperglycémie.

L'hyperglycémie agirait comme une répétition d'agressions aiguës du métabolisme cellulaire liées à l'effet toxique du glucose (hypothèse « glucose ») aboutissant à des modifications macromoléculaires et tissulaires irréversibles. Quatre voies métaboliques anormalement activées rendent compte de la constitution de la microangiopathie sous l'effet de l'hyperglycémie chronique [52]:

- Voie des polyols :

Dans cette voie encore appelée voie du sorbitol, le glucose est d'abord réduit en sorbitol par l'aldose réductase. Le sorbitol est ensuite oxydé en fructose par la sorbitol deshydrogénase, avec réduction parallèle du NAD^+ en NADH, H^+ . Parmi les conséquences de l'activation en excès de cette voie par l'hyperglycémie, la diminution du rapport $\text{NADP}^+ / \text{NADPH}, \text{H}^+$ responsable de la non régénération du glutathion réduit et partant de l'aggravation du stress oxydant [17].

- Glycation non enzymatique des protéines :

Les réactions de glycation prennent leur origine dans le milieu intracellulaire, à partir du glucose, mais aussi du fructose et d'autres produits de la glycolyse comme le glyoxal et le méthyl-glyoxal. Ces produits plus réactifs que le glucose forment des produits de la glycation avancée (Advanced Glycation End-products ou AGE), irréversibles. Les conséquences de la formation des AGE, directement ou via leur récepteur (RAGE) sont multiples : anomalie de la perméabilité cellulaire, altération de la matrice extracellulaire (hyperproduction du mésangium, réactions de pontage inter-protéines, modification des charges électro négatives des membranes...), stress oxydant [138, 139]...

- **Activation de la protéine kinase C (PKC) :**

La protéine kinase C est activée par le diacylglycérol, produit en excès par l'hyperglycémie, ou indirectement, via les AGE et leur récepteur (RAGE), l'augmentation du flux de glucose dans la voie des polyols et l'augmentation de l'agression radicalaire. Les conséquences pathologiques de l'activation exagérée de la PKC sont multiples : augmentation de la perméabilité endothéliale, hyperproduction de la matrice extracellulaire (expression du TGF- β , du collagène IV...), activation du facteur de transcription nucléaire NF- κ B [17].

- **Voie des hexosamines :**

L'activation de la voie des hexosamines par l'hyperglycémie chronique conduit à une augmentation de la production du TGF- β et amplifie les effets géniques du NF- κ B [17].

Le stress oxydatif est proposé comme étant le mécanisme commun par lequel ces quatre voies métaboliques suractivées par l'hyperglycémie chronique passent pour apporter leur contribution dans l'induction de la néphropathie diabétique. L'hyperglycémie augmente le stress oxydatif à travers la surproduction de superoxyde et d'autres espèces réactives de l'oxygène au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. L'excès de superoxyde est normalement neutralisé par dismutation catalysée par la superoxyde dismutase mais en cas de diabète les capacités catalytiques de celle-ci sont dépassées. L'excès d'espèces réactives de l'oxygène qui en découle désorganise directement le glycocalyx endothélial, diminue la production glomérulaire d'héparane sulfate et de protéoglycannes, active le NF- κ B qui, à son tour, stimule l'expression des gènes du VEGF, du TNF- α , du récepteur RAGE, des molécules d'adhésion (VCAM-1) [98]...

Plusieurs études ont montré, dans le diabète expérimental, une production glomérulaire accrue d'espèces réactives de l'oxygène et une surexpression transgénique de superoxyde dismutase qui atténue la défaillance rénale, y compris l'augmentation de l'excrétion rénale d'albumine.

L'hyperglycémie est une condition nécessaire au développement de la néphropathie diabétique. Cependant elle n'est pas suffisante. Il reste à expliquer les différences inter-individuelles devant les effets néfastes de l'hyperglycémie sur le glomérule rénal.

VII-4. Rôle des dyslipidémies [32, 60, 68, 75, 84, 107, 137]

La notion selon laquelle les lipides pourraient médier partiellement l'atteinte rénale dans diverses néphropathies, dont la diabétique, est déjà ancienne, lorsque Ruan XZ et coll. émirent l'hypothèse que l'athérosclérose et la glomérulosclérose pourraient avoir des voies physiopathologiques partiellement communes. Ainsi, l'inflammation pourrait accélérer la captation ectopique de lipides circulants et diminuer l'efflux catabolique non seulement au niveau de cellules musculaires lisses mais aussi au niveau mésangial. Ceci est d'autant plus intéressant que des données expérimentales suggèrent qu'en présence de diabète, le tissu rénal semble développer un phénotype d'accumulation lipidique en exprimant des gènes normalement présents seulement au niveau du tissu adipeux [107].

L'effet principal des statines est l'abaissement du LDL-cholestérol. Les effets pléiotropiques des statines tels que la réduction de l'activité de la NADPH oxydase, la réduction de la synthèse de l'endothéline-1, la diminution de l'expression du récepteur AT1, les modifications de l'expression des molécules d'adhésion, ainsi que l'accroissement de l'activité de la NO synthase endothéliale, et l'augmentation du nombre/degré de différenciation des cellules endothéliales circulantes, ont été impliqués dans l'amélioration de la néphropathie diabétique observée expérimentalement chez le rat diabétique [137]. En 2005, il a été montré que, chez le rat diabétique, l'utilisation de la pravastatine s'oppose à une augmentation du taux sérique de la créatinine et à la diminution du débit de filtration glomérulaire [60]. Beaucoup de ces effets pléiotropiques sont médiés par la réduction de la production d'intermédiaires de type isoprène (i.e. *géranyl*) impliqués dans la synthèse du cholestérol en aval de la production de mévalonate, et qui interagissent avec des protéines GTP-ases de signalisation intracellulaire de bas poids moléculaire (notamment *Ras*, *Rho* et apparentées) [32, 131]. Il est intéressant de remarquer que certains de ces mécanismes moléculaires sous-jacents aux effets pléiotropiques des statines sont partiellement communs avec les effets médiés par les fibrates. Ceci étant, si de nombreuses hypothèses et données expérimentales montrent un effet bénéfique des statines sur la néphropathie diabétique, les études interventionnelles humaines dans le diabète n'ont toutefois pas mis en évidence d'effet bénéfique franc sur la néphropathie du diabète. Néanmoins, l'étude FIELD (*Fenofibrate Intervention and Event Lowering in type 2 Diabetes*) a montré une réduction modeste mais significative du taux de progression de la normo- vers la micro- ou de la micro- vers la

macroalbuminurie après traitement prolongé par fénofibrate micronisé (200 mg/j). Au terme de cet essai, un nombre légèrement plus élevé de sujets voyaient leur albuminurie régresser (2.6 % de différence vs. *placebo* ; sujets ne progressant pas ou régressant) [68].

Par ailleurs, Bulum T et coll. ont noté, chez les diabétiques de type 1, des taux sériques de HDL2 plus bas chez les patients présentant une microalbuminurie que chez ceux avec une normoalbuminurie tandis que les taux sériques de cholestérol, de triglycérides, de VLDL, de LDL, de HDL et de HDL3 ne sont pas significativement différents entre les deux groupes de patients [20]. Chez les diabétiques de type 1, l'étude de EURODIAB IDDM Complications Study (2001) a montré que la macroalbuminurie est associée à l'augmentation des taux plasmatiques de cholestérol total, des triglycérides, du LDL-C, du ratio cholestérol/ HDL-C et, chez les femmes, à la réduction des taux plasmatiques de HDL [84].

VII-5. Rôle de la microalbuminurie [6, 27, 55, 69, 83, 86, 87, 96, 133]

L'albumine est une protéine sérique de masse relative 66 KDa. Son transfert glomérulaire est très faible par rapport à son taux sérique. Il existe une réabsorption tubulaire rapidement saturable. Aussi, toute augmentation de l'excrétion urinaire d'albumine est-elle le reflet d'un dysfonctionnement du filtre glomérulaire.

En 1963, KEEN décrit pour la première fois, une méthode radio -immunologique de dosage très sensible de l'albumine dans les urines [69]. Cette méthode permet de quantifier un taux d'albumine urinaire largement inférieur à celui qu'on peut obtenir avec les bandelettes réactives ou les méthodes colorimétriques usuelles.

En 1982, VIBERTI démontra qu'une concentration d'albumine dans les urines, si faible qu'elle ne peut être détectée par les bandelettes réactives ou les méthodes colorimétriques usuelles, permet de prédire le développement d'une néphropathie diabétique [133]. Cette albuminurie a une valeur au-delà de la valeur physiologique normale de l'albumine dans les urines. VIBERTI dénomma cette excrétion d'albumine urinaire anormale : la microalbuminurie.

Il va sans dire que la microalbuminurie se définit comme un taux d'excrétion urinaire d'albumine qui :

-d'une part demeure supérieur à l'albuminurie physiologique;

- d'autre part n'est pas aussi élevé qu'il peut être déterminé par les bandelettes réactives ou les méthodes colorimétriques usuelles.

Il est à préciser que par le terme normoalbuminurie, il faut entendre une concentration physiologique normale d'albumine dans les urines tandis que la macroalbuminurie désigne un taux excrétoire d'albumine dans les urines qui reste si élevé que les méthodes colorimétriques usuelles ou même les bandelettes réactives peuvent le détecter. Dans ce dernier cas le terme protéinurie peut être consacré.

Pour comprendre comment du plasma l'albumine se retrouve en quantité importante dans les urines en cas de néphropathie diabétique, il serait intéressant d'envisager deux situations différentes dans lesquelles interviennent les mécanismes rénaux d'élimination d'une substance plasmatique en tenant compte des facteurs hémodynamiques et biochimiques les influençant.

La néphropathie diabétique (ND) comporte fondamentalement deux phases : la ND discrète et la ND manifeste.

La ND discrète correspond à la néphropathie fonctionnelle, aux lésions rénales histologiques sans traduction clinique et à la néphropathie incipiens dans la classification des différents stades de la néphropathie diabétique par Mogensen. Elle est caractérisée par l'existence d'une hyperfiltration glomérulaire et l'absence d'une glomérulosclérose. Pendant cette phase de la ND, le filtre glomérulaire reste intact, sur le plan histologique, conservant ses pores qui ne laissent passer que des substances qui ont un poids moléculaire inférieur à 70 KDa. Le filtre glomérulaire conserve également, pendant cette phase de la ND, sa charge négative due à la présence à sa surface de glycosaminoglycane-héparane sulfate. Dans ces conditions, des molécules comme l'albumine, qui ont un PM de 66 KDa et qui sont chargées négativement au pH de l'organisme, ne sont pas favorisées à traverser les pores et se voient même repousser. C'est dire donc que la filtration glomérulaire de l'albumine est très limitée dans ce cas. Cependant, à ce stade de la ND, les artérioles glomérulaires ne sont pas à même de développer une vasoconstriction consécutive en réponse à la pression systémique qui arrive à leur niveau. Il en découle d'une part une vasodilatation qui accroît la perfusion glomérulaire et, d'autre part une sortie massive du plasma et de son contenu pour se retrouver dans la chambre glomérulaire. Il s'agit là de l'hyperfiltration glomérulaire qui supplée à la limitation qu'impose l'histologie de la membrane basale glomérulaire. C'est ainsi que l'albumine, dans la ND discrète, se retrouve dans les urines en quantité certes supérieure à celle d'un état

physiologique normal mais inférieure au seuil de détection des méthodes chimiques usuelles ou bien même des bandelettes réactives [87].

La ND manifeste ou organique correspond à la néphropathie clinique et à l'insuffisance rénale terminale dans la classification de la ND par Mogensen. Elle est caractérisée par une importante diminution du DFG. Décroissance du DFG devrait rimer avec absence quasi totale d'albumine, voire de la plupart des protéines plasmatiques dans les urines si l'on tient compte de l'histologie du filtre glomérulaire normal. Toutefois, il n'en est rien. En effet, à ce stade de la ND, on retrouve une quantité exorbitante de protéines en général, et d'albumine en particulier dans les urines. Pour comprendre cette situation il faut remarquer qu'au cours du diabète mal « contrôlé » différents facteurs comme le stress oxydatif, la synthèse accrue de certains facteurs de croissance, etc. vont contribuer à une expression exagérée de collagène de types I et IV au détriment des glycosaminoglycane - héparane sulfate. Il en résulte une modification histologique radicale de la membrane basale glomérulaire (on parle de glomérulosclérose) qui accroît ses pores et tend vers un comportement électrique neutre. Le filtre glomérulaire devient ainsi non sélectif et autorise le passage, du plasma à la chambre glomérulaire, de toutes les protéines plasmatiques, en particulier l'albumine, sans distinction ni de taille ni de charge électrique. Ainsi, au stade de la ND organique, on retrouve des taux élevés de protéines (en particulier d'albumine) dans les urines à telle enseigne qu'on peut les doser avec les méthodes chimiques usuelles ou bien même avec les bandelettes réactives [87].

La microalbuminurie est considérée comme un marqueur prédictif du développement de la néphropathie constituée à un stade de réversibilité du processus pathologique. Ce rôle lui a été attribué en 1982 avec les résultats des premières études longitudinales réalisées par Parving et coll. et Viberti et coll. [96, 133]. En effet, en combinant les données de ces deux études prospectives réalisées respectivement durant 5 et 14 ans, il est apparu que les malades présentaient un risque 20 fois plus élevé de développer ultérieurement une néphropathie par rapport aux malades situés en dessous de ce seuil. Ensuite, en 1984, les études de Mogensen et coll. et Mathiesen et coll. sont venues confirmer le concept [83,86]. Fort de ce constat, la microalbuminurie est devenue un paramètre incontournable en ce qui concerne la surveillance biologique des patients diabétiques de type 1 ou de type 2.

En Afrique sub-saharienne, l'étude de Victoria Hall et coll. montre que 10 à 83% des 7 à 63% de patients qui développent des complications suite au diabète, présentent une microalbuminurie [55]. Au Sénégal, la microalbuminurie est relativement fréquente. En effet,

dans la population étudiée, dans les années 1990, l'étude de Cissé et coll. a révélé que la microalbuminurie concerne environ un diabétique sur cinq et ceci sans distinction de l'âge et du type de diabète, pour une durée de plus de 5 ans de diabète [27].

A présent, une question sûrement pertinente mérite d'être soulevée : la microalbuminurie est-elle aussi sensible dans le dépistage précoce de la néphropathie diabétique pour susciter l'engouement qu'on lui connaît de nos jours ? Bien que le ratio albuminurie/créatininurie (RAC) soit considéré aujourd'hui comme un outil standard de dépistage précoce de la microalbuminurie, on devrait tout de même rester très prudent dans l'utilisation de ce marqueur prédictif. En effet, avec les travaux du NHANES III (Third National Health and Nutrition Examination Survey), 30% des patients diabétiques non insulinodépendants, chez qui il n'y a ni microalbuminurie ni macroalbuminurie (défini par homme : $RAC < 17 \text{ mg/g}$ créatinine ; femme: $RAC < 25 \text{ mg/g}$ créatinine), ont révélé une diminution du DFG ($< 60 \text{ ml/min}$ pour $1,73 \text{ m}^2$). Par ailleurs, d'autres études ont montré que des diabétiques normoalbuminuriques avaient un DFG réduit. Cela signifie qu'utiliser uniquement la microalbuminurie dans le dépistage précoce de la ND n'est pas suffisant [6].

VII-6. Rôle du débit de filtration glomérulaire dans le dépistage de la néphropathie diabétique [6, 34, 35, 59, 62, 65, 100]

Le débit de filtration glomérulaire est défini par la quantité de sang qui traverse le glomérule par unité de temps. C'est par ailleurs la clairance d'une substance plasmatique filtrée au niveau du glomérule et totalement excrétée dans les urines sans avoir au préalable été réabsorbée ou sécrétée le long du tubule rénal. Le DFG est d'autant plus intéressant qu'il constitue le paramètre indispensable qui renseigne sur l'insuffisance rénale. En effet, plus l'insuffisance rénale prend de l'ampleur, plus le DFG s'abaisse.

Pour déterminer le DFG, on peut avoir recours à des substances exogènes ou endogènes. Un bon marqueur du DFG doit épouser un certain nombre de critères. En 1955, Smith théorisait le marqueur idéal du DFG. Celui-ci devrait être une substance:

- endogène ;
- complètement filtrée par les glomérules ;
- sans aucune réabsorption ni sécrétion par les tubules ;
- dont la mesure sérique serait suffisante (pas de dosage dans les urines)

-dont la concentration sérique serait indépendante de la masse musculaire, du sexe, de l'âge, de la taille, du régime alimentaire ;

-dont les performances analytiques seraient idéales en terme de qualité (exactitude, précision, automatisation, coût, rapidité,...) et ne subiraient aucune interférence par rapport à l'hémolyse, à la lipémie, à l'ictère et à la présence de médicaments.

Pour déterminer le DFG, il est aussi possible d'utiliser des substances exogènes comme les polymères de glucides (inuline, sinistrine...). L'utilisation de la clairance de ces substances détermine le plus exactement possible le DFG. Il faut noter que pour évaluer le DFG, la détermination de la clairance de l'inuline est la technique de référence depuis son introduction en 1934. Néanmoins, elle est de réalisation difficile. Il existe également d'autres méthodes fondées sur la décroissance plasmatique de molécules marquées avec des radio-isotopes comme l'EDTA-⁵¹Cr, l'iothalamate-¹²⁵I et le DTPA-⁹⁹Tc en médecine nucléaire ; et l'iohexol ou l'iothalamate en biologie clinique. Cependant, du fait que ces procédures sont lourdes, onéreuses, leur utilisation en routine reste limitée. Toutefois leur utilisation en recherche clinique demeure fondamentale. Excepté le fait qu'elles ne peuvent être l'objet de dosage en routine, ces substances exogènes sont-elles les marqueurs idéaux du DFG ? La réponse à cette interrogation est bien évidemment non si l'on se réfère à la théorie de Smith qui définit le marqueur idéal du DFG.

La substance endogène la plus utilisée pour déterminer le DFG en routine est la créatinine. La concentration sérique de la créatinine n'est que très peu influencée par l'alimentation par rapport à d'autres marqueurs potentiels du DFG. La créatinine bénéficie de techniques de dosage faciles qui rendent très commode son utilisation en routine. En plus, la créatininémie est négativement corrélée avec le DFG du fait que son élimination de l'organisme est exclusivement rénale via uniquement la filtration glomérulaire. L'augmentation de la créatininémie indique donc, le plus souvent, une réduction du DFG. Toutefois, elle est très loin d'être le marqueur idéal du DFG. En effet, le taux sérique de la créatinine présente un certain nombre de limites. Ces dernières résultent d'abord des interactions selon la technique utilisée pour mesurer la créatininémie. Des efforts sont faits pour minimiser les interférences qui surviennent avec la méthode de Jaffé, néanmoins elles subsistent. Ces interférences sont liées non seulement à la présence de protéines, de triglycérides, de glucose, d'acide ascorbique, d'hémoglobine qui majorent la créatininémie mais aussi à celle de la bilirubine, qui minore la créatininémie. Par ailleurs, même si les interférences sont moins nombreuses

avec les méthodes enzymatiques, elles existent tout de même et restent liées à la présence de flucytosine par exemple. Finalement, les limites de la créatinine pour évaluer la filtration glomérulaire sont également le fait que la créatininémie n'entretient pas de relation linéaire avec le DFG. Il en découle que dans les valeurs normales supérieures, une chute significative de la filtration glomérulaire peut s'accompagner d'une élévation relativement modeste de la créatininémie. Pour illustration, une baisse d'un tiers de la filtration glomérulaire (de 120 à 80 ml/mn) entraîne une augmentation de la créatininémie de 65 à 95 $\mu\text{mol/l}$ seulement. Dans ce cas la valeur normale qui est de 110 $\mu\text{mol/l}$ n'est même pas dépassée. Cela signifie qu'une valeur normale de la créatininémie n'exclut pas une défaillance de la fonction rénale. En plus, en cas d'insuffisance rénale, une baisse discrète de la filtration glomérulaire peut déjà engendrer une très grande ascension de la créatininémie : avec une élévation de la créatininémie de 250 à 300 $\mu\text{mol/l}$, la progression «pressentie» de l'insuffisance rénale est importante, mais la baisse effective de la filtration glomérulaire n'est que de 5 ml/min.

Cet effet peut être corrigé en prenant la réciproque du taux de créatinine: le quotient 1/créatinine est linéaire, rapporté à la filtration glomérulaire.

L'augmentation de la créatininémie indique donc le plus souvent une réduction du DFG, ce qui est observé aux stades IV et V de la néphropathie diabétique selon Mogencen.

La clairance de la créatinine permet de transcender les difficultés pour estimer la filtration glomérulaire due au fait que la production de créatinine est fonction de la masse musculaire. Pour déterminer la clairance de la créatinine il faut doser la quantité de créatinine effectivement excrétée dans les urines. Cela impose la collecte des urines de 24 heures. La quantité totale de créatinine dosée peut être mise en relation avec la concentration sérique et le temps, ce qui donne le volume de sang épuré de créatinine par unité de temps:

$$\text{Créatininurie } [\mu\text{mol/L}] \times \text{volume urinaire } [\text{ml}]$$

$$\text{Cl créa } [\text{ml/min}] = \frac{\text{Créatininurie } [\mu\text{mol/L}] \times \text{volume urinaire } [\text{ml}]}{\text{Créatininémie } [\mu\text{mol/L}] \times \text{durée de collecte } [\text{min}]}$$

$$\text{Créatininémie } [\mu\text{mol/L}] \times \text{durée de collecte } [\text{min}]$$

Cependant la clairance de la créatinine n'est pas exempte de limites. D'abord, comment la créatinine parvient-elle dans les urines ? Il est admis tacitement que c'est seulement par filtration glomérulaire. Ce qui n'est rigoureusement pas le cas. En effet, dans le cas de l'insuffisance rénale ou de la prise de fénofibrate, il existe une sécrétion tubulaire exacerbée de créatinine qui se retrouve dans les urines définitives. En ce moment, la clairance rénale de la créatinine surestime la filtration glomérulaire.

En outre, la collecte des urines de 24 heures peut constituer une difficulté réelle dans la détermination de la clairance de la créatinine. Pour le patient ambulatoire, elle peut être un réel cauchemar ; en plus, s'il n'a pas bien compris les explications concernant les conditions de prélèvement il peut ne pas vider sa vessie avant de démarrer la collecte, ou éliminer des mictions par mégarde, ou encore garder les urines plus de 24 heures chez lui... Ces situations peuvent introduire autant de biais dans la détermination de la clairance rénale au moment où il s'agit de mesurer le volume urinaire.

Pour contourner les problèmes liés à la mauvaise collecte des urines de 24 heures pour déterminer la clairance rénale de la créatinine, des auteurs ont établi des formules qui s'appuient sur la créatininémie et sur des paramètres anthropométriques. La condition *sine qua non* pour l'applicabilité de ces formules, c'est qu'il doit exister un parfait équilibre entre la production de la créatinine et sa filtration glomérulaire. La fonction rénale doit également être stable pour que les formules soient utilisables.

Les deux principales formules utilisées sont la formule de Cockcroft et Gault (CG), proposée en 1976, et la formule issue de l'étude MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) en 1999 et simplifiée par Levey en 2000. Une nouvelle formule a été développée en 2009 par Levey, appelée CKD-EPI (Chronic Kidney Disease EPIdemiology collaboration) [34, 35, 59, 62, 65].

Equation de Cockcroft et Gault

Pour obtenir des résultats de clairance de la créatinine plus rapidement qu'avec le recueil des urines des 24 heures, Donald COCKCROFT et Henri GAULT ont développé une formule permettant d'estimer la clairance de la créatinine à partir d'un simple dosage de la créatinine sérique. Les paramètres pris en compte dans cette formule sont la créatinine sérique, le poids, l'âge et le sexe:

$$\text{Clairance (mL/mn)} = \frac{(140 - \text{âge}) \times \text{poids (kg)}}{\text{Cr (}\mu\text{mol/L)} \times K}$$

Avec :

K = 1,23 pour les hommes

K = 1,04 pour les femmes

Age exprimé en années

Cr : créatinine sérique

Cette formule a été validée par comparaison avec des clairances mesurées dans les urines de 24 heures. Elle n'estime donc pas un DFG mais la clairance de la créatinine [100].

Equation MDRD [34]

Une étude a été menée pour évaluer l'effet d'un régime pauvre en protéines sur la progression de la maladie rénale. Cette étude dite « MDRD » (modification of diet in renal disease) a permis d'établir en 1999, à partir de 1 070 patients, une nouvelle formule pour estimer le DFG à partir de la créatinine sérique:

$$\text{DFG} = 170 \times \text{Cr}^{-0,999} \times \text{âge}^{-0,176} \times 0,762 \text{ (si } \text{♀}) \times 1,180 \text{ (race noire)} \times \text{U}^{-0,170} \times \text{Alb}^{+0,318}$$

Avec :

Cr : créatinine sérique (mg/dl)

Alb : albuminémie

U : urée sanguine

Age en années

Cette formule nécessite en plus du dosage de la créatinine sérique, le dosage sanguin de l'urée et de l'albumine, ce qui augmente les risques de biais. De plus, elle n'est pas validée dans une population autre que celle de l'étude MDRD. Cette formule MDRD à six variables ne serait pas utilisée en pratique [100].

En 2000, Levey, dans le but d'en faciliter son utilisation clinique, a simplifié cette équation en supprimant les variables urémie et albuminémie. En 2006, Levey modifie cette nouvelle formule à quatre variables (créatinine sérique, âge, sexe, race pour des dosages de créatinine standardisés [59,62].

Pour un dosage de créatinine raccordé à un échantillon de référence quantifié par spectrométrie de masse avec dilution isotopique (IDMS) [6]:

$$\text{DFG} = 175 \times \text{Cr}^{-1,154} \times \text{âge}^{-0,203} \times 0,742 \text{ (si } \text{♀}) \times 1,212 \text{ (race noire)}$$

En l'absence d'étalonnage IDMS :

$$\text{DFG} = 186 \times \text{Cr}^{-1,154} \times \text{âge}^{-0,203} \times 0,742 \text{ (si } \text{♀}) \times 1,212 \text{ (race noire)}$$

Equation CDK-EPI [62]

La formule MDRD simplifiée manquerait de précision à des valeurs au-delà de 60 ml/mn/1,73m², et Levey en 2009 a proposé une nouvelle formule, la formule du CKD-EPI, qui augmenterait la précision dans les valeurs de DFG supérieures à ce seuil [62].

Cette formule a été élaborée à partir de 8 254 participants et vérifiée sur 3 896 patients. Elle ne s'applique que pour des dosages enzymatiques raccordés à l'IDMS (cf. tableau I).

Tableau I : équations du CKD-EPI [62]

Race et sexe	Créatininémie (μmol/l)	Equations
Noir		
Femme	≤ 62	$166.(\text{Cr}/0,7)^{-0,329} \cdot (0,993)^{\text{âge}}$
	> 62	$166.(\text{Cr}/0,7)^{-1,209} \cdot (0,993)^{\text{âge}}$
Homme	≤ 80	$163.(\text{Cr}/0,7)^{-0,411} \cdot (0,993)^{\text{âge}}$
	> 80	$163.(\text{Cr}/0,7)^{-1,209} \cdot (0,993)^{\text{âge}}$
Blanc		
Femme	≤ 62	$144.(\text{Cr}/0,7)^{-0,329} \cdot (0,993)^{\text{âge}}$
	> 62	$144.(\text{Cr}/0,7)^{-1,209} \cdot (0,993)^{\text{âge}}$
Homme	≤ 80	$141.(\text{Cr}/0,7)^{-0,411} \cdot (0,993)^{\text{âge}}$
	> 80	$141.(\text{Cr}/0,7)^{-1,209} \cdot (0,993)^{\text{âge}}$

Les formules servant à estimer la fonction rénale sont très simples d'utilisation en pratique, mais elles manqueraient de précision dans certaines situations cliniques, notamment chez les sujets jeunes ou âgés, les patients avec un IMC extrême (<20 ou >30) et chez des patients avec une fonction rénale peu altérée.

Ainsi, la formule de CG sous-estimerait la fonction rénale du sujet âgé alors que la formule MDRD simplifiée sous-estimerait le DFG chez les patients maigres et les diabétiques de type 1. Par ailleurs, ces deux formules sont très dépendantes des méthodes de dosage de la créatinine.

Ces formules ont été élaborées à partir de biais moyens constatés sur une population, elles peuvent donc manquer de précision à l'échelle individuelle.

Tableau II : valeurs usuelles du débit de filtration glomérulaire (DFG) selon l'âge et le sexe

	DFG (ml/mn/1,73 m ²)
Enfant-Adolescent	90-140
Adulte F (20-40 ans)	90-130
Adulte H (20-40 ans)	100-140

VIII. Paramètres biologiques étudiés dans la prise en charge du diabète et de ses complications [14, 36, 37, 38, 99, 112] :

VIII-1. Glycémie à jeun :

VIII-1.1. Prélèvement :

Le prélèvement de sang se fait chez un sujet à jeun depuis 8 heures par ponction veineuse au pli du coude. Le sang veineux est recueilli sur un tube contenant un anticoagulant (EDTA, oxalate, héparine...) et un antiglycolytique (fluorure, monoiodoacétate...)

Un échantillon de sang prélevé dans un tube sans inhibiteur de la glycolyse ne doit pas être conservé plus d'une heure. La conservation ne doit pas dépasser 6 heures même avec un antiglycolytique.

On peut séparer le culot globulaire du plasma par centrifugation à 3000 tours/mn pendant 5 mn. Dans ce cas, on peut conserver le plasma durant une semaine à 4°C, un mois à -20°C.

VIII-1.2. Méthodes de dosage du glucose

Les méthodes utilisées pour déterminer la glycémie peuvent être classées en trois groupes : les méthodes réductimétriques, les méthodes furfuraliques et les méthodes enzymatiques.

VIII-1.2.1. Méthodes réductimétriques :

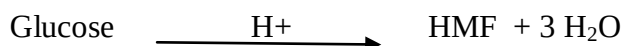
Les techniques réductimétriques visent à doser le glucose par la mesure de son pouvoir réducteur, en milieu alcalin.

Ces méthodes chimiques ont été abandonnées du fait de leur manque de spécificité. Elles mesurent non seulement le glucose mais aussi les autres glucides réducteurs ainsi que les réducteurs non glucidiques tels que l'acide urique, le glutathion, la créatinine et certains acides aminés.

VIII-1.2.2. Méthodes furfuraliques :

Principe :

Ces méthodes sont basées sur la déshydratation en milieu acide du glucose en un dérivé furfuralique appelé hydroxy-méthyl-furfural (HMF).



L'HMF réagit facilement avec des phénols (*e.g.*: anthrone) ou des amines aromatiques (*e.g.*: aniline, ortho-toluidine) pour donner des produits colorés mesurables au spectrophotomètre.

Caractéristiques :

Les techniques furfuraliques sont généralement simples, rapides d'exécution et sensibles mais elles manquent de spécificité. Elles sont aujourd'hui abandonnées.

VIII-1.2.3. Méthodes enzymatiques :

Les méthodes enzymatiques supplantent actuellement les méthodes chimiques. En effet, ces méthodes ajoutent, à la simplicité, à la rapidité d'exécution et à la sensibilité des méthodes chimiques, leur spécificité particulière. Avec les techniques enzymatiques le manipulateur est relativement protégé du fait qu'il n'utilise pas de produits corrosifs encore moins de flamme, ce qui est d'usage courant avec les techniques chimiques.

Ces méthodes utilisent la glucose oxydase, la glucose déshydrogénase et le système hexokinase/ glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH).

Ces techniques sont spécifiques, sensibles et automatisables.

VIII-1.2.3.1. Technique à la glucose oxydase (GOD)/ peroxydase (POD) :

Cette technique est décrite dans la deuxième partie de la présente étude.

VIII-1.2.3.2. Technique à la glucose déshydrogénase :

Principe :

La glucose déshydrogénase catalyse la déshydrogénation du glucose en gluconolactone en transférant les équivalents réducteurs sur le coenzyme d'oxydoréduction le NAD^+ qui est réduit en NADH, H^+ . La vitesse de formation du NADH, H^+ , mesurable en spectrophotomètre ultraviolet (U.V.) à 340 nm, est proportionnelle à la concentration du glucose contenu dans l'échantillon à doser.



Les interférences :

Des substances chimiques telles que la bilirubine, l'acide urique, qui possèdent des électrons π et n conjugués sont capables d'absorber la lumière du spectre situé dans l'U.V. et de ce fait leur présence dans l'échantillon peut conduire à des résultats par excès.

VIII-1.2.3.3. Technique à l'hexokinase :

Principe :

En présence d'ATP, l'hexokinase catalyse la phosphorylation du groupement hydroxyle en position 6 du glucose. On obtient alors de l'ADP et du glucose-6-phosphate. Ce dernier est le substrat de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH) qui procède à sa déshydrogénation en transférant les équivalents réducteurs sur le NADP^+ . On obtient donc de l'acide-6-phosphogluconique et du NADPH, H^+ . La vitesse de formation du NADPH, H^+ , mesurable en spectrophotométrie U.V. à 340 nm, est proportionnelle à la concentration du glucose contenu dans l'échantillon à doser.



Cette technique est la technique de référence, du fait de la spécificité de la réaction indicatrice qui utilise une autre enzyme particulièrement spécifique qui est la G6PDH.

VIII-1.2.4. Valeurs usuelles et variations pathologiques:

La glycémie à jeun chez le sujet sain est comprise dans l'intervalle 0.70- 1.1 g/l.

La glycémie à jeun chez le sujet atteint de diabète est supérieure ou égale à 1.26 g/l.

VIII-2. Hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) après 2 heures [38]

VIII-2.1. Conditions préanalytiques

Selon les recommandations de l'OMS, il convient ;

- que le patient suive un régime normoglycémique apportant 150 à 200 g de glucides les trois jours précédant l'épreuve ;
- d'arrêter toute thérapeutique pouvant influencer le test mais à condition naturellement de ne pas mettre le patient en danger ;
- de ne pas changer le rythme physique (sport ou repos);
- d'attendre au moins trois jours après les règles.

VIII-2.2. Protocole :

L'épreuve commence le matin entre 8 h et 9 h. Du sang veineux pour doser la glycémie à jeun est prélevé au pli du coude puis 75 g de glucose en solution aqueuse sous un volume de 250 ml doivent être ingérés par le patient en cinq minutes maximum. Le sujet doit rester allongé, au calme, sans fumer.

Selon les recommandations de l'OMS, il faut effectuer un second prélèvement de sang veineux à 120 minutes après ingestion du glucose.

VIII-2.3. Valeurs usuelles et variations pathologiques de l'HGPO après 2 heures:

Tableau III : valeurs usuelles et variations pathologiques de l'HGPO après 2 heures

	Valeurs usuelles	Hyperglycémie modérée à jeun	Intolérance au glucose	Diabète
T0	< 1,10 g/l	≥ 1,10 g/l mais < 1,26 g/l		≥ 1,26 g/l
T120	< 1,40 g/l		≥ 1,40 g/l mais < 2,00 g/l	≥ 2,00 g/l

Remarque :

La prise de médicaments (IMAO, caféine, biguanides...) qui induisent la sécrétion d'insuline peut entraîner des résultats faussement normaux alors qu'un diabète existe.

VIII-3. Hémoglobine glyquée (HbA_{1c}) [14, 38]

Le pourcentage d'HbA_{1c} reflète l'état d'équilibre glycémique moyen des 6 à 8 semaines précédant le dosage.

VIII-3.1. Conditions préanalytiques:

Le dosage est réalisé sur du sang veineux recueilli dans un tube contenant un anticoagulant (EDTA, CDA, héparine). Un prélèvement capillaire est également possible et utilisable avec les méthodes CLHP.

En cas de transport, la conservation est meilleure si les globules rouges ne sont pas séparés du plasma. Un délai de 2 à 3 jours avant le dosage est tolérable en cas de prélèvement sur EDTA. Il peut aller jusqu'à 5 ou 6 jours si le prélèvement a été fait sur ACD. La conservation du sang total à + 4 °C pendant 7 jours dans des tubes non ouverts ne modifie pas les résultats quelle que soit la technique utilisée. A +20°C, en technique CLHP d'échange d'ions, il apparaît rapidement un pic d'hémoglobine vieillie et les fractions HbA_{1a+b} augmentent. Il n'est donc pas recommandé de conserver les prélèvements à température ambiante. Une

conservation à -80°C de sang total ou d'hémolysats préparés rapidement après le prélèvement permet une conservation à long terme (au moins un an).

VIII-3.2. Méthode chromatographique par échange d'ions.

VIII-3.2.1. Principe :

La technique chromatographique utilise généralement des résines d'échange cationique faible et des tampons de force ionique et/ou de pH différents qui permettent de séparer les fractions de l'hémoglobine dont la charge est modifiée, que ce soit par fixation du glucose ou par toute autre modification pré ou post-traductionnelle.

Certaines techniques séparent seulement deux fractions : l'ensemble des Hb glyquées et HbA. Ces méthodes donnent des résultats imprécis dûs aux variations des taux d' HbA_{1a} et HbA_{1b} qui ne sont pas parallèles à celles de la glycémie. Les meilleures techniques séparent trois fractions : HbA_{1a+b}, HbA_{1c} et HbA. La quantité d'HbA_{1c} séparée par ces techniques est exprimée en pourcentage de la quantité d'Hb totale.

Les techniques de chromatographie d'échange ionique sont très sensibles aux conditions dans lesquelles elles sont effectuées (température, pH, dilution de l'échantillon). Le dosage de l'HbA_{1c} par chromatographie d'échange d'ions est sujet à un certain nombre d'erreurs au rang desquelles une mauvaise thermostatisation de la colonne chromatographique ou une mauvaise dialyse destinée à éliminer l'hémoglobine glyquée instable.

Les méthodes automatisées à basse pression (CLBP) ou en haute pression (CLHP) sont préférables aux minicolonnes d'utilisation délicate et en voie de disparition.

Les dernières générations d'automates de CLHP permettent la séparation de nombreuses hémoglobines modifiées ayant des points isoélectriques proches de celui de l'HbA_{1c}.

VIII-3.2.2. Valeurs usuelles et variations pathologiques :

Les valeurs de référence sont de 5,0 +/- 1,5% chez l'enfant et l'adulte.

Le pourcentage d'HbA_{1c} est supérieur à 10% chez le sujet diabétique mal équilibré tandis qu'il est inférieur à 7% chez le sujet diabétique bien équilibré.

Le pourcentage d'HbA_{1c} est élevé sans liaison avec l'augmentation de la glycémie dans la grossesse, les insuffisances rénales, les β -thalassémies, les cas d'augmentations d'HbF, la prise de médicaments acétylés ou porteurs de groupements aldéhydiques.

Le pourcentage d'HbA_{1c} est abaissé en cas d'hémolyse, d'insulinome ou chez les sujets atteints d'hémoglobinoses S ou C.

VIII-3.3. Méthode électrophorétique

VIII-3.3.1. Principe :

Les méthodes classiques sur gel d'agarose séparent les fractions d'hémoglobine selon leur charge et leur quantification est densitométrique. Des applications de l'électrophorèse capillaire ont permis d'améliorer la précision de ces techniques électrophorétiques et de doser l'HbA_{1c} et non plus l'HbA1 totale.

Dans l'isoélectrofocalisation, en particulier, les hémoglobines sont séparées suivant leur point isoélectrique. Cette méthode est très peu répandue parce qu'elle est de mise en œuvre très délicate. Néanmoins, elle est sujette à très peu d'interférences et les seules causes de pourcentage d'HbA_{1c} diminué sont les hémolyses et l'insulinome.

VIII-3.3.2. Valeurs usuelles :

L'isoélectrofocalisation fournit des résultats identiques à la chromatographie par échange d'ions.

VIII-3.4. Méthode immunoturbidimétrique par inhibition :

Cette méthode est décrite dans la partie expérimentale de la présente étude.

VIII-3.5. Relation entre HbA_{1c} et glycémie [38]

Selon l'ADA, il existe une relation entre la glycémie moyenne et l'HbA_{1c} ainsi définie :

« glycémie (g/l) = $[(35,6 \times \text{HbA}_{1c}) - 77,3] \times 0,01$ »

Cette relation permet de quantifier les moyennes glycémiques des deux mois précédents. C'est une relation établie à partir d'une population de diabétiques de type 1. Cependant, on se demande si la relation est directement transposable aux diabétiques de type 2.

VIII-4. Lipides et lipoprotéines [4, 36, 37, 38]:

VIII-4.1. Prélèvement :

Le prélèvement se fait au pli du coude chez un sujet à jeun depuis 12 heures. Il est préférable de ne pas utiliser d'anticoagulant (surtout pas d'héparine qui modifie les lipoprotéines) et de réaliser le dosage sur le sérum. Il faut éviter l'hémolyse au cours du prélèvement.

VIII-4.2. Examen de l'aspect du sérum :

C'est un examen simple, préliminaire à toute autre investigation.

VIII-4.2.1. Principe et déroulement :

L'aspect du sérum découle directement de l'aspect des lipoprotéines en solution : les HDL et les LDL du fait de leur petite taille ne modifient pas la limpidité du sérum lorsque leur concentration est augmentée ; au contraire, du fait de leur grande taille, les chylomicrons et les VLDL, quand leur concentration est élevée, confèrent une turbidité au sérum. En plus, les chylomicrons, à basse température, ont la propriété de remonter et de flotter à la surface du sérum. Cette propriété leur est conférée par leur densité très faible.

La clarté ou la turbidité du sérum est vérifiée en regardant un dessin géométrique ou des caractères d'imprimerie à travers le sérum.

Le test de crémage consiste à conserver le sérum trouble à 4°C pendant 24 heures puis à noter l'éclaircissement du sérum et l'apparition ou non d'une couche lipidique surnageante.

VIII-4.2.2. Résultats :

Chez un sujet sain, le sérum est clair.

Chez le diabétique, le sérum peut être :

-clair indiquant l'absence d'une hyperlipoprotéinémie ou la présence d'un excès de LDL (*i.e.* hyperlipoprotéinémie de type IIa).

-opalescent signifiant la présence d'un excès de VLDL (*i.e.* hyperlipoprotéinémie de type IV)

-lactescent prouvant la présence probable de chylomicrons +/- un excès de VLDL (i.e. hyperlipoprotéinémie type I et V). Dans le type V, le test de crémage révèle un sérum opalescent (VLDL élevée) avec une couche lipidique surnageante (présence de chylomicrons).

L'interprétation correcte de l'aspect du sérum permet de typer d'emblée certaines dyslipoprotéinémies ou d'éviter une erreur d'interprétation du bilan lipidique.

VIII-4.3. Triglycérides :

Les triglycérides étaient anciennement dosés par des méthodes chimiques. Aujourd'hui, ils sont dosés par des méthodes enzymatiques dans pratiquement tous les laboratoires.

VIII-4.3.1. Méthodes chimiques :

Les méthodes chimiques de dosage des triglycérides sont toutes tombées en désuétude.

Elles consistaient à extraire les triglycérides du sérum à l'aide d'un solvant organique (*e.g.* chloroforme) puis de purifier l'extrait par adsorption des phospholipides à l'aide d'un adsorbant spécifique (*e.g.* acide silicique). Il était ensuite procédé à la libération du glycérol par saponification des triglycérides à l'aide de l'hydroxyde de sodium ou de potassium. Le glycérol ainsi libéré participe directement à une réaction colorimétrique ou indirectement après sa transformation en formaldéhyde. En effet, l'oxydation du glycérol à l'aide de l'aide périodique, en présence d'acide sulfurique et d'acide chromotrope, donne une coloration rose mesurable à 550nm. Par ailleurs, le formaldéhyde généré par le glycérol peut :

- soit se combiner au MBTH (Méthyl Benzo Thiazolone Hydrazone) et, en présence de chlorure ferrique, produire une azine colorée en bleu violacé dont l'intensité de la coloration peut être mesurée à 670 nm.

- soit participer à une réaction de condensation avec l'acétylacétone et l'ammoniaque fluorescente dont la concentration est mesurable par fluorimétrie.

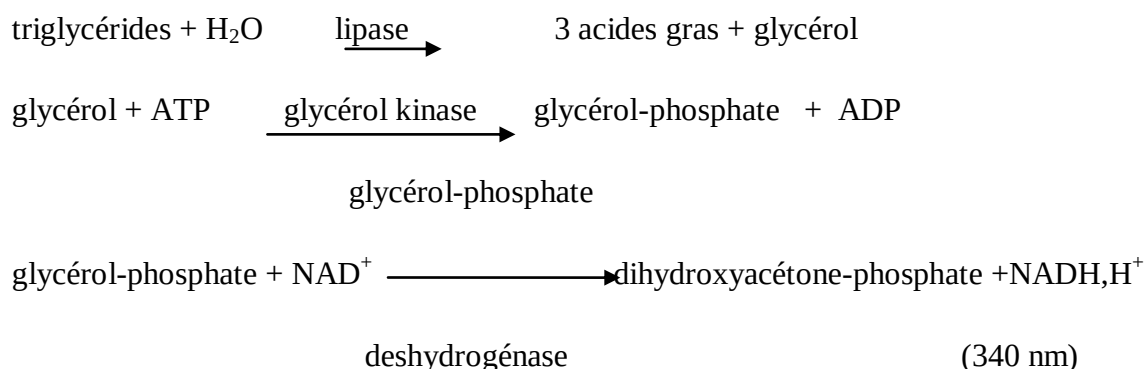
VIII-4.3.2. Méthodes enzymatiques :

Les méthodes enzymatiques de dosage des triglycérides sont basées, le plus souvent sur la mesure du glycérol libéré après action d'une lipase. Elles vont donc mesurer non seulement le glycérol issu de l'hydrolyse des triglycérides mais aussi le glycérol résultant de l'hydrolyse des mono et diglycérides et également le glycérol libre présent dans le plasma. Toutefois, en pratique, chez un sujet sain les concentrations de mono et diglycérides sont négligeables par rapport aux concentrations des triglycérides ; de même, la concentration de glycérol libre plasmatique est insignifiante.

VIII-4.3.2.1. Technique enzymatique à la lipase/ glycérol kinase/ glycérol-phosphate déshydrogénase

Sous l'action catalytique d'une lipase, les triglycérides libèrent des acides gras et du glycérol.

Le glycérol est alors dosé : sous l'action catalytique d'une glycérol kinase, le glycérol réagit avec l'ATP pour produire de l'ADP et du glycérol-phosphate. Puis le glycérol-phosphate est oxydé en dihydroxyacétone-phosphate sous l'action d'une glycérol-phosphate déshydrogénase, en présence de NAD^+ qui est réduit en NADH, H^+ . La vitesse d'apparition du NADH, H^+ , mesurable à 340nm, est proportionnelle à la concentration de glycérol présent dans la prise d'essai et par ricochet à la concentration en triglycérides de l'échantillon à doser.



VIII-4.3.2.2. Technique enzymatique à la lipase/ glycérol kinase/ 3-phosphoglycérol oxydase/ peroxydase

Cette technique enzymatique de dosage des triglycérides est décrite dans la partie expérimentale de la thèse.

VIII-4.3.3. Valeurs usuelles :

Chez l'homme, la limite supérieure pour la triglycéridémie est à 1.45 g/l

Chez la femme, la limite supérieure pour la triglycéridémie est à 1.36 g/l

VIII-4.4. Cholestérol total :

Il existe des méthodes chimiques, aujourd'hui abandonnées, des méthodes enzymatiques, très usitées de nos jours, des méthodes chromatographiques (méthodes de référence).

VIII-4.4.1. Méthodes chimiques :

Les méthodes chimiques commencent d'abord par un traitement par un solvant organique chargé d'extraire et de séparer le cholestérol des lipoprotéines. Puis, on procède à la saponification du cholestérol estérifié. Le cholestérol, devenu ainsi totalement libre, est dosé suivant : la technique de Liebermann-Burchard ou celle de Zlatkis-Zak-Boyle.

Dans la réaction de Liebermann-Burchard, le cholestérol, en solution dans du chloroforme, réagit avec l'anhydride acétique et l'acide sulfurique pour donner une coloration verte dont l'intensité, mesurable à 620 nm, est proportionnelle à la concentration en cholestérol de l'échantillon à doser.

Dans la réaction de Zak, le cholestérol réagit avec l'acide acétique, l'acide sulfurique concentré et le perchlorure de fer pour donner une coloration rouge dont l'intensité, mesurable à 550 nm, est proportionnelle à la concentration en cholestérol de l'échantillon à doser.

Ces méthodes ne sont pas spécifiques. Elles évaluent, outre le cholestérol, d'autres stérols du sang, en quantité mineure, il est vrai, comme le 5 α -cholestanol et le 7-dehydrocholestérol.

VIII-4.4.2. Méthodes enzymatiques:

Les méthodes enzymatiques sont les méthodes les plus utilisées en routine pour doser le cholestérol.

Les méthodes enzymatiques sont rapides, automatisables, sensibles. Leur sensibilité permet de les appliquer au dosage du cholestérol dans chaque fraction de lipoprotéine séparée par ultracentrifugation préparative.

La technique enzymatique à la cholestérol estérase/ cholestérol oxydase/ peroxydase est décrite dans la partie expérimentale.

VIII-4.4.3. Méthodes chromatographiques :

La séparation chromatographique gaz-liquide utilisant une colonne capillaire est la méthode de référence pour doser le cholestérol.

Après extraction par le mélange éthanol-acétone à 60°C, évaporation des solvants et hydrolyse des esters de cholestérol, le résidu est dissout dans une solution contenant du cholestane (*étalon interne*) et injecté dans une colonne tapissée de silicone SE30, à 200-250°C. Le pic du cholestérol qui est enregistré en sortie de colonne après quelques minutes est comparé à celui du cholestane.

VIII-4.4.4. Valeurs usuelles :

Les valeurs usuelles de la cholestérolémie sont comprises entre 1,2 et 2 g/l.

VIII-4.5. Lipoprotéines sériques:

Le dosage des lipoprotéines sériques et de leur contenu en cholestérol fait appel à des méthodes d'ultracentrifugation, d'électrophorèse, de précipitation sélective et de dosage direct.

VIII-4.5.1. Méthode d'ultracentrifugation de flottation :

Elle a servi de méthode de référence dans l'étude des divers types de lipoprotéines. On distingue :

- La technique d'ultracentrifugation préparative qui consiste à porter à chaque étape la densité du sérum dilué à une valeur bien déterminée en ajoutant une quantité connue d'une solution de sels minéraux convenable. La densité des lipoprotéines étant plus faible que celle des autres protéines, à chaque valeur de la densité de la solution, la lipoprotéine de densité identique vient flotter à la surface où on peut la prélever.
- Les techniques d'ultracentrifugation analytique qui permettent de mesurer la concentration en chaque type de lipoprotéines sans avoir besoin de les séparer. Pour cela, on les centrifuge à travers un gradient de concentration en sel minéral convenable. Un dispositif optique, fonctionnant sans interrompre la rotation de l'appareil, permet de photographier les positions successives des lipoprotéines en fonction du temps et ainsi de caractériser leur vitesse de montée vers la surface, que l'on exprime en Unités Svedberg de flottation ou Sf. La valeur de Sf de chaque lipoprotéine est fonction de sa structure chimique, en particulier de sa densité et de son diamètre moléculaire (voir tableau).

Un système intermédiaire consiste à séparer les lipoprotéines par une ultracentrifugation préparative et à doser le cholestérol contenu dans chaque fraction. Ainsi est obtenue une évaluation quantitative de chaque fraction, particulièrement intéressante dans le cas des LDL et HDL.

VIII-4.5.2. Méthode électrophorétique : électrophorèse de zone

L'électrophorèse est basée sur la différence de migration des lipoprotéines en fonction de leur charge électrique lorsqu'elles sont placées dans un champ électrique.

Il existe différentes techniques électrophorétiques qui peuvent être mises en œuvre dans la séparation, l'identification et le dosage des principales lipoprotéines sériques.

La première technique électrophorétique qui ait permis des séparations convenables utilisait un support de papier filtre imbibé d'un tampon alcalin, contenant 50 g par litre d'albumine, qui régularisait la séparation. Dans cette technique, les chylomicrons restent au point de dépôt où il est souvent difficile d'en déterminer la quantité exacte.

L'électrophorèse sur acétate de cellulose n'est pas applicable, dans des conditions satisfaisantes, à l'analyse des lipoprotéines, car les chylomicrons et certaines VLDL ne se fixent pas bien sur ce support lors de l'étape finale de coloration et de séchage, ce qui empêche un typage correct et une quantification exacte des lipoprotéines.

L'électrophorèse en gel d'agarose fournit de meilleurs résultats, bien que les chylomicrons soient encore difficilement quantifiables.

L'électrophorèse en gel d'acrylamide sépare les lipoprotéines en fonction non seulement de leur charge électrique mais aussi selon leur taille parce que ce milieu comporte des pores calibrés exerçant un tamisage moléculaire.

Dans tous les cas, l'évaluation des concentrations en chaque type de lipoprotéine, réalisée par densitométrie, est semi-quantitative. La précision ne dépasse pas 30%. Ces techniques doivent être considérées avec prudence.

Remarque :

Dans le système d'électrophorèse en acrylamide, les LDL (20 nm) migrent plus loin que les VLDL (30-50 nm).

VIII-4.5.3. De la précipitation sélective à l'application de la formule de Friedwald :

Ce sont les méthodes les plus usitées au laboratoire pour doser le cholestérol associé aux différentes fractions des lipoprotéines sériques.

Le principe consiste à précipiter une fraction spécifique des lipoprotéines sériques puis à doser, grâce à une microméthode, le cholestérol de la (des) fraction(s) non précipitées.

On a proposé la précipitation de l'ensemble VLDL + LDL par :

- la concanavalline A,
- le polyéthylène glycol 6000 (PEG 6000),
- le sulfate de dextrane en présence de chlorure de calcium,
- l'héparine en présence de sels de cation divalent (chlorure de manganèse, de magnésium ou de calcium),
- ou l'acide phosphotungstique en présence de chlorure de magnésium qui est la technique recommandée par la SFBC.

Il est possible de précipiter les VLDL uniquement en utilisant une solution de sodium dodecyl-sulfate 0,15 M, à pH 9.

Après précipitation de l'ensemble VLDL + LDL et centrifugation, le dosage du cholestérol du liquide surnageant, pratiqué de la même manière que le dosage du cholestérol total, exprime la concentration en cholestérol des HDL qui est la fraction lipoprotéinique non précipitée. Si on retranche du cholestérol total le cholestérol des HDL, alors on retrouve la concentration en cholestérol de l'ensemble des fractions lipoprotéiniques VLDL + LDL dans lequel le cholestérol des LDL prédomine soit $CT - HDL = VLDL + LDL$.

Si on procède par la suite à la précipitation sélective des VLDL avec le sodium dodecyl-sulfate, après centrifugation, le cholestérol du surnageant mesurable représente la concentration en cholestérol de l'ensemble des fractions lipoprotéiniques non précipitées HDL + LDL. Donc, il devient possible d'obtenir la concentration en cholestérol des VLDL en soustrayant du cholestérol total le cholestérol de l'ensemble HDL + LDL soit $VLDL = CT - (HDL + LDL)$.

Connaissant la concentration en cholestérol total, la concentration en cholestérol des VLDL et celle des HDL, on en déduit la concentration en cholestérol des LDL soit $LDL = CT - (HDL + VLDL)$.

Au laboratoire, le calcul précédent pour déterminer le cholestérol LDL est peu utilisé. On emploie plutôt la formule de Friedwald pour calculer le LDL-cholestérol. Cette formule est décrite dans la partie expérimentale de la présente étude.

Dans l'ensemble, toutes ces techniques de précipitation donnent des résultats reproductibles avec les sérums normaux mais sont en défaut lorsqu'apparaissent des fractions de lipoprotéines anormales. Elles sont très sensibles à des modifications même minimales de la concentration en sels minéraux.

VIII-4.5.4. Méthodes directes de dosage du cholestérol-HDL et du cholestérol-LDL [38]

VIII-4.5.4.1. Du cholestérol-HDL [38]

Récemment, trois méthodes de dosage direct du cholestérol-HDL ont été commercialisées. Ces méthodes automatisées adoptent une même chronologie : un premier réactif R1 réagit avec les lipoprotéines contenant l'apolipoprotéine B (chylomicrons, VLDL et LDL) masquant ainsi l'accessibilité de leur cholestérol au deuxième réactif R2 contenant la cascade enzymatique classique du dosage du cholestérol : cholestérol estérase, cholestérol oxydase, peroxydase-chromogène. Le réactif R1 contient soit le sulfate d'alpha-cyclodextrine (a-CD), soit des polyanions-détergents (PA-D) ou des anticorps anti-b-lipoprotéines (AC).

VIII-4.5.4.2. Du cholestérol-LDL [38]:

Il s'agit là aussi de la mise en œuvre dans un premier temps, de réactifs masquant certaines lipoprotéines (chylomicrons, VLDL et HDL) et ne permettant l'accessibilité des réactifs enzymatiques de dosage du cholestérol qu'à la seule fraction LDL dans un deuxième temps.

Ces méthodes sont automatisables et ne semblent pas sujettes à interférence pour les hypertriglycérémies jusqu'à des concentrations en triglycérides de 10 g/l.

VIII-4.5.5. Valeurs usuelles :

Tableau IV: caractéristiques des lipoprotéines plasmatiques à l'ultracentrifugation de flottation et à l'électrophorèse

Lipoprotéines	Densité	Diamètre (nm)	Sf= coefficient de flottation (Svedberg)	Mobilité électrophorétique	Concentration normale de la fraction et taux de cholestérol
Chylomicrons	inférieure à 0,94	75 à 1000	Sup ou = 400	très faible	0 à 500 mg/l 0 à 50 µmol/l ou (0,02 g/l)
VLDL	0,94 à 1,006	30 à 50	20 à 400	pré β	2 600 mg/l 0, 5 mmol/l ou (0,2 g/l)
LDL	1,006 à 1,063	20	0 à 20	β	3 800 mg/l 3,9 mmol/l ou (1,60 g/l)
HDL	1,063 à 1,210	7,5 à 10	Sédimentent avec les protéines ordinaires	α	2 400 mg/l 1,5 mmol/l ou (0,6 g/l)

VIII-4.6. Calcul de l'indice d'athérogénicité :

Le calcul de l'indice d'athérogénicité est décrit dans la partie expérimentale.

Les valeurs usuelles sont celles inférieures à 5 chez l'homme et à 5,7 chez la femme.

VIII-5. Créatinine [10, 23, 39, 53, 99, 112, 114, 116, 120, 144]

VIII-5.1. Conditions préanalytiques

On prélève le sang capillaire ou le sang veineux. Le dosage est réalisé à partir de sérum ou de plasma hépariné. La créatinine est stable dans le sérum ou le plasma pendant 7 jours à + 4°C, plusieurs mois à -20°C.

VIII-5.2. Méthodes de dosage de la créatinine

La créatinine peut être dosée dans les liquides biologiques par des méthodes colorimétriques, enzymatiques ou chromatographiques.

VIII-5.2.1. Méthodes colorimétriques

Ce sont les techniques les plus utilisées. Elles sont fondées essentiellement sur la réaction de Jaffé. Elles mesurent, à 505 nm, l'intensité de la coloration rouge-orangé du complexe de Janovsky que forment la créatinine et l'acide picrique en milieu alcalin.

Les modalités d'application de la réaction de Jaffé sont fort nombreuses et les techniques développées procèdent, le plus souvent soit à une mesure au point final, avec ou sans élimination préalable des protéines, soit à une mesure de la cinétique de la réaction.

La réaction n'est pas spécifique, elle est sensible à de nombreuses interférences par des molécules présentes dans les spécimens biologiques, induisant des résultats anormalement élevés (glucose, acétoacétate, céphalosporines...) ou anormalement abaissés (bilirubine...). La principale difficulté d'utilisation de la réaction de Jaffé reste de ce fait l'élimination directe ou indirecte de ces interférences.

Certains auteurs dosent la créatinine par la réaction de Jaffé avant et après action d'une créatininase.

VIII-5.2.1.1. Techniques utilisant une réaction au picrate alcalin et une mesure en point final

Dans ce groupe de techniques, actuellement, seules celles comportant une déprotéinisation, sont utilisées. Les dosages sont effectués après élimination des protéines par l'acide tungstique, l'acide trichloracétique ou l'acide picrique ajouté avant alcalinisation ou par dialyse.

Le problème de la spécificité demeure malgré la déprotéinisation. Pour l'améliorer, ont été proposées des méthodes séparant la créatinine par fixation sur résine échangeuse d'ions ou par adsorption sur la bentonite ou le réactif de Lloyd (terre de Füller).

L'influence de certaines substances, comme la bilirubine, susceptibles d'interférer, peut être éliminée ou atténuée soit par dialyse en flux continu, soit par oxydation par le sulfate cérique, l'iode seul ou l'iode et le zinc.

VIII-5.2.1.2. Techniques utilisant une réaction au picrate alcalin et une mesure cinétique

Certaines substances réagissent avec le picrate alcalin plus lentement que la créatinine (glucose, lactulose, protéines, céphalosporines...), d'autres plus rapidement (acétoacétate...); c'est pourquoi le dosage de la créatinine par mesure de la cinétique de la réaction de Jaffé permet de minimiser l'effet de ces substances "*Jaffé positives*" et "*Jaffé négatives*".

Les modes opératoires adoptés (concentrations finales des réactifs, rapport de dilution, durée de la mesure, température...) et la composition des réactifs varient selon les auteurs mais la présence de certaines substances comme la bilirubine, les protéines et les corps cétoniques entraînent toujours des défauts d'exactitude plus ou moins importants.

VIII-5.2.1.3. Autres techniques

L'acide picrique peut être remplacé par l'acide 3,5-dinitrobenzoïque ou par l'acide 1,4-naphtoquinone-2-sulfonique. Ces techniques ne semblent pas apporter d'avantage particulier quant à la spécificité.

VIII-5.2.2. Méthodes enzymatiques

Les principales techniques enzymatiques actuellement utilisées font appel soit à la créatinine amidohydrolase soit à la créatinine désaminase.

VIII-5.2.2.1. Techniques utilisant la créatinine amidohydrolase

La créatine formée par action de l'enzyme peut être évaluée :

-Par transformation en créatine phosphate en faisant appel aux réactions indicatrices suivantes:

Créatine kinase

Créatine + ATP -----> Créatine phosphate + ADP

Pyruvate kinase

ADP + Phosphoénolpyruvate -----> Pyruvate + ATP

Lactate deshydrogénase

Pyruvate + NADH + H⁺ -----> Lactate + NAD⁺

Cette technique nécessite une lecture à 340 nm. Elle manque de sensibilité dans la zone des valeurs usuelles.

- Par transformation en sarcosine

Créatinase

Créatine -----> Urée + Sarcosine

Sarcosine oxydase

Sarcosine + O₂ + H₂O -----> Formaldéhyde + Glycine + H₂O₂

H₂O₂ + 4-aminophénazone *Peroxydase*

+ Acide 3,5-dichloro-2-hydroxy- -----> Quinone monoimine

Benzènesulfonique

Cette technique permet une lecture dans le visible (510 nm) et une plus grande sensibilité, mais l'interférence des substances réductrices (bilirubine, acide ascorbique...) sur la réaction indicatrice subsiste. Certains auteurs préconisent un prétraitement du sérum par la bilirubine-oxydase et l'ascorbate-oxydase pour y remédier.

VIII-5.2.2.2. Technique utilisant la créatinine désaminase

Créatinine désaminase

Créatinine -----> NH_4^+ + 1-méthylhydantoïne

L'ion ammonium est dosé par des électrodes sélectives, par la réaction de Berthelot ou par une réaction enzymatique à la glutamate déshydrogénase avec mesure dans l'ultraviolet à 340 nm de la vitesse de disparition de la coenzyme NADPH, H^+ .

Le dosage de l'ion ammonium endogène doit être préalablement effectué.

Ce double dosage indispensable entraîne une diminution de la reproductibilité des déterminations de la créatinine, ce qui limite l'utilisation de cette technique en pratique courante.

VIII-5.2.3. Méthodes chromatographiques

La créatinine est séparée par chromatographie liquide haute performance sur colonne, en phase inverse octadécyl-silane en C18 (ODS), sous haute pression, en milieu isocratique ou sur résine échangeuse de cations ou par formation de paires d'ions.

Le temps de rétention de la créatinine dépend du pH, de la force ionique et du débit du tampon utilisé. Avant injection du spécimen, les protéines sont éliminées par précipitation par un acide, un solvant organique, par filtration sur membrane, ou par une pré-colonne de la même phase.

La détection la plus répandue est une mesure de l'absorbance dans l'ultraviolet (longueur d'onde variant entre 200 et 260 nm selon les auteurs). La surface du pic d'absorption est comparée à celle d'une gamme aqueuse d'étalons de créatinine.

Les différents travaux rapportés sont concordants : les résultats observés en CLHP sont abaissés (15 à 30 %) par rapport aux techniques de dosage reposant sur la réaction de Jaffé.

VIII-5.2.4. Spectrométrie de masse avec dilution isotopique :

La spectrométrie de masse est une technique de détection extrêmement sensible qui permet de déterminer des structures moléculaires. Le composé organique est ionisé par bombardement électronique et l'ion obtenu permet la détermination de la masse molaire du composé. Il s'agit d'une méthode de référence très complexe développée pour affecter des valeurs à des matériaux de référence. Elle est disponible dans quelques laboratoires hautement spécialisés répartis à travers le monde.

VIII-5.3. Valeurs usuelles de la créatinine mesurée par la méthode de Jaffé :

Chez les sujets normaux, la créatininémie est fonction de l'âge et du sexe. En période post-pubertaire, les valeurs usuelles sont de 4,5 à 9,5 mg/l chez la femme et de 5,0 à 11,3 mg/l chez l'homme. Chez les adultes, elles sont de 5,6 à 11,3 mg/l chez la femme et de 7,3 à 13 mg/l chez l'homme.

VIII-6. Urée [99, 112]:

L'urée est le produit ultime du catabolisme des protides. Elle est synthétisée par les hépatocytes dans la voie de l'uréogénèse, déversée dans le sang et éliminée par les reins. La concentration de l'urée sanguine est corrélée négativement au débit de filtration glomérulaire.

VIII-6.1. Prélèvement :

L'urée est dosée dans le sérum ou dans le plasma hépariné.

VIII-6.2. Méthode volumétrique à l'hypobromite :

C'est une méthode historique qui a conféré le nom d'azotémie à la concentration d'urée dans le sang.

Il s'agit de la mesure, à l'aide généralement d'un uréomètre d'Yvon, du volume d'azote dégagé après oxydation de l'urée à l'aide d'hypobromite de sodium en milieu alcalin. L'azote mesuré est ensuite comparé avec l'azote libéré, dans les mêmes conditions, par une solution d'urée de titre connu.

Au préalable, il faut une défécation du sérum par une solution d'acide trichloracétique.

VIII-6.3. Méthode colorimétrique à la diacétylmonoxime(DAM) :

L'urée, en milieu acide et à chaud, réagit avec le diacétylmonoxime pour former, en présence de thiosemicarbazine, un complexe stable de couleur rose dont l'intensité mesurable en colorimétrie à 520 nm est proportionnelle à la concentration en urée de la prise d'essai.

VIII-6.4. Méthode enzymatique à l'uréase :

L'uréase hydrolyse l'urée en produisant du carbonate et de l'ion ammonium.

L'ion ammonium ainsi produit peut être dosé de trois façons :

- L'ion ammonium chargé positivement a la capacité de modifier la conductivité d'une solution d'électrolytes. On mesure, à l'aide d'une électrode sélective, la cinétique de la variation de la conductivité qui est proportionnelle à la concentration d'urée présente dans l'échantillon.
- L'ion ammonium, en milieu alcalin et en présence de nitroprussiate comme catalyseur, réagit avec le phénol et l'hypochlorite pour former de l'indophénol dont l'intensité de la coloration bleutée, mesurable en colorimétrie à 630 nm, est proportionnelle à la concentration en urée de l'échantillon. Cette technique est celle décrite dans la partie expérimentale.
- L'ion ammonium peut servir à l'amination de l' α -cétoglutarate en présence de glutamate déshydrogénase qui utilise comme coenzyme du NADPH, H⁺ pour former du glutamate. Au cours de cette réaction, la cinétique de l'oxydation du NADPH, H⁺ en NADP⁺, mesurable en ultraviolet à 340 nm, est proportionnelle à la concentration d'urée présente dans l'échantillon.

VIII-6.5. Valeurs usuelles :

Les valeurs usuelles de l'urée chez l'adulte s'étendent de 0,15 à 0,45 g/l et chez le sujet âgé, elles varient de 0,2 à 0,5 g/l.

VIII-7. Acide urique [99, 112] :

VIII-7.1. Conditions préanalytiques :

Le dosage se fait sur du sérum ou du plasma hépariné si on utilise une technique enzymatique. Si, par contre, on utilise la technique chimique colorimétrique, le dosage se fait sur du plasma oxalaté.

Le sujet doit être à jeûn de 12 heures et doit éviter de prendre du thé, du café, de la cola, du cacao. En effet, la caféine, la théobromine et la théophylline contenues dans ces aliments sont des bases puriques qui peuvent être catabolisées en acide urique et ses analogues structuraux comme l'hypoxanthine et la xanthine.

VIII-7.2. Méthode chimique colorimétrique à l'acide phosphotungstique :

L'acide urique, en milieu alcalin, réduit l'acide phosphotungstique pour former du bleu de tungstène dont l'intensité de la coloration mesurable en colorimétrie en 550 nm est proportionnelle à la concentration d'acide urique présente dans l'échantillon.

VIII-7.3. Méthode enzymatique à l'uricase :

L'uricase ou l'urate-oxydase, en présence d'oxygène et d'eau, provoque l'ouverture du noyau purique de l'acide urique avec formation d'allantoïne, de CO_2 et de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

Cette réaction est exploitable soit en considérant la disparition de l'acide urique, soit en considérant la production du peroxyde d'hydrogène (cette technique est celle employée dans la partie expérimentale, elle y est donc décrite).

La vitesse de disparition de l'acide urique qui absorbe spécifiquement dans l'ultraviolet grâce à ses doubles liaisons conjuguées mesurable à 292 nm est proportionnelle à la concentration en acide urique présente dans l'échantillon.

C'est une méthode spécifique, sensible et automatisable.

VIII-7.4. Valeurs usuelles :

Les valeurs usuelles sont comprises entre 25 et 72 mg/l.

SECONDE PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

I. OBJECTIFS

I-1. Objectifs généraux

- Déterminer, parmi les formules de Cockcroft et Gault, du MDRD modifié et du CKD-EPI, la formule d'estimation du débit de filtration glomérulaire la mieux adaptée chez des sujets diabétiques de race noire au Sénégal
- Rechercher les relations éventuelles entre le débit de filtration glomérulaire déterminé à l'aide de la formule la mieux adaptée et les marqueurs du contrôle de l'équilibre glycémique (glycémie à jeun, HbA_{1c}) et de risque cardiovasculaire (triglycérides, cholestérol et ses différentes fractions) chez les sujets diabétiques qui développeraient une néphropathie au cours du diabète.

I-2. Objectifs spécifiques

- Déterminer l'urémie, la créatininémie puis estimer le DFG à l'aide des formules de Cockcroft et Gault, du MDRD modifié et du CKD-EPI dans la population d'étude
- Déterminer la glycémie à jeun, doser l'HbA_{1c} puis déterminer la glycémie moyenne dans la population d'étude
- Doser les marqueurs classiques du risque cardiovasculaire (triglycérides, cholestérol et ses différentes fractions) dans la population d'étude
- Comparer les résultats du bilan glucidique (glycémie, glycémie moyenne, HbA_{1c}) au sein de la population d'étude
- Comparer les résultats du bilan lipidique (triglycérides, cholestérol et ses différentes fractions) au sein de la population d'étude
- Comparer les résultats du bilan rénal (urémie, créatininémie et DFG) au sein de la population d'étude
- Comparer les résultats du DFG obtenus à l'aide des formules de Cockcroft et Gault, du MDRD modifié et du CKD-EPI au sein de la population d'étude
- Rechercher la relation entre le DFG et les marqueurs de l'équilibre glycémique (glycémie à jeun, glycémie moyenne et HbA_{1c})
- Rechercher la relation entre le DFG et la créatininémie
- Rechercher la relation entre le DFG et les marqueurs classiques de risque cardiovasculaire (Triglycérides, Cholestérol et ses différentes fractions).

II. CADRE DE L'ETUDE

Le recrutement des sujets diabétiques a été effectué au centre antidiabète Marc Sankalé sis à l'hôpital Abass Ndao de Dakar.

Le recrutement des témoins a été effectué au laboratoire de biologie médicale de l'Hôpital d'Enfants Albert Royer (HEAR) de Dakar.

Le dosage des paramètres du bilan glucidique (glycémie), du bilan lipidique (triglycérides, cholestérol et ses différentes fractions) et du bilan rénal (urémie, uricémie, créatininémie) a été réalisé au laboratoire de biologie médicale de l'hôpital d'enfants Albert Royer (HEAR) de Dakar.

L'HbA_{1c} a été dosé au laboratoire de biologie médicale Prodiamed sis à l'UCAD2 à l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

III. POPULATION

Il s'agit d'une étude analytique d'observation prospective (cas-témoins).

L'étude porte sur des sujets indemnes de diabète, des sujets vivant avec le diabète de type 1 et des sujets vivant avec le diabète de type 2. Les sujets sont recrutés au tout venant. Les sujets diabétiques sont déjà connus et le type de diabète est obtenu à l'aide du dossier médical. Ils sont tous des sénégalais de race noire de type sub-saharien ayant participé à l'étude après un consentement éclairé.

La population d'étude est formée de trois groupes de sujets.

Un premier groupe est composé de 58 sujets indemnes de diabète dont 27 hommes et 31 femmes, âgés de 18 à 66 ans avec une moyenne d'âge de 35,6 +/- 12,91 ans.

Un deuxième groupe est composé de 59 sujets diabétiques de type 1 dont 23 hommes et 36 femmes, âgés de 18 à 63 ans avec une moyenne d'âge de 35,39 +/- 11,28 ans. La durée moyenne du diabète est de 11,46 +/- 6,51 ans dans ce groupe.

Un troisième groupe est composé de 70 sujets diabétiques de type 2 dont 14 hommes et 56 femmes, âgés de 40 à 77 ans avec une moyenne d'âge de 58,86 +/- 9,93 ans. La durée moyenne du diabète est de 8,01 +/- 5,38 ans dans ce groupe.

Critères d'exclusion

Les femmes enceintes, les sujets âgés de moins de 18 ans, les sujets dont l'examen cytologique des urines a révélé la présence de leucocytes, d'érythrocytes et/ou de cellules épithéliales, les sujets dont l'examen bactériologique des urines a montré la présence de microorganismes et les sujets diabétiques de type 2 qui sont sous insulinothérapie substitutive sont exclus de l'étude.

IV. MATERIELS ET METHODES

IV-1. Matériels

IV-1.1. Matériels de détermination des caractéristiques anthropométriques et cliniques

L'âge, le poids, la taille, le tour de taille et le tour de hanche sont obtenus à l'aide respectivement de la carte d'identité, de la balance, de la toise et du centisouple.

IV-1.2. Matériels de détermination des paramètres biologiques

La glycémie, l'urémie, l'uricémie, la triglycémie, la cholestérolémie, la HDL-cholestérolémie sont toutes déterminées sur le semi-automate Biosystems BTS 350 en utilisant les kits de Biosystems (Biosystems reagents & instruments, Costa Brava, Barcelona, Spain).

La créatininémie est déterminée sur le semi-automate Hospitex master t (Hospitex diagnostics, Via Lucchese, Sesto Fiorentino (Firenze, Italie) en utilisant le kit créatinine picrate alcalin ((Biosystems reagents & instruments, Costa Brava, Barcelona, Spain).

L'HbA_{1c} est dosée en utilisant le kit HbA_{1c} de Roche sur l'automate Cobas C 111 (Hoffmann La-Roche, Basel, Switzerland).

IV-1.3. Matériel utilisé dans l'étude statistique

L'analyse statistique est réalisée à l'aide de la version académique 2007 du logiciel Microsoft Excel (Microsoft, Redmond, USA).

IV-2. Méthodes

IV-2.1. Méthodes d'étude des caractéristiques anthropométriques et cliniques

Le sexe des sujets inclus dans l'étude a été relevé pendant l'anamnèse.

La thérapie dont bénéficient les patients, le type et l'ancienneté du diabète sont relevés en interrogeant les malades mais aussi en consultant leur dossier.

L'indice de masse corporelle (IMC) est déterminé en rapportant le poids au carré de la taille :

$$\text{Poids (kg) / Taille}^2 \text{ (m}^2\text{)}$$

L'IMC s'exprime en kg/m².

L'indice de masse grasse (IMG) est obtenu à l'aide de la formule suivante :

$$(1,2 * \text{IMC}) + (0,23 * \text{âge}) - (10,8 * S) - 5,4 \quad \text{avec}$$

S=0 chez la femme et S=1 chez l'homme ;

IMC en kg/m² ;

Âge en années.

L'IMG s'exprime en %.

IV-2.2. Méthodes d'étude des paramètres biologiques :

Les sujets inclus dans l'étude ont tous subi des prélèvements de sang et d'urines qui ont servi à la détermination des paramètres biologiques.

IV-2.2.1. Conditions préanalytiques :

Des prélèvements de sang ont été effectués chez tous les sujets inclus dans l'étude.

Le prélèvement de sang est effectué chez le sujet à jeun depuis au moins 12 heures, en position assise, par ponction au niveau des veines du pli du coude à l'aide d'un garrot et d'un vacutainer après nettoyage de la zone de piqûre avec du coton imbibé d'alcool à 70°. Le sang est recueilli dans deux tubes contenant de l'EDTA (Ethylène- Diamine-Tétra-Acétate), un tube contenant un anticoagulant et un antiglycolytique (fluorure de Na⁺) et un tube sans anticoagulant. En moyenne, 3 ml de sang sont recueillis dans chaque tube.

Tous les tubes, sauf un à EDTA, sont centrifugés à 3000 tours par minute pendant 5 minutes.

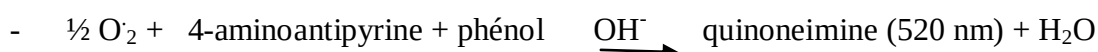
Le sérum, le plasma « fluoré », le plasma issu du tube contenant l'EDTA séparés des culots globulaires sont conditionnés dans des tubes NUNK. Les échantillons ainsi conditionnés et le tube non centrifugé sont ensuite conservés à -20°C jusqu'au jour des dosages.

IV-2.2.2. Détermination de la glycémie à jeun :

IV-2.2.2.1. Principe :

La méthode de dosage du glucose plasmatique employée est la méthode enzymatique à la glucose oxydase/péroxydase. Cette méthode utilise deux enzymes :

- La première, la glucose oxydase transforme le glucose en acide gluconique entraînant une libération de peroxyde d'hydrogène.
- La deuxième, la péroxydase, catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène actif. Cet oxygène actif va, par la suite, oxyder un chromogène phénolique incolore (CH_2) en une quinoneimine colorée (C). L'intensité de la coloration obtenue est quantifiable en spectrophotométrie et est proportionnelle à la concentration du glucose contenu dans l'échantillon.



IV-2.2.2.2. Caractéristiques de la méthode :

Cette méthode est pratiquée en point final.

Le chromogène phénolique incolore utilisé dans cette méthode est la 4-aminoantipyrine + phénol en milieu alcalin.

La lecture de l'intensité de la coloration rose rouge obtenue avec la quinoneimine générée par le chromogène phénolique incolore se fait à 500 +/- 20 nm.

Le seuil de détection de cette méthode est de 0,0023 g/l et la limite de linéarité est de 5 g/l.

IV-2.2.2.3. Les interférences :

La glucose oxydase est très spécifique du glucose. Néanmoins, des interférences surtout liées à la série de réactions qui prend effet à partir de la peroxydase, qu'on appelle la réaction de Trinder, ont été notées. Il s'agit notamment d'interférences dues à des produits colorés tels que l'hémoglobine qui a une coloration (rouge) dont le spectre d'absorption est superposable à celui de la coloration (rose) obtenue avec la quinoneimine et qui, de ce fait, donne des résultats par excès ; ou encore à des produits qui ont un pouvoir réducteur tels que l'acide ascorbique ou le glutathion réduit qui, en compétition avec le POD, peuvent réduire le peroxyde d'hydrogène et entraînent, de facto, des résultats par défaut.

IV-2.2.3. Détermination du taux d'HbA_{1c} :

IV-2.2.3.1. Principe :

Le dosage de l'HbA_{1c} est effectué par immunoturbidimétrie par inhibition.

L'HbA_{1c}, présente dans l'échantillon, réagit avec son seul site antigénique avec l'anticorps anti-HbA_{1c} pour former un complexe antigène-anticorps soluble.

Ensuite, les polyhaptènes réagissent avec l'excès d'anticorps anti-HbA_{1c} pour former des complexes polyhaptène-anticorps insolubles qui sont mesurés par turbidimétrie.

Après hémolyse par le bromure de tétradécyltriméthylammonium (qui ne lyse pas les leucocytes), l'hémoglobine libérée est transformée en un dérivé qui possède des propriétés spectrales caractéristiques. Le dérivé est alors mesuré bichromatiquement pendant la phase de préincubation (échantillon + anticorps) de la réaction immunologique. Un réactif pour séparer les hémoglobines n'est donc pas nécessaire.

IV-2.2.3.2. Caractéristiques de la méthode :

Les mesures photométrique et turbidimétrique se font respectivement à 378 nm et à 659 nm.

Le résultat final est exprimé sous forme de pourcentage d'HbA_{1c} calculé à partir du ratio HbA_{1c}/Hb comme suit :

Protocole 1:

$$\text{HbA}_{1c} (\%) = (\text{HbA}_{1c}/\text{Hb}).100$$

Protocole 2:

$$\text{HbA}_{1c} (\%) = (\text{HbA}_{1c}/\text{Hb}).87,6 + 2,27$$

IV-2.2.3.3. Les interférences:

L'hémoglobine glyquée des patients souffrant d'hémoglobinopathies (HbS, HbC, HbAE) peut être dosée avec cette méthode.

IV-2.2.4. Détermination de la glycémie moyenne :

La moyenne glycémique des deux mois précédents est définie par la formule suivante :

$$\text{Glycémie (g/l)} = [(35,6. \% \text{ HbA}_{1c}) - 77,3].0,01$$

N.B. : Cette relation a été établie à partir d'une population de sujets diabétiques de type 1.

IV-2.2.5. Détermination de la triglycéridémie :

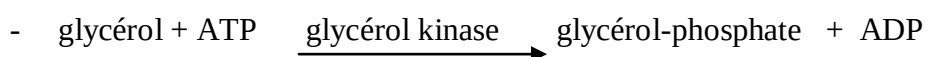
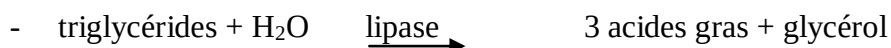
IV-2.2.5.1. Principe :

La méthode de dosage des triglycérides sériques appliquée est la méthode enzymatique utilisant le système lipase/ glycérol kinase/ 3-phosphoglycérol oxydase/ peroxydase.

Sous l'action catalytique d'une lipase, les triglycérides libèrent des acides gras et du glycérol.

Le glycérol est alors dosé. Sous l'action catalytique d'une glycérol kinase, le glycérol réagit avec l'ATP pour produire de l'ADP et du glycérol-phosphate.

Puis le glycérol-phosphate est oxydé en dihydroxyacétone-phosphate sous l'action catalytique d'une glycérol-phosphate oxydase, ce qui aboutit à la production, en plus, de peroxyde d'hydrogène. Celui-ci est pris en charge dans la réaction de Trinder : une peroxydase catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène actif qui va oxyder un chromogène phénolique incolore en une quinoneimine colorée. L'intensité de cette coloration, mesurable en spectrophotométrie, est proportionnelle à la concentration de glycérol présent dans la prise d'essai et par ricochet à la concentration en triglycérides de l'échantillon à doser.



glycérol-phosphate



IV-2.2.5.2. Caractéristiques de la méthode :

Cette méthode est pratiquée en point final.

Le chromogène phénolique incolore employé dans cette méthode est la 4-aminoantipyrine additionnée du 4-chlorophénol en milieu alcalin.

La lecture de l'intensité de la coloration rose rouge obtenue avec la quinoneimine générée par le chromogène phénolique incolore se fait à 520 +/- 20 nm.

Le seuil de détection de cette méthode est de à 0,016 g/l et la limite de linéarité est de 6 g/l.

IV-2.2.5.3. Les interférences :

Cette méthode enzymatique est assez spécifique pour les deux premières réactions catalysées par la lipase, la glycérol kinase et la glycérol-phosphate oxydase.

On note des interférences liées à la réaction de Trinder dues notamment à l'hémolyse, à la bilirubine, à des substances réductrices telles que l'acide ascorbique...

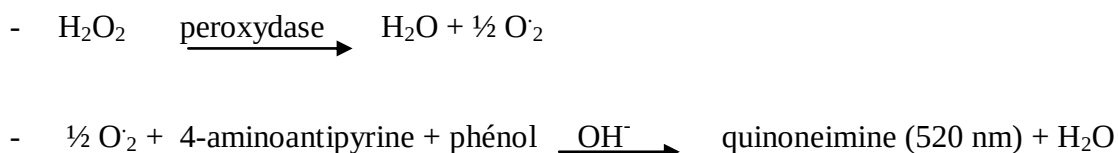
IV-2.2.6. Détermination de la cholestérolémie :

IV-2.2.6.1. Principe :

La méthode de dosage du cholestérol sérique est la méthode enzymatique utilisant le système cholestérol estérase/cholestérol oxydase/ peroxydase.

Le cholestérol estérifié est hydrolysé par la cholestérol estérase. Le cholestérol libre est alors oxydé en présence de la cholestérol oxydase, en milieu aqueux en présence d'oxygène, en 4-cholestène-3-one avec production de peroxyde d'hydrogène. Ce peroxyde d'hydrogène est par la suite pris en charge dans la réaction de Trinder : une peroxydase catalyse la réduction du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène actif qui va oxyder un chromogène phénolique incolore en une quinoneimine colorée. L'intensité de cette coloration, mesurable en spectrophotométrie, est proportionnelle à la concentration en cholestérol de l'échantillon à doser.





IV-2.2.6.2. Caractéristiques de la méthode :

Cette méthode est pratiquée en point final.

Le chromogène phénolique incolore utilisé dans cette méthode est la 4-aminoantipyrine additionnée du phénol.

La lecture de l'intensité de la coloration rose rouge obtenue avec la quinoneimine générée par le chromogène phénolique incolore se fait à 520 +/- 20 nm.

Le seuil de détection de cette méthode est de 0,003 g/l et la limite de linéarité est de 10 g/l.

IV-2.2.6.3. Les interférences :

Cette méthode enzymatique est assez spécifique, tout au moins en ce qui concerne les deux premières réactions catalysées par la cholestérol estérase et la cholestérol oxydase. On note des interférences liées à la réaction de Trinder dues notamment à l'hémolyse, à la bilirubine, à des substances réductrices telles que l'acide ascorbique...

IV-2.2.7. Détermination de la HDL-cholestérolémie :

La méthode de dosage du HDL-cholestérol sérique est la méthode enzymatique utilisant le système cholestérol estérase/ cholestérol oxydase/ peroxydase après précipitation des VLDL et LDL avec le phosphotungstate de Mg^{2+} .

IV-2.2.7.1. Principe :

Après précipitation de l'ensemble VLDL + LDL et centrifugation, le dosage du cholestérol du liquide surnageant, pratiqué de la même manière que le dosage du cholestérol total, exprime la teneur en cholestérol des HDL qui est la fraction lipoprotéinique non précipitée.

IV-2.2.7.2. Caractéristiques de la méthode :

Cette méthode est pratiquée en point final.

La précipitation de l'ensemble VLDL + LDL est effectuée en utilisant de l'acide phosphotungstique et du chlorure de magnésium.

La centrifugation se fait à 4000 tours par minute pendant 10 minutes.

Le chromogène phénolique incolore employé dans cette méthode est la 4-aminoantipyrine additionnée du dichlorophénolsulfonate.

La lecture de l'intensité de la coloration rose rouge obtenue avec la quinoneimine générée par le chromogène phénolique incolore se fait à 520 +/- 20 nm.

Le seuil de détection de cette méthode est de 0,03 g/l et la limite de linéarité est de 1,5 g/l.

IV-2.2.8. Détermination de la LDL-cholestérolémie :

La LDL-cholestérolémie a été obtenue selon la formule de Friedwald. Cette formule se base sur le cholestérol total, les triglycérides et le HDL-cholestérol. Selon la formule de Friedwald :

$$\text{LDL-Chol (g/l)} = \text{CT} - (\text{HDL-Chol} + \text{TG}/5)$$

Ou encore,

$$\text{LDL-Chol (mmol/l)} = \text{CT} - (\text{HDL-Chol} + \text{TG}/2,2)$$

Cette formule devient inexacte si la triglycéridémie s'élève au dessus de 4 g/l et la prudence impose qu'elle ne soit pas appliquée à partir de 3,4 g/l.

IV-2.2.9. Calcul de l'indice d'athérogénicité :

L'indice d'athérogénicité (IA) exprime le rapport du cholestérol total sur le cholestérol HDL :

$$\text{IA} = \text{cholestérol total} / \text{cholestérol-HDL}$$

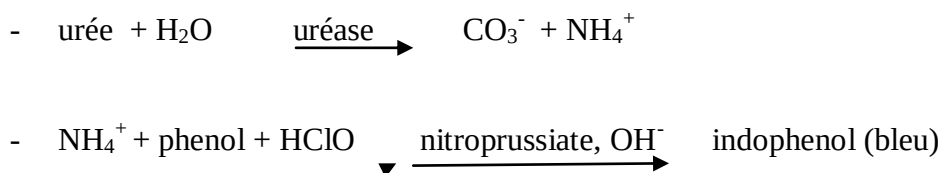
Remarque : il existe d'autres formules pour calculer l'indice d'athérogénicité.

IV-2.2.10. Détermination de l'urémie :

La méthode de détermination de l'urémie est la méthode enzymatique à l'uréase.

L'uréase hydrolyse l'urée en produisant du carbonate et de l'ion ammonium. L'ion ammonium, en milieu alcalin et en présence de nitroprussiate comme catalyseur, réagit avec

le phénol et l'hypochlorite pour former de l'indophénol dont l'intensité de la coloration bleutée, mesurable en colorimétrie à 600 +/- 20 nm, est proportionnelle à la concentration en urée de l'échantillon.



Le seuil de détection de la méthode est de 0,013 g/l et la limite de linéarité est de 3 g/l.

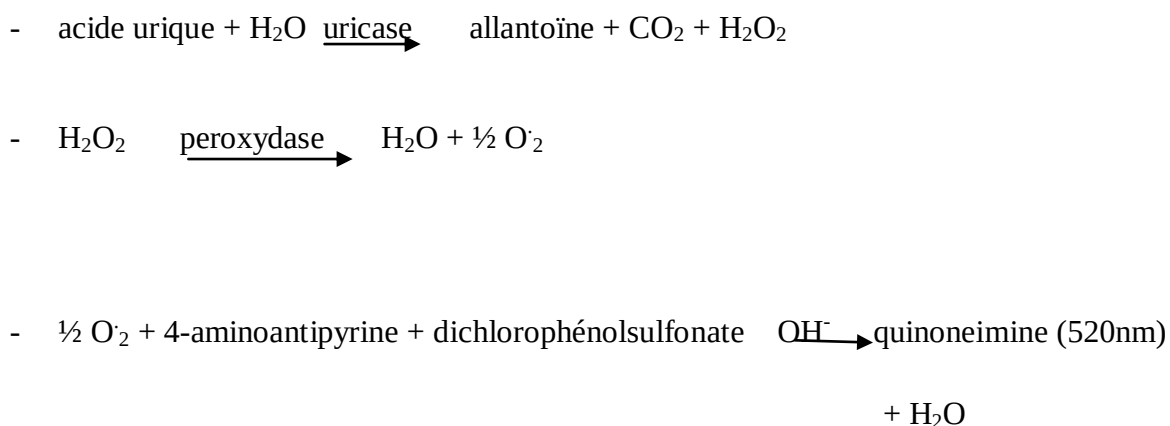
IV-2.2.11. Détermination de l'uricémie :

IV-2.2.11.1. Principe :

La méthode de détermination de l'uricémie est la méthode enzymatique à l'uricase.

L'uricase ou l'urate-oxydase, en présence d'oxygène et d'eau, provoque l'ouverture du noyau purique de l'acide urique avec formation d'allantoïne, de CO₂ et de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

Le peroxyde d'hydrogène, à l'aide d'une peroxydase, peut être réduit en eau avec production d'oxygène actif qui va oxyder un chromogène phénolique incolore en une quinoneimine colorée. L'intensité de la coloration, mesurable en spectrophotométrie, est proportionnelle à la concentration d'acide urique présente dans l'échantillon.



IV-2.2.11.2. Caractéristiques de la méthode :

Cette méthode est pratiquée en point final.

Le chromogène phénolique incolore employé est la 4-aminoantipyrine additionnée du dichlorophénolsulfonate.

La lecture de l'intensité de la coloration jaune clair obtenue avec la quinoneimine générée par le chromogène phénolique incolore se fait à 520 +/- 20 nm.

Le seuil de détection de la méthode est de $2 \cdot 10^{-1}$ mg/l et la limite de linéarité est de 250 mg/l.

IV-2.2.11.3. Les interférences :

Cette méthode enzymatique est assez spécifique pour la réaction catalysée par l'uricase. On note des interférences liées à la réaction de Trinder dues notamment à l'hémolyse, à la bilirubine, à des substances réductrices telles que l'acide ascorbique...

IV-2.2.12. Détermination de la créatininémie :

IV-2.2.12.1. Principe :

La méthode de détermination de la créatininémie est la méthode chimique colorimétrique. Elle est fondée sur la réaction de Jaffé. Elle mesure, à 505 nm, l'intensité de la coloration rouge-orangé du complexe de Janovsky que forment la créatinine et l'acide picrique en milieu alcalin.

IV-2.2.12.2. Caractéristiques de la méthode :

Cette méthode est pratiquée en cinétique.

La limite de détection de la méthode est de 0,3 mg/l et la limite de linéarité est de 200 mg/l.

IV-2.2.12.3. Les interférences :

La réaction de Jaffé n'est pas spécifique, elle est sensible à de nombreuses interférences par des molécules présentes dans les spécimens biologiques, induisant des résultats anormalement élevés (glucose, acétoacétate...) ou anormalement abaissés (bilirubine...). La principale

difficulté d'utilisation de la réaction de Jaffé reste de ce fait l'élimination directe ou indirecte de ces interférences.

Néanmoins certaines substances réagissent avec le picrate alcalin plus lentement que la créatinine (glucose, lactulose, protéines...), d'autres plus rapidement (acétoacétate...); c'est pourquoi le dosage de la créatinine par mesure de la cinétique de la réaction de Jaffé permet de minimiser l'effet de ces substances "*Jaffé positives*" et "*Jaffé négatives*". Toutefois, la présence de certaines substances comme la bilirubine, les protéines et les corps cétoniques entraînent toujours des défauts d'exactitude plus ou moins importants.

IV-2.2.13. Détermination du débit de filtration glomérulaire (DFG)

Trois formules sont utilisées pour estimer le débit de filtration glomérulaire. Il s'agit de la formule de Cockcroft et Gault, de la formule du MDRD modifiée et de la formule du CKD-EPI.

Avec la formule de Cockcroft et Gault, le DFG est estimé comme suit :

$$\text{DFG-CG (mL/min)} = \frac{(140 - \text{âge}) \times \text{poids (kg)}}{\text{Cr (}\mu\text{mol/L)} \times \text{K}}$$

Avec :

K = 1,23 pour les hommes

K = 1,04 pour les femmes

Age exprimé en années

Cr : créatinine sérique

Avec la formule du MDRD modifié, le DFG est déterminé comme suit :

$$\text{DFG- MDRD} = 186 \times \text{Cr}^{-1,154} \times \text{âge}^{-0,203} \times 0,742 \text{ (si } \text{♀}) \times 1,212 \text{ (race noire)}$$

Avec la formule du CKD-EPI, le DFG est calculé comme suit :

Tableau V : équations du CKD-EPI chez les sujets de race noir

Race et sexe	Créatininémie ($\mu\text{mol/l}$)	Equations
Noir		
Femme	≤ 62	$166.(\text{Cr}/0,7)^{-0,329} \cdot (0,993)^{\text{âge}}$
	> 62	$166.(\text{Cr}/0,7)^{-1,209} \cdot (0,993)^{\text{âge}}$
Homme	≤ 80	$163.(\text{Cr}/0,7)^{-0,411} \cdot (0,993)^{\text{âge}}$
	> 80	$163.(\text{Cr}/0,7)^{-1,209} \cdot (0,993)^{\text{âge}}$

IV-2.3. Analyse statistique

Les données sont exprimées sous forme de moyennes $\pm$ écart-types. La comparaison des moyennes obtenues dans les différents groupes étudiés est effectuée à l'aide du test t de Student après comparaison des variances avec le test de Levene (test F). Les différences de moyennes observées entre les différents groupes étudiés sont considérées comme significatives pour des valeurs de $p < 0,05$.

Les variations pathologiques des paramètres étudiés chez les sujets à risque d'atteinte rénale sont exprimées sous forme de proportions. Les différences de proportions sont considérées comme statistiquement significatives avec des valeurs de $T_0\alpha > 1,96$.

Les corrélations entre les différents paramètres étudiés sont déterminées en calculant le coefficient de corrélation de Pearson. La comparaison entre les différents coefficients de corrélation est effectuée en appliquant le test Z après transformation de Fisher des coefficients de corrélation. Les différences de corrélation observées entre les différents paramètres dans les différents groupes étudiés sont considérées comme significatives pour des valeurs de $Z_{0\alpha} > 1,96$.

V. RESULTATS

V-1. Etude comparée des variables anthropométriques, hématologiques et biochimiques entre les différents groupes de la population d'étude

V-1.1. Etude comparée des moyennes des variables anthropométriques entre les différents groupes de la population d'étude

Tableau VI: Comparaison des moyennes des variables anthropométriques entre sujets diabétiques de type 1 et témoins

	DT1	Témoins	p-value < 5.10^{-2}
Age (ans)	35,39+/-11,28	35,6+/-12,91	$9,2.10^{-1}$
IMC (kg/m ²)	22,61+/-3,92	23,39+/-4,93	$3,4.10^{-1}$
Tour de taille (cm)	81,61+/-10,51	75+/-14,17	$8,9.10^{-1}$
Tour de hanche (cm)	97,32+/-10,51	98,08+/-12,04	7.10^{-1}
Fréquence (H/H+F)	0,39	0,45	
sexe ratio (H/F)	0,64	0,81	

Tableau VII : Comparaison des moyennes des variables anthropométriques entre sujets diabétiques de type 1 et sujets diabétiques de type 2

	DT1	DT2	p-value<0,05
Age (ans)	35,39+/-11,28	58,86+/-9,93	$5,03.10^{-24}$
IMC (kg/m ²)	22,61+/-3,92	25,77+/-4,84	$9,8.10^{-5}$
Tour de taille (cm)	81,61+/-10,51	89,835+/-11,98	$9,5.10^{-5}$
Tour de hanche (cm)	97,32+/-10,51	104,24+/-11,69	$6,3.10^{-4}$
Ancienneté (ans)	11,46+/-6,51	8,01+/-5,38	$1,2.10^{-3}$
Fréquence (H/H+F)	0,39	0,20	
sexe ratio (H/F)	0,64	0,25	

L'analyse des paramètres anthropométriques montre que sur :

-le tableau VI, le sex ratio et les moyennes d'âge, d'IMC, de tour de hanche sont diminués chez les sujets diabétiques de type 1 par rapport aux témoins. Seule la moyenne de tour de taille est élevée chez les sujets diabétiques de type 1 comparée à celle des témoins. Ces variations ne sont pas statistiquement significatives.

-le tableau VII, les moyennes d'âge, d'IMC, de tour de taille et de tour de hanche sont significativement abaissées chez les sujets diabétiques de type 1 comparées à celles des sujets diabétiques de type 2 qui ont, en revanche, le sex ratio le plus faible.

La durée moyenne du diabète observée chez les sujets diabétiques de type 1 est significativement supérieure à celle obtenue chez les sujets diabétiques de type 2.

V-1.2. Etude comparée des moyennes des variables hématologiques entre les différents groupes de la population d'étude

Tableau VIII : comparaison des moyennes des variables hématologiques entre sujets diabétiques de type 1 et témoins

	DT1	Témoins	p-value < 5 .10 ⁻²
GB (1000/ μ l)	6,60+/-1,76	5,00+/-1,18	0
PLQ (1000/ μ l)	333,925+/-94,99	252,965+/-69,12	0
GR (10 ⁶ / μ l)	4,60+/-0,64	4,74+/-0,50	2,2.10 ⁻¹
Hb (g/dl)	12,245+/-1,92	13,09+/-1,63	2,2.10 ⁻²
VGM (fl)	81,97+/-11,18	86,20+/-5,82	2,0.10 ⁻²
TCMH (pg)	26,74+/-2,48	27,61+/-2,32	8,0.10 ⁻²
CCMH (g/dl)	32,06+/-1,06	32,14+/-1,23	7,4.10 ⁻¹

Tableau IX : Comparaison des moyennes des variables hématologiques entre sujets diabétiques de type 1 et sujets diabétiques de type 2

	DT1	DT2	p-value < 5.10 ⁻²
GB (1000/ μ l)	6,60+/-1,76	5,895+/-1,70	4,9.10 ⁻²
PLQ (1000/ μ l)	333,925+/-94,99	290,557+/-74,32	9,1.10 ⁻³
GR (10 ⁶ / μ l)	4,60+/-0,64	4,66+/-0,51	5,7.10 ⁻¹
Hb (g/dl)	12,245+/-1,92	12,79+/-1,23	7,5.10 ⁻²
VGM (fl)	81,97+/-11,18	85,17+/-4,71	3,8.10 ⁻²
TCMH (pg)	26,74+/-2,48	27,47+/-1,64	6.10 ⁻²
CCMH (g/dl)	32,06+/-1,06	32,42+/-0,83	5.10 ⁻²

L'étude des paramètres hématologiques fait apparaître :

-sur le tableau VIII, une élévation significative du nombre de leucocytes et de thrombocytes, une baisse significative du taux d'hémoglobine et du VGM, une diminution non significative du TCMH, du CCMH et des érythrocytes chez les sujets diabétiques de type 1 au regard des témoins.

-sur le tableau IX, une augmentation significative du nombre de leucocytes et de thrombocytes, une baisse non significative des hématies, du taux d'hémoglobine et du TCMH, et une diminution significative du VGM et de la CCMH chez les sujets diabétiques de type 1 comparés aux sujets diabétiques de type 2.

V-1.3. Etude comparée des moyennes des variables biochimiques entre les différents groupes de la population d'étude

Tableau X : comparaison des moyennes des variables biochimiques (glucidiques et lipidiques) entre sujets diabétiques de type 1 et témoins

	DT1 (n=59)	Témoins (n=58)	p-value < 5.10^{-2}
Glycémie (g/l)	1,99+/-0,94	0,85+/-0,18	0
Glycémie moyenne (g/l)	3,06+/-1,19	1,61+/-0,24	$1,3.10^{-14}$
HbA _{1c} (%)	10,76+/-3,35	6,70+/-0,68	$1,3.10^{-14}$
TG (g/l)	0,73+/-0,24	0,67+/-0,25	$1,5.10^{-1}$
CT (g/l)	1,95+/-0,48	1,78+/-0,48	$5,3.10^{-2}$
C-LDL (g/l)	1,11+/-0,58	1,13+/-0,46	$8,3.10^{-1}$
C-HDL (g/l)	0,695+/-0,32	0,52+/-0,15	0

Tableau XI : Comparaison des moyennes des variables biochimiques (glucidiques et lipidiques) entre sujets diabétiques de type 1 et sujets diabétiques de type 2

	DT1 (n=59)	DT2 (n=70)	p-value < 5.10^{-2}
Glycémie (g/l)	1,99+/-0,94	1,70+/-0,79	$6,5.10^{-2}$
Glycémie moyenne (g/l)	3,06+/-1,19	2,71 +/- 0,79	$5,3.10^{-2}$
HbA _{1c} (%)	10,76+/-3,35	9,79+/-2,21	$5,3.10^{-2}$
TG (g/l)	0,73+/-0,24	0,79+/-0,27	$2,05.10^{-1}$
CT (g/l)	1,95+/-0,48	2,18+/-0,49	8.10^{-3}
C-LDL (g/l)	1,11+/-0,58	1,485+/-0,49	$9,8.10^{-5}$
C-HDL (g/l)	0,695+/-0,32	0,535+/-0,16	$2,9.10^{-4}$
Risque athérogène	3,37+/-1,655	4,42+/-1,75	$6,3.10^{-4}$

L'étude des paramètres biochimiques, en particulier de l'équilibre glycémique et du bilan lipidique, fait ressortir :

-sur le tableau X, une augmentation significative des marqueurs de l'équilibre glycémique (glycémie à jeun, glycémie moyenne, HbA_{1c}), une élévation non significative des paramètres du bilan lipidique (triglycéridémie, cholestérolémie, HDL-cholestérolémie), à l'exception de la LDL-cholestérolémie qui est non significativement abaissée, chez les sujets diabétiques de type 1 par rapport aux témoins.

-sur le tableau XI, des valeurs moyennes des marqueurs de l'équilibre glycémique (glycémie à jeun, glycémie moyenne, HbA_{1c}) non significativement augmentées chez les sujets diabétiques de type 1 comparés aux sujets diabétiques de type 2 qui, en revanche, présentent une triglycéridémie, une cholestérolémie, une LDL-cholestérolémie et un risque athérogène significativement plus élevés avec une HDL-cholestérolémie significativement abaissée.

Tableau XII: Comparaison des moyennes des variables biochimiques du bilan rénal entre sujets diabétiques de type 1 et témoins

	DT1 (n=59)	Témoin (n=58)	p-value < 5.10 ⁻²
Urémie (g/l)	0,34+/-0,24	0,25+/-0,06	7,0.10 ⁻³
Uricémie (mg/l)	56,17+/-14,91	51,96+/-13,76	1,15.10 ⁻¹
Créatininémie (μmol/l)	114,47+/-152,79	95,34+/-18,94	3,4.10 ⁻¹
DFG-CG (ml/min/1,73m ²)	82,61+/-26,57	84,88+/-20,09	5,9.10 ⁻¹
DFG-MDRD (ml/min/1,73m ²)	89,96+/-26,21	89,67+/-17,53	9,7.10 ⁻¹
DFG-CKD-EPI (ml/min/1,73m ²)	91,11+/-25,91	91,18+/-18,81	9,6.10 ⁻¹

Tableau XIII: Comparaison des moyennes des variables biochimiques du bilan rénal entre sujets diabétiques de type 1 et sujets diabétiques de type 2

	DT1 (n=59)	DT2 (n=70)	p-value < 5.10 ⁻²
Urémie (g/l)	0,34+/-0,24	0,31+/-0,12	4.10 ⁻¹
Uricémie (mg/l)	56,17+/-14,91	60,66+/-23,45	2.10 ⁻¹
Créatininémie (μmol/l)	114,47+/-152,79	91,83+/-22,05	2,6. 10 ⁻¹
DFG-CG (ml/min/1,73m ²)	82,61+/-26,57	71,87+/-24,23	1,8.10 ⁻²
DFG-MDRD (ml/min/1,73m ²)	89,96+/-26,21	78,61+/-19,04	5,2.10 ⁻³
DFG-CKD-EPI (ml/min/1,73m ²)	91,11+/-25,91	76,23+/-19,06	2,7.10 ⁻⁴

Sur les tableaux XII et XIII qui présentent les résultats de l'étude des paramètres biochimiques du bilan rénal le constat est que :

- l'urémie, l'uricémie, la créatininémie, le débit de filtration glomérulaire calculé à l'aide de la formule du MDRD sont augmentés chez les sujets diabétiques de type 1 par rapport aux témoins chez qui, par contre, le débit de filtration glomérulaire calculé à l'aide de la formule de Cockcroft et Gault ou à l'aide de la formule du CKD-EPI est plus élevé. Seule la variation de l'urémie entre les sujets diabétiques de type 1 et les témoins est significative.

-à l'exception de l'uricémie qui est abaissée, tous les paramètres biochimiques du bilan rénal (urémie, créatininémie, le débit de filtration glomérulaire calculé à l'aide de la formule de Cockcroft et Gault, du MDRD ou du CKD-EPI) sont augmentés chez les sujets diabétiques de type 1 comparés aux sujets diabétiques de type 2. Toutefois, les seules variations significatives sont celles des débits de filtration glomérulaire.

V-2. Etude comparée de la capacité des formules de Cockcroft et Gault, du MDRD modifié, du CKD-EPI à déterminer le débit de filtration glomérulaire (DFG) dans chaque groupe de la population d'étude.

V-2.1. Etude comparée de la capacité des formules de Cockcroft et Gault, du MDRD modifié, du CKD-EPI à déterminer le DFG sur la base de la fréquence (%) des valeurs du DFG obtenues chez les sujets témoins.

Tableau XIV: Comparaison de la capacité des formules de CG et du MDRD à déterminer le DFG sur la base de la fréquence (%) des valeurs du DFG obtenues chez les sujets témoins

	Témoin (n= 58)		
	DFG-CG	DFG-MDRD	$T_{0\alpha} > 1,96$
DFG ≥ 90 ml/min/1,73m ²	37,93%	43,10%	0,57
DFG < 90 ml/min/1,73m ²	62,07%	56,90%	0,57
DFG [60;90 ml/min/1,73m ² [	48,28%	53,45%	0,56
DFG < 60 ml/min/1,73m ²	13,79%	3,45%	1,98

Un sujet sera dit :

- indemne de néphropathie, lorsque son DFG est ≥ 90 ml/min/1,73m²
- atteint de néphropathie (sans considération du degré de sévérité), pour un DFG < 90 ml/min/1,73m²
- atteint de néphropathie modérée, pour un DFG est compris entre 60 et 90 ml/min/1,73m²
- atteint de néphropathie sévère, pour un DFG < 60 ml/min/1,73m².

Sur le tableau XIV, la remarque est que, chez les témoins, la proportion de sujets atteints de néphropathie ou de néphropathie sévère est plus importante si le DFG est déterminé à l'aide de la formule de Cockcroft et Gault plutôt qu'à l'aide de la formule du MDRD modifié. Par contre, la proportion de sujets indemnes de néphropathie ou atteints de néphropathie modérée décroît si le DFG est calculé à l'aide de la formule de Cockcroft et Gault à la place de la formule du MDRD modifié. Cependant, la variation de proportion n'est significative qu'avec les sujets atteints de néphropathie sévère.

Tableau XV : Comparaison de la capacité des formules de CG et du CKD-EPI à déterminer le DFG sur la base de la fréquence (%) des valeurs du DFG obtenues chez les sujets témoins

	Témoins (n= 58)		
	DFG-CG	DFG-CKD-EPI	$T_{0\alpha} > 1,96$
DFG ≥ 90 ml/min/1,73m ²	37,93%	48,28%	1,125
DFG < 90 ml/min/1,73m ²	62,07%	51,72%	1,125
DFG [60;90 ml/min/1,73m ² [	48,28%	48,28%	0
DFG < 60 ml/min/1,73m ²	13,79%	3,45%	1,98

Sur le tableau XV, il est noté, chez les témoins, une hausse de la proportion de sujets atteints de néphropathie (sans considération du degré de sévérité) ou de néphropathie sévère, une égalité de la proportion de sujets atteints de néphropathie modérée et une baisse de la proportion de sujets indemnes de néphropathie lorsque le DFG est déterminé à l'aide de la formule de Cockcroft et Gault au lieu de la formule du CKD-EPI. Toutefois, la seule variation de proportion significative est obtenue chez les sujets atteints de néphropathie sévère.

Tableau XVI: Comparaison de la capacité des formules du **MDRD** et du **CKD-EPI** à déterminer le DFG sur la base de la fréquence (%) des valeurs du DFG obtenues chez les sujets témoins

	Témoins (n= 58)		
	DFG-MDRD	DFG-CKD-EPI	$T_{0\alpha} > 1,96$
DFG $\geq$ 90 ml/min/1,73m ²	43,10%	48,28%	0,56
DFG < 90 ml/min/1,73m ²	56,90%	51,72%	0,56
DFG [60;90 ml/min/1,73m ² [	53,45%	48,28%	0,56
DFG < 60 ml/min/1,73m ²	3,45%	3,45%	0

La remarque faite sur le tableau XVI est qu'il existe une hausse de la proportion de sujets atteints de néphropathie ou de néphropathie modérée, une égalité de la proportion de sujets atteints de néphropathie sévère et une baisse de la proportion de sujets indemnes de néphropathie lorsque le DFG est déterminé à l'aide de la formule du MDRD modifié plutôt qu'à l'aide de la formule du CKD-EPI chez les témoins. Les variations de proportion décrites ne sont pas significatives.

V-2.2. Etude comparée de la capacité des formules de Cockcroft et Gault, du MDRD modifié, du CKD-EPI à déterminer le DFG sur la base de la corrélation entre l'inverse de la créatininémie (l/μmol) et les DFG calculés avec les différentes formules, selon les valeurs du DFG (ml/min/1,73m²), obtenues chez les sujets témoins

Tableau XVII: Comparaison des coefficients de corrélation entre 1/créatininémie (l/μmol) et les DFG calculés avec les formules de CG et du MDRD, selon les valeurs du DFG (ml/min/1,73m²), obtenues chez les sujets témoins

	Témoins (n=58)		
	DFG-CG	DFG-MDRD	Z _{0α} > 1,96
DFG] 0;160 ml/min/1,73m ² [	0,412	0,7	2,25
DFG < 90 ml/min/1,73m ²	0,126	0,61	3,05
DFG < 60 ml/min/1,73m ²	0,085	-1	
DFG [60;90 ml/min/1,73m ² [	0,119	0,501	2,26
DFG ≥ 90 ml/min/1,73m ²	0,186	0,417	1,34

La relation entre le débit de filtration glomérulaire et l'inverse de la créatininémie est linéaire et positive, sauf exception (cf. figure I à IX).

Sur le tableau XVII, la remarque est que la corrélation entre le débit de filtration glomérulaire et l'inverse de la créatininémie est significativement plus forte si le débit de filtration glomérulaire est déterminé à l'aide de la formule du MDRD modifié plutôt qu'à l'aide de la formule de Cockcroft et Gault chez les témoins pris dans leur ensemble ou lorsqu'ils sont atteints de néphropathie, quel que soit par ailleurs, le stade de la néphropathie. Cependant, bien que la force de la corrélation entre le débit de filtration glomérulaire et l'inverse de la créatininémie soit plus prononcée avec la formule du MDRD modifié par rapport à la formule de Cockcroft et Gault chez les témoins indemnes de néphropathie, elle n'est pas significative.

Tableau XVIII : Comparaison des coefficients de corrélation entre 1/créatininémie (l/ μ mol) et les DFG calculés avec les formules de CG et du CKD-Epi, selon les valeurs du DFG (ml/min/1,73m²), obtenues chez les sujets témoins

	Témoins (n=58)		
	DFG-CG	DFG-CKD-EPI	$Z_{0\alpha} > 1,96$
DFG] 0;160 ml/min/1,73m ² [	0,412	0,726	2,52
DFG < 90 ml/min/1,73m ²	0,126	0,648	3,38
DFG < 60 ml/min/1,73m ²	0,085	1	
DFG [60;90 ml/min/1,73m ² [	0,119	0,555	2,65
DFG $\geq$ 90 ml/min/1,73m ²	0,186	0,553	2,28

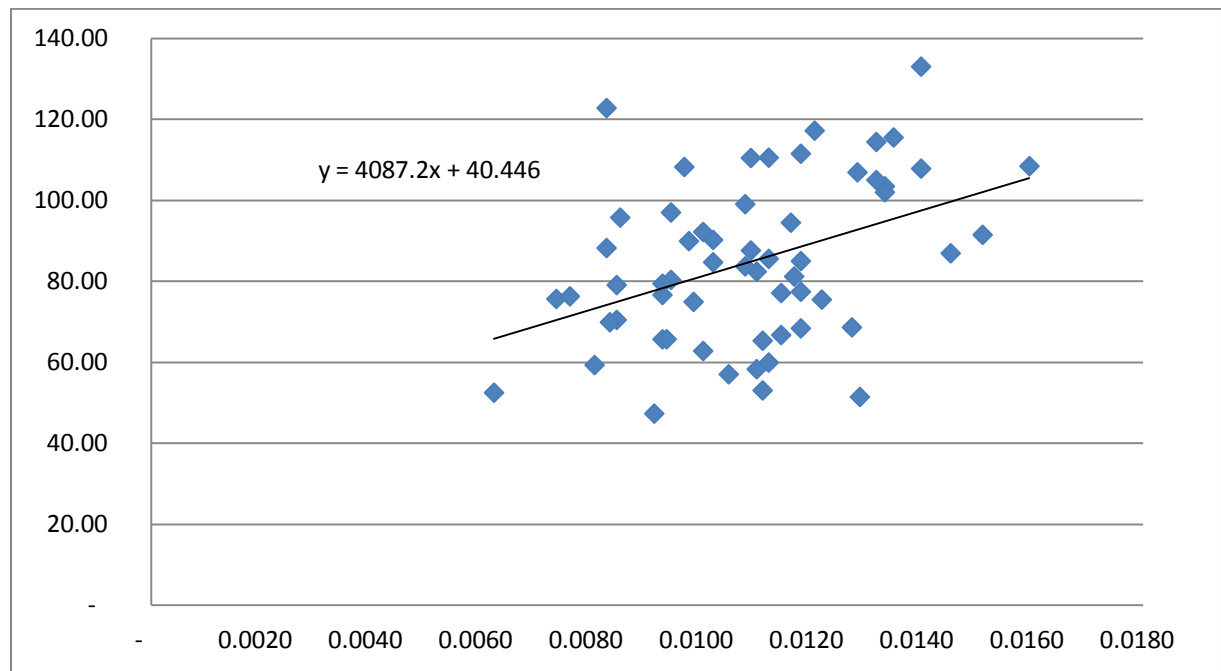
L'étude de la corrélation entre le débit de filtration glomérulaire et l'inverse de la créatininémie met en évidence, sur le tableau XVIII, une force de liaison significativement moins puissante lorsque le débit de filtration glomérulaire est déterminé à l'aide de la formule de Cockroft et Gault au lieu de la formule du CKD-EPI. Ce constat demeure valide pour toutes les valeurs du débit de filtration glomérulaire chez les témoins.

Tableau XIX : Comparaison des coefficients de corrélation entre 1/créatininémie (l/ μ mol) et les DFG calculés avec les formules du MDRD et du CKD-EPI, selon les valeurs du DFG (ml/min/1,73m²), obtenues chez les sujets témoins

	Témoin (n=58)		$Z_{0\alpha} > 1,96$
	DFG-MDRD	DFG-CKD-Epi	
DFG] 0;160 ml/min/1,73m ² [	0,7	0,726	0,28
DFG < 90 ml/min/1,73m ²	0,610	0,648	0,33
DFG < 60 ml/min/1,73m ²	-1	1	
DFG [60;90 ml/min/1,73m ² [	0,501	0,555	0,39

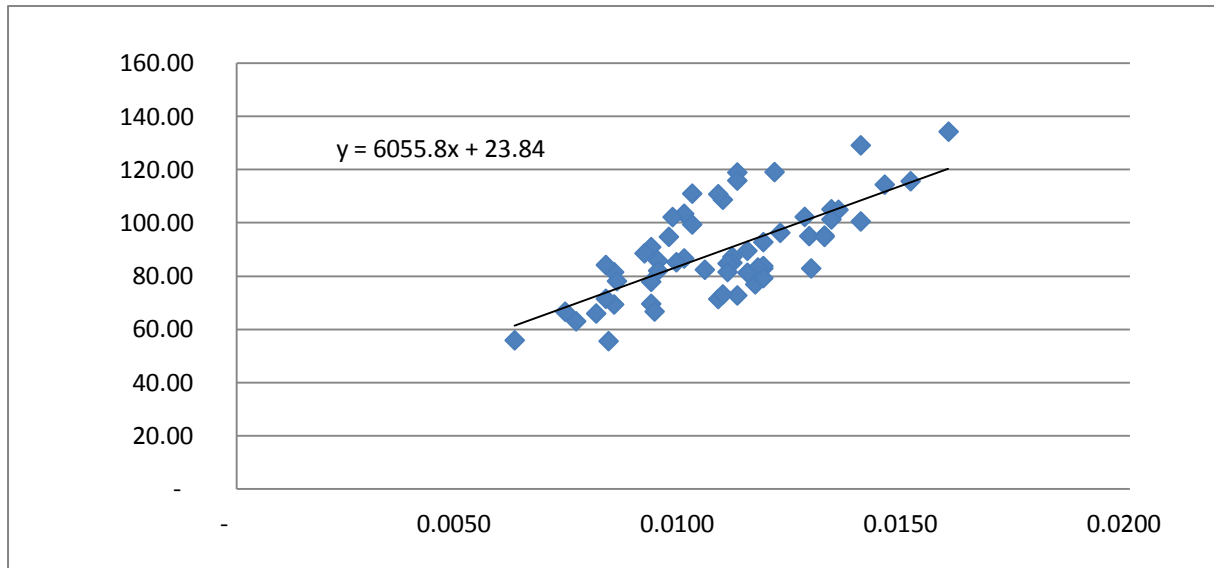
Sur le tableau XIX, la découverte est que, pour toutes les valeurs du débit de filtration glomérulaire chez les témoins, l'intensité de la corrélation entre l'inverse de la créatininémie et le débit de filtration glomérulaire demeure statiquement la même, que la détermination du débit de filtration glomérulaire soit effectuée avec la formule du MDRD modifié ou avec la formule du CKD-EPI.

Une remarque intéressante, chez les témoins atteints de néphropathie sévère, est qu'il existe une corrélation parfaite entre l'inverse de la créatininémie et le débit de filtration glomérulaire qui peut être négative avec la formule du MDRD modifié ou positive avec la formule du CKD-EPI.



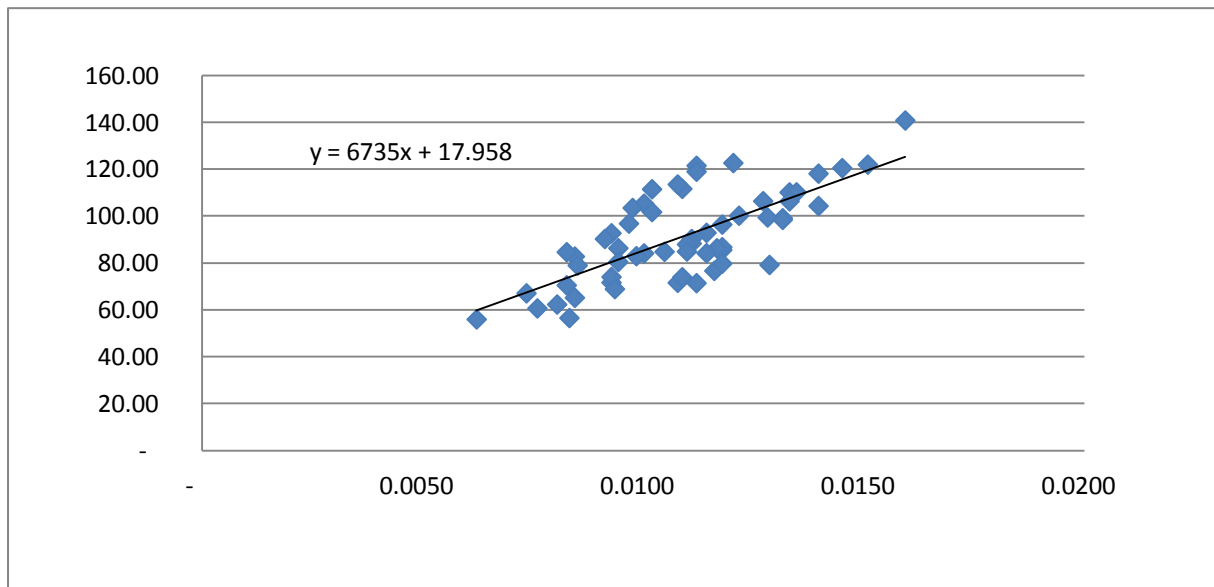
On a $r=0,41$: c'est une corrélation faible.

Figure 1 : DFG-Cockcroft et Gault (ml/min/1,73m²) en fonction de 1/ créatininémie (l/μmol) chez les sujets témoins



On a $r=0,700$: c'est une bonne corrélation.

Figure 2 : DFG-MDRD modifié (ml/min/1,73m²) en fonction de 1/ créatininémie (l/μmol) chez les sujets témoins



On a $r= 0,727$: c'est une bonne corrélation.

Figure 3 : DFG-CKD-EPI (ml/min/1,73m²) en fonction de 1/ créatininémie (l/μmol) chez les sujets témoins

V-2.3. Etude comparée de la capacité des formules de Cockcroft et Gault, du MDRD modifié, du CKD-EPI à déterminer le DFG sur la base de la fréquence (%) des valeurs du DFG obtenues chez les sujets diabétiques de type 1

Tableau XX : Comparaison de la capacité des formules de **CG** et du **MDRD** à déterminer le DFG sur la base de la fréquence (%) des valeurs du DFG obtenues chez les **sujets diabétiques de type 1**

	DT1 (n=59)		
	DFG-CG	DFG-MDRD	$T_0\alpha > 1,96$
DFG ≥ 90 ml/min/1,73m ²	33,90%	52,54%	2,05
DFG < 90 ml/min/1,73m ²	66,10%	47,46%	2,05
DFG [60;90 ml/min/1,73m ² [	49,15%	37,29%	1,3
DFG < 60 ml/min/1,73m ²	16,95%	10,17%	1,08

Sur le tableau XX, la remarque est que, chez les sujets diabétiques de type 1, la proportion de sujets qui sont atteints de néphropathie, de néphropathie modérée ou de néphropathie sévère est plus importante si le DFG est déterminé à l'aide de la formule de Cockcroft et Gault plutôt qu'à l'aide de la formule du MDRD modifié. Par contre, la proportion de sujets indemnes de néphropathie est abaissée si le DFG est calculé à l'aide de la formule de Cockcroft et Gault au lieu de la formule du MDRD modifié. Cependant, la variation de proportion n'est significative qu'avec les sujets sans ou avec néphropathie sans distinction du stade.

Tableau XXI : Comparaison de la capacité des formules de **CG** et du **CKD-EPI** à déterminer le DFG sur la base de la fréquence (%) des valeurs du DFG obtenues chez les **sujets diabétiques de type 1**.

	DT1 (n=59)		
	DFG-CG	DFG-CKD-EPI	$T_0\alpha > 1,96$
DFG ≥ 90 ml/min/1,73m ²	33,90%	52,54%	2,05
DFG < 90 ml/min/1,73m ²	66,10%	47,46%	2,05
DFG [60;90 ml/min/1,73m ² [	49,15%	37,29%	1,3
DFG < 60 ml/min/1,73m ²	16,95%	10,17%	1,08

Sur le tableau XXI, il est noté, lorsque le DFG est déterminé à l'aide de la formule du CKD-EPI au lieu de la formule de Cockcroft et Gault, une hausse de la proportion de sujets diabétiques de type 1 sans néphropathie. En revanche, la proportion de sujets à néphropathie modérée ou sévère au cours du diabète de type 1 est augmentée avec la détermination du débit de filtration glomérulaire à l'aide de la formule de Cockcroft et de Gault plutôt qu'à l'aide de la formule du CKD-EPI. Toutefois, la variation de proportion n'est significative qu'avec les sujets qui sont indemnes de néphropathie ou qui auraient une néphropathie sans distinction du stade.

Tableau XXII : Comparaison de la capacité des formules du MDRD et du CKD-EPI à déterminer le DFG sur la base de la fréquence (%) des valeurs du DFG obtenues chez les sujets diabétiques de type 1

	DT1 (n=59)		
	DFG-MDRD	DFG-CKD-EPI	$T_{0\alpha} > 1,96$
DFG ≥ 90 ml/min/1,73m ²	52,54%	52,54%	0
DFG < 90 ml/min/1,73m ²	47,46%	47,46%	0
DFG [60;90 ml/min/1,73m ² [	37,29%	37,29%	0
DFG < 60 ml/min/1,73m ²	10,17%	10,17%	0

Il ressort, sur le tableau XXII, que la proportion de sujets diabétiques de type 1 qui n'auraient pas ou qui auraient une néphropathie, quel que soit par ailleurs le stade de cette néphropathie, obtenue en déterminant le DFG à l'aide de la formule du MDRD modifié est identique à celle obtenue en calculant le DFG à l'aide de la formule du CKD-EPI.

V-2.4. Etude comparée de la capacité des formules de Cockcroft et Gault, du MDRD modifié, du CKD-EPI à déterminer le DFG sur la base de la corrélation entre l'inverse de la créatininémie ($l/\mu\text{mol}$) et les DFG calculés avec les différentes formules, selon les valeurs du DFG (ml/min/1,73m^2), obtenues chez les sujets diabétiques de type 1

Tableau XXIII : Comparaison des coefficients de corrélation entre $1/\text{créatininémie}$ ($l/\mu\text{mol}$) et les DFG calculés avec les formules de CG et du MDRD, selon les valeurs du DFG (ml/min/1,73m^2), obtenues chez les sujets diabétiques de type 1

	Diabète de type 1 (n=59)		
	DFG-CG	DFG-MDRD	$Z_{0\alpha} > 1,96$
DFG] 0;160 ml/min/1,73m^2 [	0,776	0,839	0,97
DFG < 90 ml/min/1,73m^2	0,793	0,858	1,09
DFG < 60 ml/min/1,73m^2	0,897	0,937	1,36
DFG [60;90 ml/min/1,73m^2 [	0,528	0,481	0,33
DFG $\geq$ 90 ml/min/1,73m^2	0,505	0,459	0,32

L'étude, sur le tableau XXIII, des coefficients de corrélation montre que la force du lien existant entre l'inverse de la créatininémie et le débit de filtration glomérulaire n'est pas significativement différente quelle que soit la valeur du débit de filtration glomérulaire déterminée à l'aide de la formule de Cockcroft et Gault ou à l'aide de la formule du MDRD chez les diabétiques de type 1.

Tableau XXIV : Comparaison des coefficients de corrélation entre 1/créatininémie (l/ μ mol) et les DFG calculés avec les formules de CG et du CKD-EPI, selon les valeurs du DFG (ml/min/1,73m²), obtenues chez les sujets diabétiques de type 1

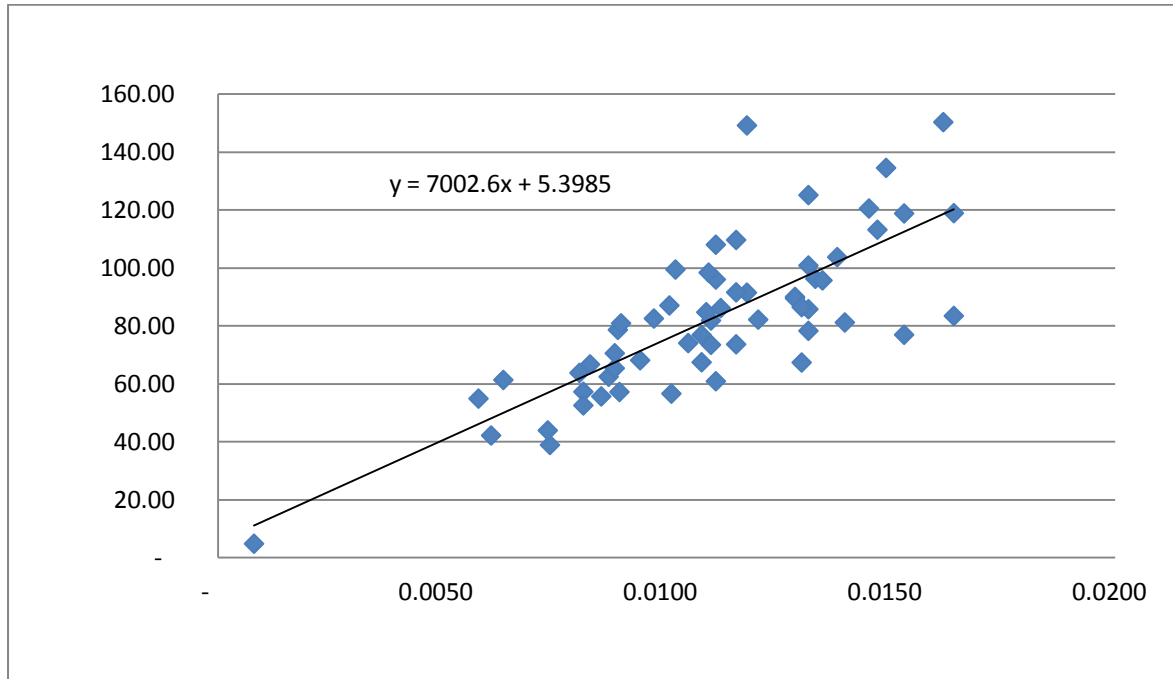
	Diabète de type 1 (n=59)		$Z_{0\alpha} > 1,96$
	DFG-CG	DFG-CKD-EPI	
DFG] 0;160 ml/min/1,73m ² [	0,776	0,848	1,13
DFG < 90 ml/min/1,73m ²	0,793	0,865	1,23
DFG < 60 ml/min/1,73m ²	0,897	0,939	1,44
DFG [60;90 ml/min/1,73m ² [	0,528	0,526	0,01
DFG $\geq$ 90 ml/min/1,73m ²	0,505	0,44	0,44

L'étude du lien existant entre le débit de filtration glomérulaire et l'inverse de la créatininémie met en évidence, sur le tableau XXIV, une force de liaison qui n'est pas significativement différente lorsque le débit de filtration glomérulaire est déterminé à l'aide de la formule de Cockcroft et Gault au lieu de la formule du CKD-EPI. Ce constat demeure valide pour toutes les valeurs du débit de filtration glomérulaire chez les sujets diabétiques de type 1.

Tableau XXV : Comparaison des coefficients de corrélation entre 1/créatininémie (l/ μ mol) et les DFG calculés avec les formules du MDRD et du CKD-EPI, selon les valeurs du DFG (ml/min/1,73m²), obtenues chez les sujets diabétiques de type 1

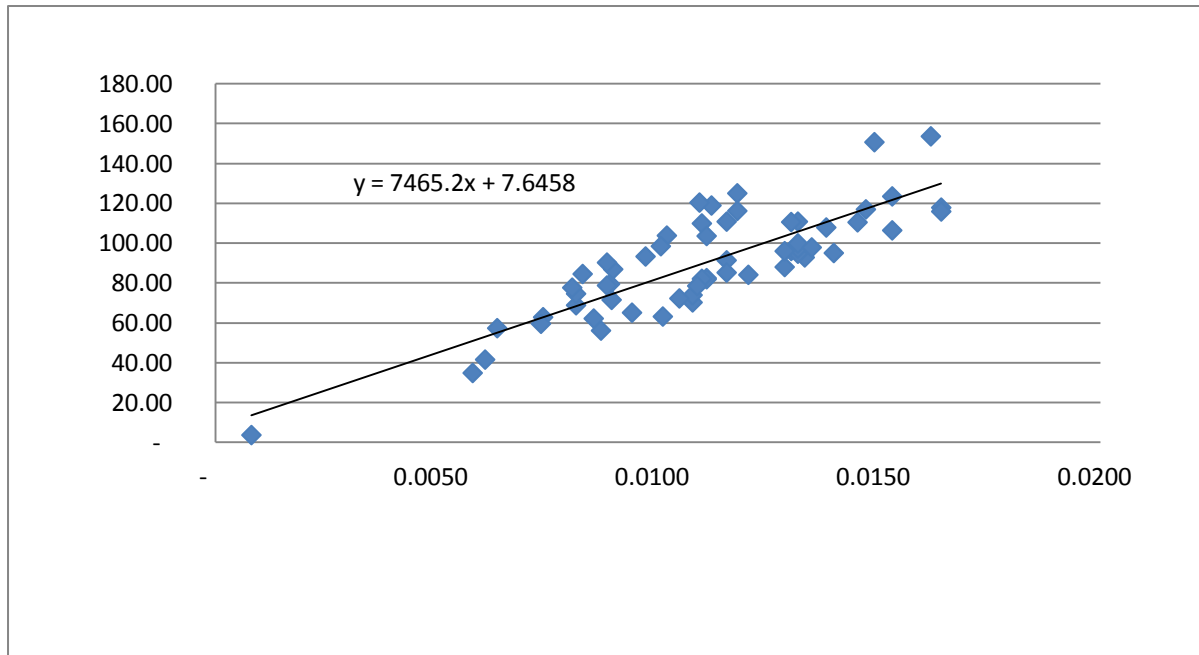
	Diabète de type 1 (n=59)		$Z_{0\alpha} > 1,96$
	DFG-MDRD	DFG-CKD-EPI	
DFG] 0;160 ml/min/1,73m ² [	0,839	0,848	0,16
DFG < 90 ml/min/1,73m ²	0,858	0,865	0,14
DFG < 60 ml/min/1,73m ²	0,937	0,939	0,09
DFG [60;90 ml/min/1,73m ² [	0,481	0,526	0,32
DFG $\geq$ 90 ml/min/1,73m ²	0,459	0,44	0,12

Sur le tableau XXV, il apparait, pour toutes les valeurs du débit de filtration glomérulaire chez les sujets diabétiques de type 1, un lien entre l'inverse de la créatininémie et le débit de filtration glomérulaire qui garde statistiquement la même intensité que le calcul du débit de filtration glomérulaire soit effectué avec la formule du MDRD modifié ou avec la formule du CKD-EPI.



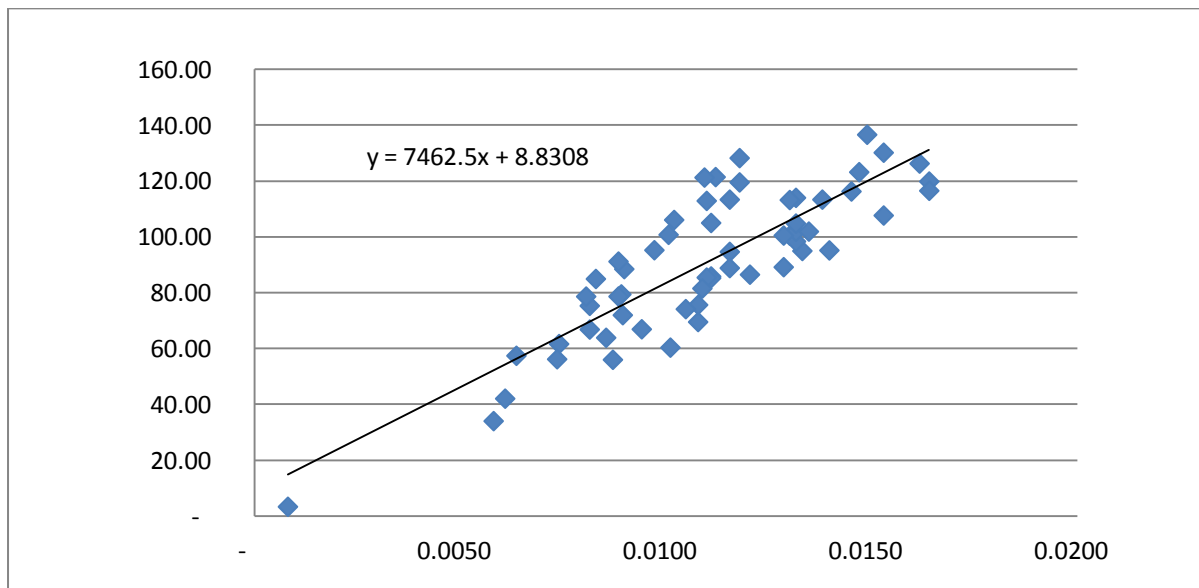
On a $r=0,776$: c'est une bonne corrélation.

Figure 4 : DFG-Cockcroft et Gault (ml/min/1,73m²) en fonction de 1/ créatininémie (l/μmol) chez les sujets diabétiques de type 1



On a $r=0,839$: c'est une bonne corrélation.

Figure 5: DFG-MDRD modifié (ml/min/1,73m²) en fonction de 1/ créatininémie (l/μmol) chez les sujets diabétiques de type 1



On a $r=0,848$: c'est une bonne corrélation.

Figure 6: DFG-CKD-EPI (ml/min/1,73m²) en fonction de 1/ créatininémie (l/μmol) chez les sujets diabétiques de type 1

V-2.5. Etude comparée de la capacité des formules de Cockroft et Gault, du MDRD modifié, du CKD-EPI à déterminer le DFG sur la base de la fréquence (%) des valeurs du DFG obtenues chez les sujets diabétiques de type 2

Tableau XXVI : Comparaison de la capacité des formules de CG et du MDRD à déterminer le DFG sur la base de la fréquence (%) des valeurs du DFG obtenues chez les sujets diabétiques de type 2

	DT2 (n= 70)		
	DFG-CG	DFG-MDRD	$T_{0\alpha} > 1,96$
DFG $\geq$ 90 ml/min/1,73m ²	21,43%	20%	0,21
DFG < 90 ml/min/1,73m ²	78,57%	80%	0,21
DFG [60;90 ml/min/1,73m ² [	42,86%	70%	3,24
DFG < 60 ml/min/1,73m ²	35,71%	10%	3,60

Avec le tableau XXVI, la proportion de sujets diabétiques de type 2 qui seraient indemnes de néphropathie ou qui auraient une néphropathie sévère est plus importante si le DFG est déterminé à l'aide de la formule de Cockroft et Gault plutôt qu'à l'aide de la formule du MDRD modifié. Par contre, la proportion de sujets diabétiques de type 2 qui seraient atteints de néphropathie sans distinction du stade ou de néphropathie modérée est abaissée si le DFG est calculé à l'aide de la formule de Cockroft et Gault au lieu de la formule du MDRD modifié. Cependant, la variation de proportion n'est significative qu'avec les sujets diabétiques de type 2 qui auraient une néphropathie modérée ou une néphropathie sévère quand ils sont considérés séparément.

Tableau XXVII: Comparaison de la capacité des formules de **CG** et du **CKD-EPI** à déterminer le DFG sur la base de la fréquence (%) des valeurs du DFG obtenues chez les **sujets diabétiques de type 2**

	DT2 (n= 70)		
	DFG-CG	DFG-CKD-EPI	$T_{0\alpha} > 1,96$
DFG $\geq$ 90 ml/min/1,73m ²	21,43%	20%	0,21
DFG < 90 ml/min/1,73m ²	78,57%	80%	0,21
DFG [60;90 ml/min/1,73m ² [	42,86%	65,71%	2,71
DFG < 60 ml/min/1,73m ²	35,71%	14,29%	2,91

Sur le tableau XXVII, une proportion plus grande de sujets diabétiques de type 2 indemnes de néphropathie ou atteints de néphropathie sévère est obtenue si le DFG est déterminé à l'aide de la formule de Cockcroft et Gault plutôt qu'à l'aide de la formule du CKD-EPI. Par contre, la proportion de sujets diabétiques de type 2 à néphropathie sans distinction du stade ou à néphropathie modérée est abaissée si le DFG est calculé à l'aide de la formule de Cockcroft et Gault au lieu de la formule du CKD-EPI. Cependant, la variation de proportion n'est significative qu'avec les sujets diabétiques de type 2 qui auraient une néphropathie modérée ou une néphropathie sévère quand ils ne sont pas étudiés dans leur ensemble.

Tableau XXVIII: Comparaison de la capacité des formules du **MDRD** et du **CKD-EPI** à déterminer le DFG sur la base de la fréquence (%) des valeurs du DFG obtenues chez les **sujets diabétiques de type 2**

	DT2 (n= 70)		
	DFG-MDRD	DFG-CKD-EPI	$T_{0\alpha} > 1,96$
DFG $\geq$ 90 ml/min/1,73m ²	20%	20%	0
DFG < 90 ml/min/1,73m ²	80%	80%	0
DFG [60;90 ml/min/1,73m ² [	70%	65,71%	0,54
DFG < 60 ml/min/1,73m ²	10%	14,29%	0,78

Il ressort, sur le tableau XXVIII, que la proportion de sujets diabétiques de type 2 qui n'auraient pas ou qui auraient une néphropathie, quelque soit par ailleurs le stade de cette néphropathie, obtenue en déterminant le DFG à l'aide de la formule du MDRD modifié n'est pas différente statistiquement à celle obtenue en calculant le DFG à l'aide de la formule du CKD-EPI.

V-2.6. Etude comparée de la capacité des formules de Cockcroft et Gault, du MDRD modifié, du CKD-EPI à déterminer le DFG sur la base de la corrélation entre l'inverse de la créatininémie (l/ μ mol) et les DFG calculés avec les différentes formules, selon les valeurs du DFG (ml/min/1,73m²), obtenues chez les sujets diabétiques de type 2

Tableau XXIX: Comparaison des coefficients de corrélation entre 1/créatininémie (l/ μ mol) et les DFG calculés avec les formules de CG et du MDRD, selon les valeurs du DFG (ml/min/1,73 m²), obtenues chez les **sujets diabétiques de type 2**

	DT2 (n=70)		
	DFG-CG	DFG-MDRD	$Z_{0\alpha} > 1,96$
DFG] 0;160 ml/min/1,73m ² [	0,689	0,851	2,39
DFG< 90 ml/min/1,73m ²	0,545	0,817	3,10
DFG< 60 ml/min/1,73m ²	0,632	0,982	9,28
DFG [60;90 ml/min/1,73m ² [	0,157	0,615	3,23
DFG $\geq$ 90 ml/min/1,73m ²	0,729	0,602	1,33

L'étude des coefficients de corrélation, sur le tableau XXIX, montre que la force de liaison entre l'inverse de la créatininémie et le débit de filtration glomérulaire est significativement plus puissante lorsque le débit de filtration glomérulaire est déterminé à l'aide de la formule du MDRD plutôt qu'à l'aide de la formule de Cockcroft et Gault chez les diabétiques de type 2 pris dans leur ensemble ou qui seraient atteints de néphropathie sans distinction de stade. En revanche, aucune différence significative n'est notée pour les valeurs du débit de filtration glomérulaire supérieures à 90 ml/min/1,73m².

Tableau XXX : Comparaison des coefficients de corrélation entre 1/créatininémie (l/ μ mol) et les DFG calculés avec les formules de CG et du CKD-EPI, selon les valeurs du DFG (ml/min/1,73m²), obtenues chez les sujets diabétiques de type 2

	DT2 (n=70)		
	DFG-CG	DFG-CKD-EPI	$Z_{0\alpha} > 1,96$
DFG] 0;160 ml/min/1,73m ² [	0,689	0,873	2,88
DFG< 90 ml/min/1,73m ²	0,545	0,787	2,61
DFG< 60 ml/min/1,73m ²	0,632	0,961	7,02
DFG [60;90 ml/min/1,73m ² [	0,157	0,526	2,46
DFG $\geq$ 90 ml/min/1,73m ²	0,729	0,808	1,13

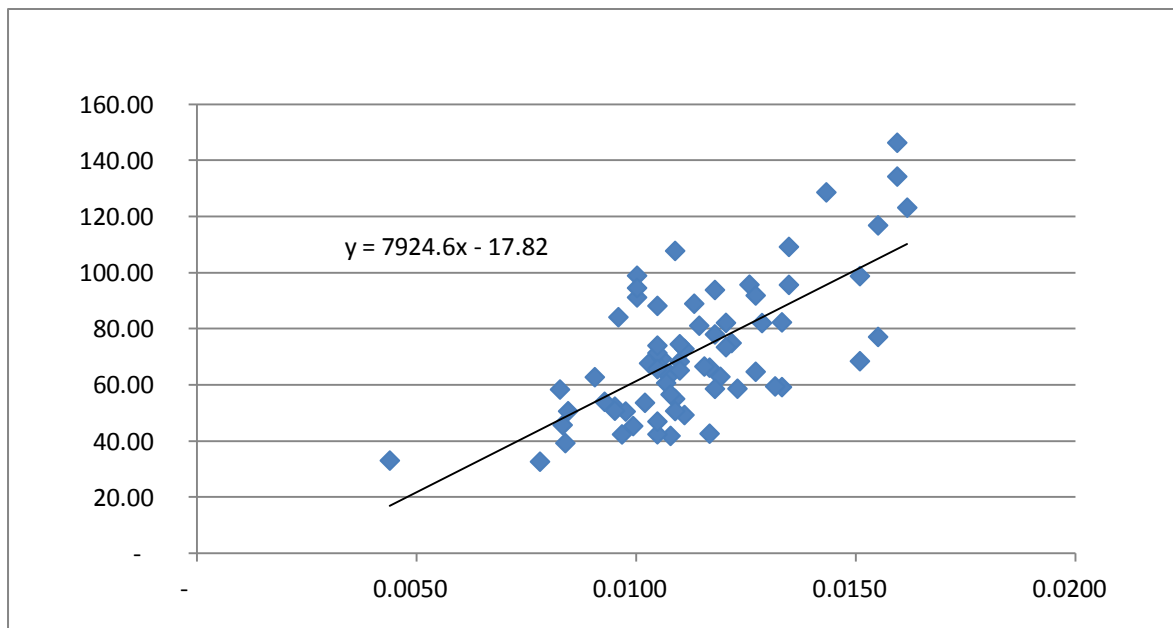
L'étude du lien existant entre le débit de filtration glomérulaire et l'inverse de la créatininémie met en évidence, sur le tableau XXX, une force de liaison qui est significativement moins intense lorsque le débit de filtration glomérulaire est déterminé à l'aide de la formule de Cockcroft et Gault au lieu de la formule du CKD-EPI. Ce constat demeure valide pour toutes les valeurs du débit de filtration glomérulaire chez les sujets diabétiques de type 2 sauf si les valeurs du débit de filtration glomérulaire supérieures à 90 ml/min/1,73m² sont les seules considérées car à ce niveau la significativité est à $Z_{0\alpha} = 1,13$.

Tableau XXXI : Comparaison des coefficients de corrélation entre 1/créatininémie (l/ μ mol) et les DFG calculés avec les formules du MDRD et du CKD-EPI, selon les valeurs du DFG (ml/min/1,73m²), obtenues chez les sujets diabétiques de type 2

	DT2 (n=70)		
	DFG-MDRD	DFG-CKD-EPI	$Z_{0\alpha} > 1,96$
DFG] 0;160 ml/min/1,73m ² [	0,851	0,873	0,49
DFG< 90 ml/min/1,73m ²	0,817	0,787	0,49
DFG< 60 ml/min/1,73m ²	0,982	0,961	2,26
DFG [60;90 ml/min/1,73m ² [	0,615	0,526	0,77
DFG $\geq$ 90 ml/min/1,73m ²	0,602	0,808	2,97

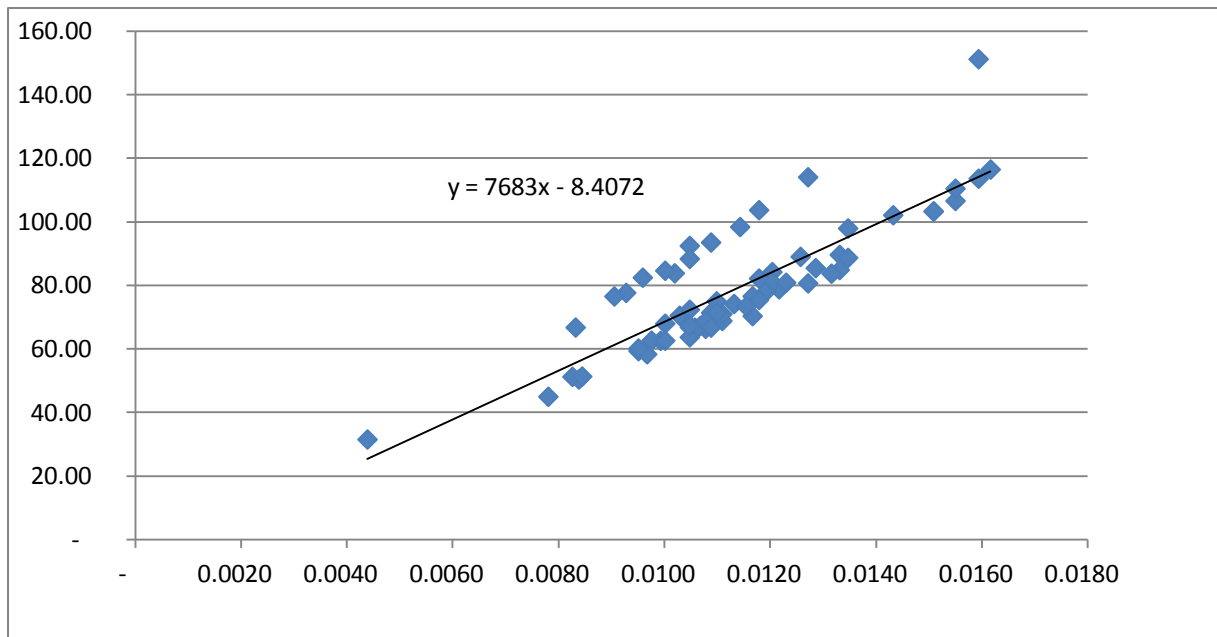
Sur le tableau XXXI, il est mis en évidence, chez les diabétiques de type 2, un lien entre l'inverse de la créatininémie et le débit de filtration glomérulaire qui garde statistiquement la même force, que le calcul du débit de filtration glomérulaire soit effectué avec la formule du MDRD modifié ou avec la formule du CKD-EPI. Par contre, pour les valeurs du débit de filtration glomérulaire :

- inférieures à 60 ml/min/1,73m², la force de la liaison est significativement plus prononcée si la détermination du débit de filtration glomérulaire est faite à l'aide de la formule du MDRD modifié ;
- supérieures à 90 ml/min/1,73m², la force du lien est significativement plus intense si la détermination du débit de filtration glomérulaire est faite à l'aide de la formule du CKD-EPI.



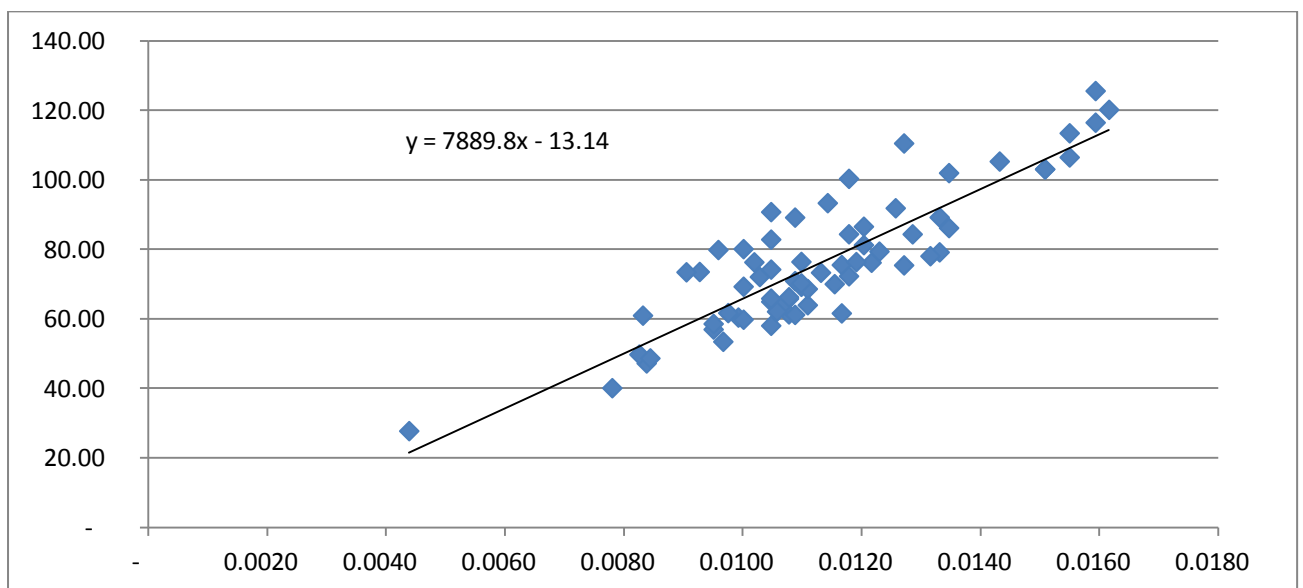
On a $r=0,689$: c'est une bonne corrélation.

Figure 7: DFG-Cockcroft et Gault (ml/min/1,73m²) en fonction de 1/ créatininémie (l/μmol) chez les sujets diabétiques de type 2



On a $r=0,851$: c'est une très bonne corrélation.

Figure 8: DFG-MDRD modifié (ml/min/1,73m²) en fonction de 1/ créatininémie (l/μmol) chez les sujets diabétiques de type 2



On a $r=0,873$: c'est une très bonne corrélation.

Figure 9: DFG-CKD-EPI (ml/min/1,73m²) en fonction de 1/ créatininémie (l/μmol) chez les sujets diabétiques de type 2



V-3. Etude comparée des variables anthropométriques, hématologiques et biochimiques entre les sujets diabétiques avec spécification du type à DFG réduit et à DFG non réduit

V-3.1. Etude comparée des moyennes des variables anthropométriques entre les sujets diabétiques avec spécification du type à DFG réduit et à DFG non réduit

Tableau XXXII : Comparaison des moyennes des variables anthropométriques entre sujets diabétiques de type 1 avec néphropathie et sujets diabétiques de type 1 sans néphropathie

	DT1 avec néphropathie	DT1 sans néphropathie	p-value < 5.10 ⁻²
Age (ans)	36,36 +/- 11,92	33,5 +/- 9,92	3,6.10 ⁻¹
IMC (kg/m ²)	21,74 +/- 4,23	24,30 +/- 2,55	1,6.10 ⁻²
Tour de taille (cm)	80,82 +/- 12,12	83,15 +/- 8,49	4,5.10 ⁻¹
Tour de hanche (cm)	94,85 +/- 10,75	102,15 +/- 8,03	1,02.10 ⁻²
Ancienneté (ans)	11,90 +/- 6,64	10,62 +/- 6,32	4,8.10 ⁻¹
Fréquence (H/H+F)	0,38	0,42	
sexe ratio (H/F)	0,625	0,73	

L'étude des paramètres anthropométriques, sur le tableau XXXII, permet de constater qu'entre les sujets diabétiques de type 1 qui développent et qui ne développent une néphropathie il n'existe pas une différence significative d'âge, de tour de taille ou de durée du diabète. Par contre, l'indice de masse corporelle et le tour de hanche prennent des valeurs significativement plus élevées chez les sujets diabétiques de type 1 qui font une néphropathie. Par ailleurs, la proportion de femmes rencontrées dans chacun de ces deux groupes est supérieure à celle des hommes.

Tableau XXXIII: Comparaison des moyennes des variables anthropométriques entre sujets diabétiques de type 2 avec néphropathie et sujets diabétiques de type 2 sans néphropathie

	DT2 avec néphropathie	DT2 sans néphropathie	p-value < 5.10^{-2}
Age (ans)	60,86+/-9,56	50,86+/-7,13	$5,0.10^{-4}$
IMC (kg/m ²)	25,70+/-5,13	26,03+/-3,585	$8,0.10^{-1}$
Tour de taille (cm)	90,09+/-12,24	88,82+/-11,23	$7,2.10^{-1}$
Tour de hanche (cm)	105,28+/-10,89	100,07+/-15,36	$1,4.10^{-1}$
Ancienneté (ans)	8,27+/-5,7	6,96+/-3,83	$4,2.10^{-1}$
Fréquence (H/H+F)	0,16	0,36	
sexe ratio (H/F)	0,19	0,55	

L'analyse des paramètres anthropométriques, sur le tableau XXXIII, permet de mettre en évidence chez les sujets diabétiques de type 2 une élévation significative de l'âge chez les sujets qui développent une néphropathie. Au contraire, l'indice de masse corporelle, le tour de taille, le tour de hanche, la durée du diabète gardent tous statistiquement les mêmes valeurs entre les sujets diabétiques de type 2 qui développent une néphropathie et ceux qui ne développent pas une néphropathie au cours du diabète de type 2. Dans chacun des deux groupes, la proportion d'hommes qui y sont rencontrés est inférieure à celle des femmes.

V-3.2. Etude comparée des moyennes des variables hématologiques entre les sujets diabétiques avec spécification du type à DFG réduit et à DFG non réduit

Tableau XXXIV : Comparaison des moyennes des variables hématologiques entre sujets diabétiques de type 1 avec néphropathie et sujets diabétiques de type 1 sans néphropathie

	DT1 avec néphropathie	DT1 sans néphropathie	p-value < 5.10 ⁻²
GB (1000/μl)	6,53 +/- 1,91	6,66 +/- 1,41	8,4.10 ⁻¹
PLQ (1000/μl)	338,57 +/- 103,62	323,08 +/- 73,85	6,4.10 ⁻¹
GR (10 ⁶ /μl)	4,51 +/- 0,70	4,81 +/- 0,40	1,7.10 ⁻¹
Hb (g/dl)	12,04 +/- 2,09	12,72 +/- 1,04	3,1.10 ⁻¹
Vgm (fl)	81,6 +/- 13,10	82,825 +/- 4,58	6,6.10 ⁻¹
TCMH (pg)	26,73 +/- 2,77	26,74 +/- 1,69	9,9.10 ⁻¹
CCMH (g/dl)	31,95 +/- 1,14	32,32 +/- 0,80	3,2.10 ⁻¹

Tableau XXXV : Comparaison des moyennes des variables hématologiques entre sujets diabétiques de type 2 avec néphropathie et sans néphropathie

	DT2 avec néphropathie	DT2 sans néphropathie	p-value < 5.10 ⁻²
GB (1000/μl)	5,98 +/- 1,73	5,56 +/- 1,62	4,1.10 ⁻¹
PLQ (1000/μl)	283,750 +/- 75,79	317,786 +/- 63,37	1,3.10 ⁻¹
GR (10 ⁶ /μl)	4,65 +/- 0,48	4,68 +/- 0,63	8,7.10 ⁻¹
Hb (g/dl)	12,795 +/- 1,255	12,75 +/- 1,17	9,0.10 ⁻¹
Vgm (fl)	85,34 +/- 4,57	84,35 +/- 5,35	5,3.10 ⁻¹
TCMH (pg)	27,51 +/- 1,54	27,40 +/- 2,07	8,3.10 ⁻¹
CCMH (g/dl)	32,41 +/- 0,84	32,46 +/- 0,85	8,3.10 ⁻¹

L'étude des paramètres hématologiques, sur le tableau XXXIV et XXXV, montre que, chez les sujets diabétiques de type 1 et de type 2, en comparaison aux sujets indemnes de néphropathie, les leucocytes, les thrombocytes, les érythrocytes, le taux d'hémoglobine et les constantes érythrocytaires conservent statistiquement les mêmes valeurs dans le groupe des sujets qui seraient atteints de néphropathie.

V-3.3. Etude comparée des variables biochimiques entre les sujets diabétiques avec spécification du type à DFG réduit et à DFG non réduit

V-3.3.1. Etude comparée des moyennes des variables biochimiques entre les sujets diabétiques avec spécification du type à DFG réduit et à DFG non réduit

Tableau XXXVI : Comparaison des moyennes des variables biochimiques (glucidique et lipidiques) entre sujets diabétiques de type 1 avec néphropathie et sans néphropathie

	DT1 avec néphropathie	DT1 sans néphropathie	p-value < 5.10^{-2}
Glycémie (g/l)	2,15+/-0,87	1,68+/-1,00	7.10^{-2}
HbA _{1c} (%)	11,31+/-3,65	9,62+/-2,28	8.10^{-2}
TG (g/l)	0,76+/-0,24	0,68+/-0,23	$2,2.10^{-1}$
CT (g/l)	2,03+/-0,49	1,78+/-0,40	5.10^{-2}
C-LDL (g/l)	1,25+/-0,58	0,83+/-0,45	7.10^{-3}
C-HDL (g/l)	0,63+/-0,33	0,81+/-0,25	$4,2.10^{-2}$
RA	3,86+/-1,72	2,40+/-0,97	8.10^{-4}

L'étude de la variation des variables biochimiques chez les sujets diabétiques de type 1 sur le tableau XXXVI fait ressortir :

-sur le plan de l'équilibre glycémique, une glycémie à jeun et un taux d'hémoglobine glyquée qui sont nettement augmentés chez les sujets qui seraient atteints de néphropathie par rapport aux sujets indemnes de néphropathie. Cette différence des moyennes de la glycémie à jeun et du taux d'HbA_{1c} observée entre les deux groupes frôle la significativité statistique.

Une remarque certainement pertinente est que, contrairement à ce qui est observé chez les sujets qui n'auraient pas une néphropathie, les moyennes de la glycémie à jeun et du taux

d'HbA_{1c} sont supérieures à respectivement 2 g/l et 10% chez les sujets qui auraient une néphropathie.

-quand les variables du bilan lipidique sont considérées, une hausse non significative de la triglycéridémie, une élévation significative de la cholestérolémie, de la LDL-cholestérolémie et de l'indice de risque athérogène, et une baisse significative de la HDL-cholestérolémie entre sujets avec et sans néphropathie.

Tableau XXXVII : Comparaison des moyennes des variables biochimiques (glucidique et lipidiques) entre sujets diabétiques de type 2 avec néphropathie et sans néphropathie

	DT2 avec néphropathie	DT2 sans néphropathie	p-value < 5.10 ⁻²
Glycémie (g/l)	1,70 +/- 0,80	1,71 +/- 0,77	9,7.10 ⁻¹
HbA _{1c} (%)	9,74 +/- 2,23	9,98 +/- 2,21	7,3.10 ⁻¹
TG (g/l)	0,78 +/- 0,24	0,84 +/- 0,35	4,3.10 ⁻¹
CT (g/l)	2,215 +/- 0,48	2,03 +/- 0,49	2,1.10 ⁻¹
C-LDL (g/l)	1,53 +/- 0,48	1,30 +/- 0,54	1,2.10 ⁻¹
C-HDL (g/l)	0,53 +/- 0,15	0,56 +/- 0,17	5,1.10 ⁻¹
RA	4,50 +/- 1,64	4,10 +/- 2,18	4,4.10 ⁻¹

L'étude de la variation des paramètres biochimiques chez les sujets diabétiques de type 2 sur le tableau XXXVII montre que :

-sur le plan de l'équilibre glycémique, la glycémie à jeun et l'HbA_{1c} gardent statistiquement les mêmes valeurs entre les sujets qui auraient une néphropathie et les sujets qui n'en auraient pas.

-quand le bilan lipidique est considéré, il n'existe pas une variation significative des moyennes de la triglycéridémie, de la cholestérolémie, de la LDL-cholestérolémie, de la HDL-cholestérolémie et du risque athérogène entre les sujets atteints de néphropathie et les sujets indemnes de néphropathie.

Tableau XXXVIII : Comparaison des moyennes des variables biochimiques du bilan rénal entre sujets diabétiques de type 1 avec néphropathie et sans néphropathie

	DT1 avec néphropathie	DT1 sans néphropathie	p-value < 5.10^{-2}
Urémie (g/l)	0,38+/-0,29	0,25+/-0,07	$5,7.10^{-2}$
Uricémie (mg/l)	58,48+/-15,75	51,66+/-12,24	$9,6.10^{-2}$
Créatininémie ($\mu\text{mol/l}$)	133,24+/-185,76	77,86+/-10,74	7.10^{-2}
DFG-CG (ml/min/1,73m ²)	68,25+/-16,95	110,61+/-18,23	$2,7.10^{-12}$
DFG-MDRD (ml/min/1,73m ²)	79,32+/-22,94	110,70+/-18,96	$2,3.10^{-6}$
DFG-CKD-EPI (ml/min/1,73m ²)	80,58+/-24,06	111,66+/-14,79	$2,1.10^{-6}$

L'étude de la variation des paramètres biochimiques du bilan rénal chez les sujets diabétiques de type 1 sur le tableau XXXVIII fait apparaître :

-une hausse presque significative des moyennes d'urémie, d'uricémie et de créatininémie observées chez les sujets qui auraient une néphropathie comparés aux sujets qui n'en auraient pas.

-une baisse significative du débit de filtration glomérulaire sans distinction de la formule employée pour le calcul (Cockroft et Gault, MDRD modifié ou CKD-EPI) chez les sujets atteints de néphropathie par rapport aux sujets indemnes de néphropathie.

Tableau XXXIX: Comparaison des moyennes des variables biochimiques du bilan rénal entre sujets diabétiques de type 2 avec néphropathie et sans néphropathie

	DT2 avec néphropathie	DT2 sans néphropathie	p-value < 5.10 ⁻²
Urémie (g/l)	0,33 +/- 0,13	0,25 +/- 0,07	4,1.10 ⁻²
Uricémie (mg/l)	62,44 +/- 23,51	53,56 +/- 22,64	2,1.10 ⁻¹
Créatininémie (μmol/l)	96,58 +/- 21,63	72,80 +/- 10,77	1,7.10 ⁻⁴
DFG-CG (ml/min/1,73m ²)	64,42 +/- 17,67	101,70 +/- 24,42	1,04.10 ⁻⁸
DFG-MDRD (ml/min/1,73m ²)	71,44 +/- 11,83	107,30 +/- 14,94	2,7.10 ⁻¹⁴
DFG-CKD-EPI (ml/min/1,73m ²)	68,82 +/- 12,26	105,87 +/- 10,49	1,2.10 ⁻¹⁵

L'étude de la variation des variables biochimiques chez les diabétiques de type 2 sur le tableau XXXIX met en évidence :

-une augmentation non significative de la moyenne d'uricémie, une élévation significative des moyennes d'urémie et de créatininémie chez les sujets développeurs de néphropathie au regard des sujets non développeurs de néphropathie

-une diminution significative du débit de filtration glomérulaire qu'il soit calculé à l'aide de la formule de Cockcroft et Gault, du MDRD modifié ou du CKD-EPI chez les sujets atteints de néphropathie versus les sujets indemnes de néphropathie.

V-3.3.2. Etude comparée de la fréquence des sujets présentant une variation pathologique des variables biochimiques entre les sujets diabétiques avec spécification du type à DFG réduit et à DFG non réduit

Tableau XXXX : Comparaison de la fréquence (%) des sujets présentant une variation pathologique des variables biochimiques entre sujets diabétiques de type 1 avec néphropathie et sans néphropathie

	(%) DT1 avec néphropathie (n=39)	(%) DT1 sans néphropathie (n=20)	$T_{0\alpha} > 1,96$
Glycémie > 1,26 g/l	79,49	65	1,21
Glycémie > 1,1 g/l	87,18	70	1,60
HbA _{1c} > 6,5%	97,37(38)	94,44(18)	0,59
HbA _{1c} > 7%	94,74	88,89	0,82
HbA _{1c} > 8%	86,84	83,33	0,36
HbA _{1c} > 8,5%	86,84	77,77	0,89
HbA _{1c} > 10%	52,63	38,89	1,01
Cholestérolémie > 2 g/l	46,15	15	2,37
Triglycéridémie > 1,5 g/l	00	00	00
LDL-cholestérolémie > 1,6 g/l	23,08	10	1,22
HDL-cholestérolémie < 0,35 g/l	12,82	00	1,67
Risque athérogène > 5,7	10,26	00	2,56
Urémie > 0,45 g/l	15,38	05	1,17
Uricémie > 72 mg/l	23,07	05	1,76
Créatininémie > 114,92 µmol/l	28,20	00	2,63
DFG-MDRD < 90 ml/min/1,73m ²	64,10	15	3,58
DFG-CKD-EPI < 90 ml/min/1,73m ²	64,10	15	3,58

L'étude de la perturbation des variables biochimiques chez les sujets diabétiques de type 1 fait découvrir, sur le tableau XXXX, que :

-sur le plan de l'équilibre glycémique, la proportion de sujets à néphropathie est supérieure à la proportion de sujets sans néphropathie qui présentent une hyperglycémie et un taux d'HbA_{1c} au-delà du seuil défini. Toutefois, cette différence de proportion n'est pas significative.

-sur le plan du bilan lipidique, la proportion de sujets atteints de néphropathie qui ont une hypercholestérolémie, une hyperLDL-cholestérolémie, une hypoHDL-cholestérolémie, une augmentation de l'indice d'athérogénicité est plus élevée que la proportion de sujets indemnes de néphropathie. Cependant, aucun sujet dans les deux groupes ne montre une hypertriglycémie. Seules les variations de proportion entre les deux groupes portant sur les sujets qui ont une hypercholestérolémie et une élévation de l'indice d'athérogénicité sont significatives.

-Sur le plan du bilan rénal, la proportion de sujets non fumeurs de néphropathie est inférieure à la proportion de sujets à néphropathie qui présentent une hyperurémie, une hyperuricémie, une hypercréatininémie et une baisse du débit de filtration glomérulaire obtenu à l'aide de la formule du MDRD modifié ou du CKD-EPI. Toutefois, seules les variations de proportion des sujets qui présentent une hyperurémie et une hyperuricémie entre les deux groupes sont non significatives.

Tableau XXXXI : Comparaison de la fréquence (%) des sujets présentant une variation pathologique des variables biochimiques entre sujets diabétiques de type 2 avec néphropathie et sans néphropathie

	(%) DT2 avec néphropathie (n=56)	(%) DT2 Sans néphropathie (n=14)	$T_0\alpha > 1,96$
Glycémie > 1,26 g/l	64,29	71,43	0,50
Glycémie > 1,1 g/l	80,36	78,57	0,15
HbA _{1c} > 6,5%	94,64	100	0,88
HbA _{1c} > 7%	91,07	100	1,16
HbA _{1c} > 8%	83,93	71,43	1,07
HbA _{1c} > 8,5%	71,43	64,28	0,52
HbA _{1c} > 10%	35,71	57,14	1,46
Cholestérolémie > 2 g/l	62,50	50,00	0,85
triglycéridémie > 1,5 g/l	00	07,14	2,01
LDL-cholestérolémie > 1,6 g/l	42,87	28,57	0,98
HDL-cholestérolémie < 0,35 g/l	10,71	7,14	0,40
Risque athérogène > 5,7	17,86	14,29	0,32
Urémie > 0,45 g/l	14,29	00,00	1,50
Uricémie > 72 mg/l	19,64	14,29	0,46
Créatininémie > 114,92 μ mol/l	10,71	00,00	1,28
DFG-MDRD < 90 ml/min/1,73m ²	100	00,00	8,36
DFG-CG < 90 ml/min/1,73m ²	91,07	28,57	5,10

L'étude de la perturbation des variables biochimiques chez les sujets diabétiques de type 2 fait ressortir sur le tableau XXXXI que, comparés aux sujets sans néphropathie il y a chez les sujets à néphropathie :

-quand le bilan de l'équilibre glycémique est considéré, plus de sujets qui font une glycémie au dessus de 1,1 g/l ou qui ont un taux d'HbA_{1c} supérieur à 8% ou à 8,5% ; mais, moins de sujets qui présentent une glycémie au dessus de 1,26 g/l ou qui élèvent leur d'HbA_{1c} au-delà de 6,5%, de 7% ou de 10%. Cependant, les différences de proportion qui viennent d'être décrites ne sont pas significatives.

-quand le bilan lipidique est considéré, plus de sujets qui font une hypercholestérolémie, une hyperLDL-cholestérolémie, une hypoHDL-cholestérolémie et un risque athérogène anormalement élevé ; par contre, moins de sujets ont une hypertriglycéridémie. D'ailleurs, seul le groupe de sujets indemnes de néphropathie présente une hypertriglycéridémie. Cependant, seule la variation de proportion portant sur les sujets avec une hypertriglycéridémie est significative.

-quand le bilan rénal est considéré, plus de sujets qui ont une hyperurémie, une hyperuricémie, une hypercréatininémie et une diminution du débit de filtration glomérulaire, que le calcul soit fait avec la formule de Cockcroft et Gault ou la formule du MDRD modifié.

V-3.3.3. Etude comparée de la corrélation entre le DFG et les différentes variables biochimiques entre les sujets diabétiques avec spécification du type à DFG réduit et à DFG non réduit

Tableau XXXXII : Coefficient de corrélation entre le DFG obtenu à l'aide de la formule du Cockroft et Gault et les différents paramètres biochimiques de l'étude chez les diabétiques de type 1 ayant ou non une néphropathie

	DT1 avec néphropathie	DT1 sans néphropathie	T ₀ α> 1,96
glycémie	0,021	-0,187	0,71
HbA _{1c}	-0,041	0,230	0,93
cholestérolémie	-0,344	0,093	1,53
triglycéridémie	-0,323	0,001	1,14
LDL-cholestérolémie	-0,266	-0,307	0,15
HDL-cholestérolémie	-0,0007	0,392	1,40
Risque athérogène	-0,226	-0,268	0,15
urémie	-0,633	-0,339	1,33
uricémie	-0,563	-0,008	2,13
créatininémie	-0,690	-0,475	1,125
DFG-MDRD	0,837	0,800	0,38
DFG-CKD-EPI	0,845	0,729	1,06

Le tableau XXXXII affiche les résultats de l'étude comparative du lien que le débit de filtration glomérulaire déterminé à l'aide de la formule de Cockroft et Gault entretiendrait avec les paramètres biochimiques de l'équilibre glycémique, du bilan lipidique et du bilan rénal entre les sujets diabétiques de type 1 qui seraient atteints et qui seraient indemnes de néphropathie.

Avec les marqueurs de l'équilibre glycémique, le débit de filtration glomérulaire a une liaison non significativement plus forte chez les sujets sans néphropathie ; cette corrélation faible chez les sujets indemnes de néphropathie semble inexistante chez les sujets atteints de néphropathie. Tandis que le débit de filtration glomérulaire évolue dans un même sens avec l'HbA_{1c} et dans un sens opposé avec la glycémie chez les sujets sans néphropathie, il

progresses dans un même sens avec la glycémie et dans un sens opposé avec l'HbA_{1c} chez les sujets à néphropathie.

Le débit de filtration glomérulaire se lie plus fortement avec la cholestérolémie, la triglycéridémie mais plus faiblement avec la LDL-cholestérolémie, la HDL-cholestérolémie et l'indice du risque athérogène chez les sujets atteints de néphropathie en comparaison aux sujets indemnes de néphropathie. Cette différence de corrélation constatée entre les deux groupes n'est pas significative. Le lien entre le débit de filtration glomérulaire avec la cholestérolémie et la triglycéridémie semble inexistant chez les sujets sans néphropathie. La presque inexistence d'une liaison est notée entre le débit de filtration glomérulaire et la HDL-cholestérolémie chez les sujets à néphropathie. Alors que le débit de filtration glomérulaire évolue dans un sens opposé à la variation de tous les paramètres du bilan lipidique chez les sujets atteints de néphropathie, il varie seulement dans un sens opposé à celui de l'évolution de la LDL-cholestérolémie et de l'indice du risque athérogène chez les sujets sans néphropathie.

Le débit de filtration glomérulaire déterminé à l'aide de la formule de Cockcroft et Gault entretient une liaison plus forte avec les paramètres biochimiques du bilan rénal dosables dans le sang ou calculables chez les sujets atteints de néphropathie en comparaison aux sujets indemnes de néphropathie. La différence de corrélation n'est significative qu'avec l'uricémie. D'ailleurs, chez les sujets sans néphropathie la corrélation entre le débit de filtration glomérulaire et l'uricémie semble inexistante. Que les sujets développent ou non une néphropathie au cours du diabète de type 1, le débit de filtration glomérulaire varie dans le sens opposé de l'évolution des paramètres dosables (urémie, uricémie, créatininémie) alors qu'il évolue dans le même sens de variation des paramètres calculables (débit de filtration glomérulaire calculé avec la formule du MDRD ou du CKD-EPI).

Tableau XXXXIII: Coefficient de corrélation entre le DFG obtenu à l'aide de la formule du CKD-EPI et les différents paramètres biochimiques de l'étude chez les diabétiques de type 2 ayant ou non une néphropathie

	DT2 avec néphropathie	DT2 sans néphropathie	T ₀ α > 1,96
glycémie	-0,017	-0,466	1,47
HbA _{1c}	-0,089	-0,317	0,72
cholestérolémie	0,227	-0,095	3,57
triglycéridémie	0,021	-0,444	1,50
LDL-cholestérolémie	0,284	-0,01	0,91
HDL-cholestérolémie	-0,170	-0,057	0,34
Risque athérogène	0,295	-0,02	0,98
urémie	-0,448	0,158	1,94
uricémie	-0,089	-0,386	0,96
créatininémie	-0,743	-0,788	0,33
DFG-MDRD	0,981	0,880	2,86
DFG-CG	0,680	0,730	0,30

Le tableau XXXXIII montre les résultats de l'étude comparative du lien que le débit de filtration glomérulaire déterminé à l'aide de la formule du CKD-EPI entretiendrait avec les paramètres biochimiques de l'équilibre glycémique, du bilan lipidique et du bilan rénal entre les sujets qui développeraient et qui ne développeraient pas une néphropathie au cours du diabète de type 2.

La liaison du débit de filtration glomérulaire avec les marqueurs de l'équilibre glycémique est plus faible, presque inexistante, chez les sujets à néphropathie au regard des sujets sans néphropathie. Cette différence de corrélation observée entre les deux groupes n'est pourtant pas significative. Au sein de chacun des deux groupes, le débit de filtration glomérulaire évolue dans le sens opposé de la variation de la glycémie et du taux d'HbA_{1c}.

Le lien entre le débit de filtration glomérulaire et le cholestérol et ses différentes fractions ainsi que l'indice du risque athérogène est plus fort chez les faiseurs de néphropathie. Par

contre, la corrélation entre le débit de filtration glomérulaire et la triglycéridémie est plus forte chez les sujets non fumeurs de néphropathie. Seule la variation de corrélation du débit de filtration glomérulaire et de la cholestérolémie observée entre les deux groupes de sujets est significative. Peut-être considéré comme presque inexistant le lien entre le débit de filtration glomérulaire et d'une part la triglycéridémie chez les sujets atteints de néphropathie, d'autre part l'indice du risque athérogène, la cholestérolémie et ses différentes fractions chez les sujets indemnes de néphropathie. Au moment où le débit de filtration glomérulaire évolue dans le sens contraire de la variation de tous les paramètres du bilan lipidique chez les sujets non développeurs de néphropathie, seule la HDL-cholestérolémie varie dans le sens opposé de l'évolution du débit de filtration glomérulaire chez les sujets développeurs de néphropathie.

La corrélation entre le débit de filtration glomérulaire déterminé à l'aide de la formule du CKD-EPI et l'urémie ou le débit de filtration glomérulaire déterminé à l'aide de la formule du MDRD modifié est respectivement presque significativement ou significativement plus forte chez les sujets atteints de néphropathie. Par contre, le débit de filtration glomérulaire déterminé à l'aide de la formule du CKD-EPI est lié non significativement plus fortement à l'uricémie, à la créatininémie et au débit de filtration glomérulaire déterminé à l'aide de la formule de Cockcroft et Gault chez les sujets indemnes de néphropathie. Au sein des deux groupes, le débit de filtration glomérulaire évolue dans le même sens de variation des paramètres du bilan rénal calculables (avec la formule du MDRD modifié ou du CKD-EPI) ; mais dans le sens contraire de la créatininémie, de l'uricémie et l'urémie, sauf que l'urémie, en particulier, varie dans le même sens de l'évolution du débit de filtration glomérulaire chez les sujets indemnes de néphropathie.

VI. DISCUSSION

VI-1. Quelles formules pour déterminer le débit de filtration glomérulaire :

VI-1.1. Chez les sujets diabétiques de types 1 ?

D'abord, la formule du CKD-EPI et la formule du MDRD modifié donnent des moyennes de débit de filtration glomérulaire superposables (respectivement 91,11 $\pm$ 25,91 et 89,96 ml/min/1,73m², cf. tableau XII et XIII) chez les sujets diabétiques de type 1.

Ensuite, la formule du CKD-EPI donne exactement les mêmes proportions de sujets sans néphropathie ou à néphropathie, quel que soit le stade de la néphropathie, qui sont obtenues avec la formule du MDRD modifié chez les sujets diabétiques de type 1 (cf. tableau XXII).

Finalement, sur le tableau XXV, il apparait, pour toutes les valeurs du débit de filtration glomérulaire chez les sujets diabétiques de type 1, un lien entre l'inverse de la créatininémie et le débit de filtration glomérulaire qui garde statistiquement la même force que le calcul du débit de filtration glomérulaire soit effectué avec la formule du MDRD modifié ou avec la formule du CKD-EPI.

Il semble donc, à la lumière des arguments qui viennent d'être évoqués, que le débit de filtration glomérulaire puisse être déterminé chez les sujets diabétiques de type 1 en utilisant indifféremment la formule du MDRD modifié ou du CKD-EPI.

L'équivalence de ces deux formules chez les sujets diabétiques de type 1 s'expliquerait par le fait qu'elles s'appuient toutes les deux sur les mêmes variables que sont la créatininémie, l'âge, le sexe et la race. En plus, la formule du CKD-EPI n'est conçue que pour apporter un surplus d'exactitude à la formule du MDRD modifié. En effet, Levey AS et coll. qui sont les concepteurs des deux formules (MDRD modifié et CKD-EPI) concluent que la formule du CKD-EPI est plus précise que la formule du MDRD modifié et pourrait la remplacer dans son utilisation clinique de routine. [79]

Comme les formules du CKD-EPI et du MDRD modifié sont équivalentes chez les sujets diabétiques de type 1 et que la formule du CKD-EPI est la dernière mise en place pour pallier les contre-performances de la formule du MDRD modifié, seule la formule du CKD-EPI sera comparée à la troisième et dernière formule d'estimation du débit de filtration glomérulaire employée dans cette étude : la formule de Cockcroft et Gault.

Primo, la formule de Cockcroft et Gault permet d'obtenir une valeur moyenne du débit de filtration glomérulaire ($82,61 \pm 26,57$ ml/min/ $1,73\text{m}^2$) plus faible que celle ($91,11 \pm 25,91$ ml/min/ $1,73\text{m}^2$) déterminée à l'aide de la formule du CKD-EPI chez les sujets diabétiques de type 1 (cf. tableau XII et XIII).

Secundo, sur le tableau XXI, il est mis en évidence que, chez les sujets diabétiques de type 1, la proportion de sujets à néphropathie ($66,10\%$ versus $47,46\%$, $T_0\alpha = 2,05$) ou à néphropathie modérée ($49,15\%$ versus $37,29\%$, $T_0\alpha = 2,05$) est plus importante quand le DFG est déterminé à l'aide de la formule de Cockcroft et Gault plutôt qu'à l'aide de la formule du CKD-EPI modifié.

Enfin, sur le tableau XXIV, l'étude de la corrélation, qui est positive, entre le débit de filtration glomérulaire et l'inverse de la créatininémie fait apparaître, pour toutes les valeurs du débit de filtration glomérulaire, une force de liaison qui n'est pas significativement différente lorsque le débit de filtration glomérulaire est déterminé à l'aide de la formule de Cockcroft et Gault au lieu de la formule du CKD-EPI chez les sujets diabétiques de type 1.

Sur la base de ces trois arguments, il va sans dire que la formule de Cockcroft et Gault a beaucoup plus tendance à classer les sujets diabétiques de type 1 comme étant porteurs de néphropathie que ne le ferait la formule du CKD-EPI.

Vervoort G. et coll. montrent que, chez des sujets diabétiques de type 1 avec un débit de filtration glomérulaire normal ou augmenté, la différence en valeur absolue entre la médiane obtenue en mesurant le débit de filtration glomérulaire avec la clairance de l'inuline et la médiane obtenue en estimant le débit de filtration glomérulaire avec la formule de Cockcroft et Gault ou avec la formule du MDRD modifié est respectivement de $11,8$ ml/min/ $1,73\text{m}^2$ ou $18,8$ ml/min/ $1,73\text{m}^2$. Ils en concluent, qu'entre autres raisons, cela montre que la formule du MDRD modifié est moins précise que celle de Cockcroft et Gault pour estimer le débit de filtration glomérulaire du sujet diabétique de type 1. [132]

Par ailleurs, Rigalleau V et coll. renchérissent que chez 160 sujets diabétiques, sans spécification du type, il y a une bonne corrélation entre les valeurs moyennes du débit de filtration glomérulaire obtenues avec la méthode isotopique de détermination du débit de filtration glomérulaire employée dans l'étude ($^{51}\text{Cr-EDTA}$) et celles données par la formule de Cockcroft et Gault ($r = 0,74$, $p < 0,0001$) ou par la formule du MDRD modifié ($r = 0,81$, $p < 0,0001$). Toutefois, il y avait un biais avec la formule du MDRD. Cependant, chez

87 sujets diabétiques avec une insuffisance rénale, la formule du MDRD était mieux corrélée à la méthode isotopique ($r = 0,78$, $p < 0,01$) que la formule de Cockcroft et Gault ($r = 0,57$; $p < 0,01$) sans aucun biais décelable. D'où, sans distinction aucune du type de diabète, que la formule du MDRD est plus précise que celle de Cockcroft et Gault dans le diagnostic et la stratification de la maladie rénale au cours du diabète. [105]

La formule de Cockcroft et Gault a plus de capacité à dépister une néphropathie chez les sujets diabétiques de type 1 que la formule du CKD-EPI, donc que la formule du MDRD modifié aussi car comme ces deux dernières formules, elle utilise les variables créatininémie, âge, et sexe ; en plus, elle emploie la variable poids qui a sa place, dans la formule, au niveau du numérateur. Donc, quand les autres variables communes sont fixées, la diminution du poids entraîne inéluctablement la réduction du débit de filtration glomérulaire. Or, les sujets diabétiques de type 1 de l'étude ont un poids ($64,68 \pm 10,71$ kg versus $68,26 \pm 16,95$ kg, $p = 1,8 \cdot 10^{-1}$) dont la valeur moyenne, si elle n'est pas inférieure, reste statistiquement égale à celle obtenue chez les sujets témoins. Ils ont aussi un IMC (kg/m^2) qui est inférieur ou statistiquement égal à celui des sujets témoins ($22,61 \pm 3,92$ kg/m^2 versus $23,39 \pm 4,93$ kg/m^2 , $p = 3,4 \cdot 10^{-1}$). Les sujets diabétiques de type 1 et les sujets témoins, de même race, ont la même moyenne d'âge ($35,39 \pm 11,28$ versus $35,6 \pm 12,91$, $p = 9,2 \cdot 10^{-1}$) et le même sex ratio (H/F) ($0,39$ versus $0,45$, $T_0\alpha = 0,66$).

La proportion de sujets dépistés comme ayant une néphropathie (*i.e.* avec un débit de filtration glomérulaire inférieur à $90 \text{ ml/min/1,73m}^2$) au cours du diabète de type 1 (66,1%) avec une durée moyenne du diabète de $11,46 \pm 6,51$ ans par la formule de Cockcroft et Gault n'est-elle pas excessive ?

Diallo F a trouvé une proportion de 70 % de sujets ayant une microalbuminurie, chez des sujets avec un diabète de type 1 âgé d'au moins de 10 ans, recrutés dans le même lieu que les sujets diabétiques de type 1 de notre étude. [36]

Moore T.H. et coll. ont obtenu une fréquence de 29% de sujets microalbuminuriques dans un échantillon de sujets diabétiques de type 1 d'origine caucasienne, soit une proportion 2 fois plus basse que la nôtre [89]. Cela n'a rien d'étonnant puisque Cowie C.C. et coll. rapportent des particularités raciales dans la prévalence de la maladie rénale terminale chez les sujets diabétiques aux USA avec un taux 4 à 5 fois plus élevé chez les négroïdes. [30]

VI-1.2. Chez les sujets diabétiques de type 2 ?

D'abord, sur le tableau XIII, la formule du CKD-EPI donne une valeur moyenne du débit de filtration glomérulaire de 76,23 $\pm$ 19,06 versus 78,61 $\pm$ 19,04 avec la formule du MDRD modifié chez les sujets diabétiques de type 2, ($p=4,6.10^{-1}$).

Ensuite, il ressort, sur le tableau XXVIII, que la proportion de sujets diabétiques de type 2 sans néphropathie ou à néphropathie, quel que soit le stade de cette néphropathie, obtenue en déterminant le débit de filtration glomérulaire à l'aide de la formule du CKD-EPI n'est significativement pas différente de celle obtenue en calculant le débit de filtration glomérulaire à l'aide de la formule du MDRD modifié, en particulier, pour les valeurs du débit de filtration glomérulaire :

- inférieures à 60 ml/min/1,73m², la proportion de sujets obtenue est non significativement plus grande avec la formule du CKD-EPI (14,29% versus 10%, $T_0\alpha=0,78$) qu'avec la formule du MDRD modifié.

- supérieures à 90 ml/min/1,73 m², la formule du CKD-EPI et la formule du MDRD conduisent exactement à la même proportion à savoir 20%.

Enfin, sur le tableau XXXI, il est mis en évidence une corrélation positive entre l'inverse de la créatininémie et le débit de filtration glomérulaire qui garde statistiquement la même significativité, que le calcul du débit de filtration glomérulaire soit effectué avec la formule du MDRD modifié ou avec la formule du CKD-EPI chez les diabétiques de type 2. Par contre, pour les valeurs du débit de filtration glomérulaire :

- inférieures à 60 ml/mn/1,73m², la corrélation est significativement plus prononcée si la détermination du débit de filtration glomérulaire est faite à l'aide de la formule du MDRD modifié au détriment de la formule du CKD-EPI ($r=0,982$ versus $r=0,961$, $Z_0\alpha=2,26$)

- supérieures à 90 ml/mn/1,73m², la corrélation est significativement encore plus intense si la détermination du débit de filtration glomérulaire est faite à l'aide de la formule du CKD-EPI plutôt qu'à l'aide de la formule du MDRD modifié ($r=0,808$ versus $r=0,602$, $Z_0\alpha=2,97$)

Des constats qui viennent d'être faits, il découle que les formules du MDRD modifié ou du CKD-EPI peuvent être appliquées indifféremment pour estimer le débit de filtration glomérulaire chez les diabétiques de type 2.

D'une part, les formules du CKD-EPI et du MDRD modifié sont équivalentes chez les sujets diabétiques de type 2. D'autre part, la formule du CKD-EPI mène à une proportion de sujets plus grande que celle obtenue avec la formule du MDRD modifié pour les valeurs du débit de filtration glomérulaire en deçà de 60 ml/min/1,73 m². Ce qui fait, en dépit d'une corrélation positive entre l'inverse de la créatininémie et le débit de filtration glomérulaire selon la formule du CKD-EPI, quand bien même très forte ($r=0,961$), mais, tout de même, significativement moins forte que la corrélation positive existant entre l'inverse de la créatininémie et le débit de filtration glomérulaire selon la formule du MDRD modifié ($r=0,982$), qu'il y ait plus de pertinence à comparer la formule du CKD-EPI à la formule de Cockcroft et Gault.

La formule de Cockcroft et Gault donne une valeur moyenne du débit de filtration glomérulaire (71,87 $\pm$ 24,23) plus faible que celle obtenue avec la formule du CKD-EPI (76,23 $\pm$ 19,06) ($p=2,4.10^{-1}$) (cf. tableau XIII).

En outre, sur le tableau XXVII, une proportion plus grande de sujets diabétiques de type 2 indemnes de néphropathie (21,43% versus 20%, $T_0\alpha = 0,21$) ou atteints de néphropathie sévère (35,71% versus 14,29%, $T_0\alpha = 2,91$) est obtenue si le DFG est déterminé à l'aide de la formule de Cockcroft et Gault plutôt qu'avec la formule du CKD-EPI. Par contre, la proportion de sujets diabétiques de type 2 à néphropathie sans distinction du stade (78,57% versus 80%, $T_0\alpha = 0,21$) ou à néphropathie modérée (42,86% versus 65,71%, $T_0\alpha = 2,71$) est abaissée si le DFG est calculé à l'aide de la formule de Cockcroft et Gault au lieu de celle du CKD-EPI. Cependant, la variation de proportion n'est significative qu'avec les sujets diabétiques de type 2 qui auraient une néphropathie modérée ou une néphropathie sévère.

Plus encore, l'étude de la relation existant entre le débit de filtration glomérulaire et l'inverse de la créatininémie met en évidence, sur le tableau XXX, une corrélation significativement moins forte lorsque le débit de filtration glomérulaire est déterminé à l'aide de la formule de Cockcroft et Gault au lieu de la formule du CKD-EPI. Ce constat demeure valable pour toutes les valeurs du débit de filtration glomérulaire chez les sujets

diabétiques de type 2 sauf si les valeurs du débit de filtration glomérulaire supérieures à 90 ml/min/1,73m² sont les seules considérées car à ce niveau la significativité est à $Z_0\alpha = 1,13$. En particulier, il s'avère nécessaire de préciser que la corrélation entre l'inverse de la créatininémie et le débit de filtration glomérulaire estimé avec la formule de Cockcroft et Gault est très faible (0,632 versus 0,961, $Z_0\alpha = 7,02$) chez les sujets à néphropathie sévère, voire inexistante (0,157 versus 0,526, $Z_0\alpha = 2,46$) chez les sujets à néphropathie modérée par rapport à la corrélation existant entre l'inverse de la créatininémie et le débit de filtration glomérulaire estimé à l'aide de la formule du CKD-EPI.

Avec les arguments précédents, il semble qu'il devient possible de suggérer que, pour estimer le débit de filtration glomérulaire chez les sujets diabétiques de type 2, l'application de la formule du CKD-EPI est plus appropriée que l'emploi de la formule de Cockcroft et Gault.

Cela s'expliquerait par le fait que dans les formules du MDRD modifié, du CKD-EPI et de Cockcroft et Gault il est noté la présence des variables âge, sexe, race et créatininémie, mais c'est seulement dans la formule de Cockcroft et Gault que la variable poids est retrouvée. C'est donc avec la variable poids encore qu'il faudrait chercher le mystère qui rend la formule de Cockcroft et Gault moins efficace pour estimer le débit de filtration glomérulaire que la formule du CKD-EPI chez les sujets diabétiques de type 2. Il est bien connu que la créatininémie augmente avec la masse musculaire puisque la créatinine est un catabolite de la créatine-phosphate, molécule de réserve énergétique pour la cellule musculaire ; ce qui fait que plus les cellules musculaires sont nombreuses, plus la production de créatinine est accrue. Autant l'accroissement du poids est dû à une augmentation seulement de la masse musculaire, autant cela se traduit par une augmentation de la créatininémie. Comme le poids est au numérateur et la créatininémie au dénominateur dans la formule de Cockcroft et Gault, l'augmentation simultanée et proportionnelle des deux variables poids et créatininémie laisse constante la valeur du débit de filtration glomérulaire. Cependant, le poids d'un sujet n'est pas seulement dû à la masse musculaire, il est également tributaire de la masse osseuse et de la masse adipeuse. Dans cette étude, il est noté une augmentation du poids (71,8 $\pm$ 13,23 kg versus 64,68 $\pm$ 10,71 kg ; $p=1,2 \cdot 10^{-3}$), de l'IMC (25,77 $\pm$ 4,84 kg/m² versus 22,61 $\pm$ 3,92 kg/m² ; $p=9,8 \cdot 10^{-5}$) et de l'IMG (%) (36,90 $\pm$ 7,27 % versus 25,66 $\pm$ 9,35 % ; $p=3,87 \cdot 10^{-12}$) chez les sujets diabétiques de type 2 par rapport aux sujets diabétiques de type 1. Cependant, les valeurs moyennes du poids et de l'IMC ne dépassent pas les limites supérieures de référence qui sont à 70 kg pour le poids et à 25 kg/m² pour l'IMC. Par contre, la valeur

moyenne de l'IMG est à 36,90% qui dépassent largement la limite supérieure de référence qui est à 30%. L'augmentation du poids chez les sujets diabétiques de type 2 est par conséquent plus tributaire de la masse adipeuse que de la masse musculaire. Or, les cellules adipeuses ne sont pas productrices de créatinine, l'élévation du poids s'accompagne donc d'une augmentation disproportionnée de la créatininémie. Ce qui fait que :

-d'une part, il existe une faiblesse considérable dans la corrélation positive entre l'inverse de la créatininémie et le débit de filtration glomérulaire selon Cockcroft et Gault qui est à $r=0,157$ chez les sujets diabétiques de type 2 à néphropathie modérée tandis qu'elle est à $r=0,526$ avec la formule du CKD-EPI avec une différence significative ($Z_0\alpha = 2,46$).

-d'autre part, l'augmentation du numérateur de la formule de Cockcroft et Gault à savoir le poids qui n'est pas suivie par l'élévation proportionnelle du dénominateur (la créatininémie) entraîne une surestimation du débit de filtration glomérulaire qui abaisse par exemple la proportion de sujets diabétiques de type 2 à néphropathie modérée (42,86% contre 65,71% avec CKD-EPI, $T_0\alpha = 2,71$)

Rigalleau V et coll. rapportent que chez 122 sujets diabétiques, sans spécification du type, atteints d'affection rénale, la formule de Cockcroft et Gault, à la différence de la formule du MDRD modifié, sous-estime, de manière non significative, le débit de filtration glomérulaire chez les sujets avec un IMC normal (-14%, $p < 0,1$) mais surestime significativement le débit de filtration glomérulaire chez les sujets avec un surpoids (15%, $p < 0,005$) ou chez les sujets obèses (55%, $p < 0,0001$). En particulier, chez 87 sujets diabétiques de type 2 qui avaient l'IMC le plus élevé, la formule de Cockcroft et Gault, contrairement à la formule du MDRD modifié, surestime significativement la valeur moyenne du débit de filtration glomérulaire de 18% ($p < 0,001$). Dans cette étude, c'est une méthode isotopique de détermination du débit de filtration glomérulaire qui a servi de référence pour les comparaisons. [104]

En définitive, la variable poids fait de la formule de Cockcroft et Gault la formule qu'il ne fallait pas appliquer en lieu et place des formules du MDRD modifié ou surtout du CKD-EPI chez les sujets diabétiques de type 2 qui ont un IMC qui frôle le surpoids ($25,77 \pm 4,84$ kg/m²) ou un IMG qui indique clairement une surcharge de masse grasseuse ($36,90 \pm 7,27$ %).

La proportion de sujets dépistés comme ayant une néphropathie (*i.e.* avec un débit de filtration glomérulaire inférieur à 90 ml/min/1,73m²) au cours du diabète de type 2 (80%) avec une durée moyenne du diabète de 8,01+/-5,38 ans par la formule de CKD-EPI n'est-elle pas excessive?

Toshiharu Ninomiya et coll., chez des mongoloïdes atteints de diabète de type 2 pour une durée moyenne de 7 ans (3 à 11 ans), obtiennent une proportion de 75% de sujets ayant une néphropathie *i.e.* dont le débit de filtration glomérulaire estimé avec la formule du MDRD modifié est inférieur à 90 ml/min/1,73m² [127].

VI-2. Quelles relations entre les paramètres de l'équilibre glycémique (glycémie, HbA_{1c}) et la réduction du débit de filtration glomérulaire dans le diabète ?

L'hyperglycémie chronique joue un rôle déterminant bien connu dans la survenue de la néphropathie au cours du diabète. En effet, en cas d'hyperglycémie, le glucose plasmatique excédentaire emprunte des voies métaboliques telles que la voie des polyols, la glycation non enzymatique des protéines, la voie des hexosamines et la voie de la protéine kinase C. Ces quatre voies métaboliques suractivées passent par un mécanisme commun qui est le stress oxydatif afin de contribuer à l'induction de la néphropathie au cours du diabète. En effet, via la suractivation de ces quatre voies métaboliques, l'hyperglycémie entraîne une surproduction de superoxyde et d'autres espèces réactives de l'oxygène au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. L'excès de superoxyde est normalement neutralisé par dismutation catalysée par la superoxyde dismutase mais en cas de diabète les capacités catalytiques de celle-ci sont dépassées. L'excès d'espèces réactives de l'oxygène qui en découle désorganise directement le glycocalyx endothélial, diminue la production glomérulaire d'héparane sulfate et de protéoglycannes, active le NF-κB qui, à son tour, stimule l'expression des gènes du VEGF, du TNF-α, du récepteur RAGE, des molécules d'adhésion (VCAM-1) [98]...

Dans ce présent travail, il est retrouvé :

- chez les sujets diabétiques de type 1, une glycémie à jeun ($2,15 \pm 0,87$ versus $1,68 \pm 1,00$; $p = 7.10^{-2}$) et un taux d'hémoglobine glyquée ($11,31 \pm 3,65$ % versus $9,62 \pm 2,28$ % ; $p = 8.10^{-2}$) qui est nettement augmenté chez les sujets à néphropathie par rapport aux sujets sans néphropathie. Cette différence de moyenne de la glycémie à jeun observée entre les deux groupes frôle la significativité statistique. Diallo F. a trouvé, chez des sujets diabétiques de type 1 microalbuminuriques, une glycémie à jeun plus élevée qui est de $2,54 \pm 0,93$ g/l. [36]
- chez les sujets diabétiques de type 2, une glycémie à jeun ($1,70 \pm 0,80$ g/l versus $1,71 \pm 0,77$ g/l ; $p = 9,7.10^{-1}$) qui garde statistiquement la même valeur entre les sujets qui auraient une néphropathie et les sujets qui n'en auraient pas. Quant à Diallo F., elle obtient, chez les sujets diabétiques de type 2 microalbuminuriques, une glycémie à jeun de $1,74 \pm 0,71$ g/l. [36]

Quant à l'HbA_{1c}, il faut considérer qu'elle ne joue pas directement un rôle dans l'établissement de la néphropathie au cours du diabète, mais qu'elle est plutôt un marqueur qui reflète le niveau de déviation du glucose vers les quatre voies métaboliques impliquées dans l'installation de la néphropathie. Elle est, de facto, un marqueur indirect d'une défaillance rénale. En tout cas, c'est ce que montre ce présent travail.

En effet, l'augmentation du taux d'HbA_{1c} n'est pas seulement une conséquence d'un mauvais équilibre glycémique au cours du diabète. Elle peut aussi être le résultat de la néphropathie. En effet, la sécrétion de l'érythropoïétine diminue au cours de la néphropathie. Ce qui implique une réduction de la synthèse de l'hémoglobine au niveau des érythroblastes et par conséquent une diminution du taux d'hémoglobine dans le sang. C'est ainsi que, chez les sujets diabétiques de type 1 à néphropathie, il est retrouvé un taux d'hémoglobine de $12,04 \pm 2,09$ g/dl qui est non significativement ($p = 3,1.10^{-1}$) inférieur à celui obtenu chez les sujets sans néphropathie $12,72 \pm 1,04$ g/dl mais qui est significativement ($p = 1,1.10^{-2}$) inférieur à celui des sujets témoins ($13,09 \pm 1,63$ g/dl). La diminution du taux d'hémoglobine sanguin expose les hémoglobines des érythrocytes à plus de glycation en présence d'une hyperglycémie chronique. La régression du taux d'hémoglobine total plus marquée ($12,04 \pm 2,09$ g/dl versus $12,72 \pm 1,04$ g/dl ; $p = 3,1.10^{-1}$) associée à l'augmentation de la glycémie à jeun plus prononcée ($2,15 \pm 0,87$ g/l versus $1,68 \pm 1,00$ g/l, $p = 7.10^{-2}$) rendent compte de

l'augmentation plus nette du taux d'HbA_{1c} chez les sujets diabétiques de type 1 à néphropathie (11,31 $\pm$ 3,65% versus 9,62 $\pm$ 2,28% ; $p = 8.10^{-2}$) par rapport aux sujets diabétiques de type 1 sans néphropathie. Diallo F. a trouvé un taux d'HbA_{1c} de 12,34 $\pm$ 5,73 % chez des sujets diabétiques de type 1 microalbuminuriques. [36]

Par ailleurs, chez les sujets diabétiques de type 2, la glycémie à jeun (1,70 $\pm$ 0,80 g/l versus 1,71 $\pm$ 0,77 g/l ; $p = 9,7.10^{-1}$) et le taux d'hémoglobine total sanguin (12,795 $\pm$ 1,255 g/l versus 12,75 $\pm$ 1,17 g/l ; $p = 9,0.10^{-1}$) demeurent statistiquement les mêmes entre sujets à néphropathie et sujets sans néphropathie. Ce qui fait certainement que le taux d'HbA_{1c} est resté égal entre les sujets à néphropathie et les sujets sans néphropathie (9,74 $\pm$ 2,23 % versus 9,98 $\pm$ 2,21% ; $p = 7,3.10^{-1}$). Diallo F. a obtenu un taux d'HbA_{1c} de 10,14 $\pm$ 3,98 % chez les sujets diabétiques de type 2 microalbuminuriques. [36]

En définitive, il semble que le rôle de l'hyperglycémie chronique dans la survenue de la néphropathie au cours du diabète soit plus évident chez les sujets diabétiques de type 1 que chez les sujets diabétiques de type 2. L'hyperglycémie chronique est, en fait, une condition nécessaire mais pas suffisante pour expliquer le développement de la néphropathie au cours du diabète, en particulier au cours du diabète de type 2. Cette conclusion à laquelle ce travail a conduit ne fait que confirmer les résultats de Nieuwdorp M et coll. [90, 91] ainsi que ceux de Fioretto P et coll [43].

Nieuwdorp M et coll. rapportent que, chez les sujets diabétiques de type 1, l'hyperglycémie provoque une réduction du volume du glycocalyx systémique [90]. La diminution du volume du glycocalyx est, quant à elle, fortement associée à la survenue de la microalbuminurie [91].

Fioretto P et coll., quant à eux, indiquent que les modifications de la structure du glomérule typiques de la néphropathie diabétique (prise de volume des capillaires glomérulaires, épaissement de la membrane basale glomérulaire, expansion mésangiale et élargissement des pédicelles des podocytes) perceptibles dès l'apparition de la microalbuminurie sont moins marquées chez les sujets diabétiques de type 2, avec seulement un tiers qui répond au schéma classique décrit chez les sujets diabétiques de type 1 [43].

VI-3. Quelles relations entre les paramètres du bilan lipidique (triglycérides, cholestérol total, HDL-cholestérol, LDL-cholestérol, indice d'athérogénicité) et la réduction du débit de filtration glomérulaire dans le diabète ?

Dans le présent travail, il est noté que:

➤ chez les sujets diabétiques de type 1 :

Dans un premier temps, la proportion de sujets avec une hypercholestérolémie (46,15% versus 15%, $T_0\alpha = 2,37$) et avec un indice d'athérogénicité augmenté (10,26 % versus 00% ; $T_0\alpha = 2,56$) est significativement plus élevée chez les sujets à néphropathie comparés aux sujets sans néphropathie au moment où aucun des deux groupes ne présentent de sujets avec une hypertriglycéridémie.

Dans un deuxième temps, une hausse non significative de la triglycéridémie (0,76 $\pm$ 0,24 g/l versus 0,68 $\pm$ 0,23 g/l ; $p=2,2.10^{-1}$), une élévation significative de la cholestérolémie (2,03 $\pm$ 0,49 g/l versus 1,78 $\pm$ 0,40 g/l ; $p = 5.10^{-2}$), de la LDL-cholestérolémie (1,25 $\pm$ 0,58 g/l versus 0,83 $\pm$ 0,45 g/l ; $p = 7.10^{-3}$) et de l'indice de risque athérogène (3,86 $\pm$ 1,72 versus 2,40 $\pm$ 0,97 ; $p = 8.10^{-4}$), et une baisse significative de la HDL-cholestérolémie (0,63 $\pm$ 0,33 g/l versus 0,81 $\pm$ 0,25 g/l ; $p = 4,2.10^{-2}$) entre sujets avec et sans néphropathie.

➤ Chez les sujets diabétiques de type 2 :

Premièrement, seul le groupe sans néphropathie a des sujets avec une hypertriglycéridémie (07,14% versus 00% ; $T_0\alpha=2,01$) comparé au groupe de sujets à néphropathie. Cette différence de proportion entre les deux groupes est significative.

Secondairement, il n'existe pas de variation significative des moyennes de la triglycéridémie (0,78 $\pm$ 0,24 g/l versus 0,84 $\pm$ 0,35 g/l ; $p = 4,3.10^{-1}$), de la cholestérolémie (2,215 $\pm$ 0,48 g/l versus 2,03 $\pm$ 0,49 g/l ; $2,1.10^{-1}$), de la LDL-cholestérolémie (1,53 $\pm$ 0,48 g/l versus 1,30 $\pm$ 0,54 g/l ; $p = 1,2.10^{-1}$), de la HDL-cholestérolémie (0,53 $\pm$ 0,15 g/l versus 0,56 $\pm$ 0,17 g/l ; $p = 5,1.10^{-1}$) et du risque athérogène (4,50 $\pm$ 1,64 versus 4,10 $\pm$ 2,18 ; $p=4,4.10^{-1}$) entre les sujets atteints de néphropathie et les sujets indemnes de néphropathie.

Il existe donc une dyslipidémie associée à la réduction du débit de filtration glomérulaire qui est caractérisée, chez les sujets diabétiques de type 1, par une hypercholestérolémie, une augmentation de la LDL-cholestérolémie, une baisse de la HDL-cholestérolémie et une élévation de l'indice d'athérogénicité, mais avec une triglycéridémie normale.

En ce qui concerne les sujets diabétiques de type 2, la dyslipidémie est réelle mais elle n'est pas fonction de la diminution du débit de filtration glomérulaire. En effet, alors qu'aucune variation significative de la triglycéridémie, de la cholestérolémie, de la HDL-cholestérolémie, de la LDL-cholestérolémie n'est observée entre sujets diabétiques de type 2 avec et sans néphropathie, les sujets diabétiques de type 2 à DFG réduit comparés aux sujets diabétiques de type 1 à DFG réduit montrent :

- des valeurs de cholestérolémie superposables (2,215 +/- 0,48 g/l versus 2,03 +/- 0,49 g/l ; $p = 8,03.10^{-2}$)
- une LDL-cholestérolémie plus augmentée (1,53 +/- 0,48 g/l versus 1,25 +/- 0,58 g/l ; $p = 1,04.10^{-2}$)
- une HDL-cholestérolémie plus basse (0,53 +/- 0,15 g/l versus 0,63 +/- 0,33 g/l ; $p = 3,9.10^{-2}$)
- des valeurs d'indice d'athérogénicité superposables (4,50 +/- 1,64 versus 3,86 +/- 1,72 ; $p = 6,9.10^{-2}$)
- des valeurs de triglycéridémie superposables (0,78 +/- 0,24 versus 0,76 +/- 0,24 ; $p = 7,4.10^{-1}$).

Brites FD et coll. trouvent, chez des sujets diabétiques, sans spécification du type, avec insuffisance rénale chronique, une LDL-cholestérolémie significativement plus élevée dans la même catégorie de sujets mais sans insuffisance rénale chronique. [16]

Agaba El et coll. découvrent une HDL-cholestérolémie basse (0,57 +/- 0,42 g/l +/- vs. 0,87 +/- 0,21 g/l ; $p < 0.05$), une triglycéridémie et une cholestérolémie superposables, une LDL-cholestérolémie élevée (1,05 +/- 0,76 g/l vs. 0,53 +/- 0,19 g/l ; $p < 0.05$), un indice d'athérogénicité élevé (3.65 +/- 3.97 ; 0.61 +/- 0.30 ; $p < 0.05$) chez des sujets diabétiques, sans spécification du type, avec une insuffisance rénale chronique terminale comparés à des sujets diabétiques mais sans insuffisance rénale terminale [2].

Il semble, donc, que la survenue d'une néphropathie provoque, chez les sujets diabétiques de type 1, un profil lipidique dont le niveau d'athérogénicité plus élevé que celui des sujets diabétiques de type 1 sans néphropathie tend vers celui des sujets diabétiques de type 2 à néphropathie sans atteindre celui des sujets diabétiques de type 2 sans néphropathie. En d'autres termes, l'athérogénicité du profil lipidique des sujets diabétiques va, crescendo, de celui des sujets diabétiques de type 1 indemnes de néphropathie vers celui des sujets diabétiques de type 2 à néphropathie en passant successivement par celui des sujets diabétiques de type 1 à néphropathie puis par celui des sujets diabétiques de type 2 sans néphropathie.

Par rapport aux résultats de ce travail, Diallo F. a retrouvé une cholestérolémie plus basse ($1,67 \pm 0,33$ g/l), une HDL-cholestérolémie plus élevée ($0,71 \pm 0,30$ g/l), une triglycéridémie plus basse ($0,52 \pm 0,16$ g/l) chez des sujets diabétiques de type 1 microalbuminuriques; une cholestérolémie plus basse ($1,96 \pm 0,53$ g/l), une HDL-cholestérolémie plus élevée ($0,65 \pm 0,25$ g/l), une triglycéridémie plus basse ($0,62 \pm 0,29$ g/l) chez des sujets diabétiques microalbuminuriques de type 2 [36]. Elle n'a déterminé ni la LDL-cholestérolémie ni l'indice d'athérogénicité.

Par ailleurs, Bulum T et coll. ont noté, chez les diabétiques de type 1, des concentrations sériques de HDL2 plus basses chez les patients présentant une microalbuminurie que chez ceux avec une normoalbuminurie tandis que les concentrations sériques de cholestérol, de triglycérides, de VLDL, de LDL, de HDL et de HDL3 ne sont pas significativement différentes entre les deux groupes de patients [20]. Chez les diabétiques de type 1, l'étude de EURODIAB IDDM Complications Study a montré que la macroalbuminurie est associée à l'augmentation des concentrations plasmatiques de cholestérol total, des triglycérides, du LDL-cholestérol, du ratio cholestérol/ HDL-cholestérol et, chez les femmes, à la réduction des concentrations plasmatiques de HDL [84].

A la lumière des résultats de Diallo F., de Bulum T et coll. et de l'étude d'EURODIAB IDDM Complications Study comparés à ceux du présent travail, il semble que la dyslipidémie au cours de la néphropathie est associée beaucoup plus à la réduction du débit de filtration glomérulaire et à la présence d'une macroalbuminurie qu'à la présence d'une microalbuminurie [20, 36, 84]. Cela impliquerait la recherche systématique du profil lipidique du sujet diabétique qui subit une réduction de son débit de filtration glomérulaire ou qui fait une

macroalbuminurie; ce qui ne serait pas toujours nécessaire à la découverte d'une microalbuminurie.

VI-4. Quelle place accorder aux profils lipidiques des sujets diabétiques à néphropathie dans le débat qui oppose les partisans d'un rôle de la dyslipidémie en tant que facteur d'initiation et d'aggravation de la néphropathie au cours du diabète et leurs adversaires?

La notion selon laquelle les lipides pourraient médier partiellement l'atteinte rénale dans diverses néphropathies, dont celle observée au cours du diabète, est déjà ancienne, lorsque Ruan XZ et coll. émirent l'hypothèse que l'athérosclérose et la glomérulosclérose pourraient avoir des voies physiopathologiques partiellement communes [107]. Wanner C et coll. [137] de même que Rutledge JC et coll. [108] font remarquer que les sujets diabétiques à insuffisance rénale chronique ont une dyslipidémie secondaire et les altérations complexes dans la composition de leurs lipoprotéines non seulement accompagnent l'atteinte rénale mais aussi elles promeuvent sa progression. Selon Chen HC et coll. [25], la dyslipidémie ne serait pas simplement un facteur aggravant mais aussi un facteur d'initiation de la néphropathie diabétique : « l'un des facteurs de risque majeur dans le développement et la progression de la néphropathie diabétique est la dyslipidémie ». En effet, les lipides, en stimulant la TGF- β , entraîneraient la production d'espèces réactives de l'oxygène et contribueraient, de facto, à l'aggravation de l'atteinte des reins du sujet diabétique en potentialisant l'altération du glycocalyx glomérulaire, en favorisant la fibrose tubulo-interstitielle...[25, 108]. Pour preuve, en 2005, il a été montré que, chez le rat diabétique, l'utilisation de la pravastatine s'oppose à une augmentation du taux sérique de la créatinine et à la diminution du débit de filtration glomérulaire [60].

Quel profil caractérise la dyslipidémie impliquée dans la progression de la néphropathie au cours du diabète ?

Dans le présent travail il est retrouvé :

Chez les sujets diabétiques de type 1, une hausse non significative de la triglycémie, une élévation significative de la cholestérolémie, de la LDL-cholestérolémie et de l'indice de risque athérogène, et une baisse significative de la HDL-cholestérolémie chez les sujets à DFG réduit comparés aux sujets à DFG normal (cf. tableau XXXVI).

Chez les sujets diabétiques de type 2, il n'est observé aucune variation significative de la triglycéridémie, de la cholestérolémie, de la LDL-cholestérolémie, de la HDL-cholestérolémie et du risque athérogène entre les sujets à DFG réduit et les sujets à DFG normal (cf. tableau XXXVII).

Pour Wanner C. et coll., la dyslipidémie impliquée dans la progression de la néphropathie au cours du diabète, sans spécification du type, est caractérisée surtout par une augmentation de la triglycéridémie (VLDL-remnants/ IDL), une élévation des LDL et une diminution de la HDL-cholestérolémie [137].

Quant à Tolenen N. et coll., l'hypertriglycéridémie prédit la progression vers la macroalbuminurie au moment où l'augmentation de la cholestérolémie, de la LDL-cholestérolémie et la diminution de la HDL-cholestérolémie sont des facteurs prédictifs de la progression vers l'insuffisance rénale terminale chez les sujets diabétiques de type 1 [125].

Selon Kim DM. et coll., l'hypertriglycéridémie, surtout, serait un facteur d'aggravation de la néphropathie au cours du diabète car la triglycéridémie était toujours significativement plus élevée dans le groupe des sujets à atteinte rénale en progression que dans le groupe des sujets à atteinte rénale « statique » au début et à la fin du suivi des sujets diabétiques de type 2 à néphropathie [71].

En somme, il semblerait que la dyslipidémie soit bien impliquée dans l'aggravation de la néphropathie au cours du diabète de type 1, ce qui est moins évident dans le diabète de type 2. La dyslipidémie serait-elle un facteur déclenchant de la néphropathie ? Il serait difficile de lui imputer un rôle pareil. En effet, dans le présent travail, les sujets diabétiques de type 2, pourtant à DFG non réduit, ne montrent pas de différence significative de triglycéridémie ($0,84 \pm 0,35$ g/l versus $0,76 \pm 0,24$ g/l, $p = 3,6 \cdot 10^{-1}$), de cholestérolémie ($2,03 \pm 0,49$ g/l versus $2,03 \pm 0,49$ g/l, $p = 9,8 \cdot 10^{-1}$), de LDL-cholestérolémie ($1,30 \pm 0,54$ g/l versus $1,25 \pm 0,58$ g/l, $p = 7,5 \cdot 10^{-1}$) et de HDL-cholestérolémie ($0,56 \pm 0,17$ g/l versus $0,63 \pm 0,33$ g/l, $p = 4,25 \cdot 10^{-1}$) au regard des sujets diabétiques de type 1 à DFG réduit.

D'un autre côté, il semblerait qu'il est possible d'émettre l'hypothèse selon laquelle la dyslipidémie caractéristique de la néphropathie au cours du diabète serait une résultante de celle-ci. En clair, la néphropathie au cours du diabète engendrerait, elle-même, la dyslipidémie qui la caractérise. En effet, dans le présent travail, il est retrouvé une triglycéridémie (sauf chez les sujets diabétiques de type 2), une cholestérolémie, une LDL-cholestérolémie, un indice d'athérogénicité élevés et une HDL-cholestérolémie basse chez les sujets diabétiques de type 1 comme de type 2 à DFG réduit par rapport aux sujets à DFG non réduit bien que les différences de moyennes ne soient pas significatives chez les sujets diabétiques de type 2 (cf. tableau XXXVI, tableau XXXVII). Boemi M. et coll réalisent que chez les sujets normoalbuminuriques ou microalbuminuriques, l'altération de la fonction rénale objectivée par une diminution de la clairance rénale de la créatinine ou une augmentation de la créatininémie est un déterminant majeur de l'élévation du taux plasmatique de la Lp (a) chez les sujets diabétiques de type 1 comme de type 2 [12].

La néphropathie au cours du diabète occasionnerait une sortie massive dans les urines de cofacteurs (apoA I, apoC...) d'enzymes impliquées dans le métabolisme lipidique (lécithine cholestérol acyl transférase, lipoprotéine lipase plasmatique, triglycéride lipase plasmatique...). La sortie excessive des cofacteurs réduirait d'une part leur demi-vie et d'autre part entraînerait une diminution de l'activité des enzymes qu'ils activent. C'est, probablement ainsi que Brites FD et coll. rapportent qu'ils n'ont pas pu détecter l'apoA I dans les urines des sujets diabétiques sans insuffisance rénale chronique tandis que les sujets diabétiques à glomérulopathie et insuffisance rénale chronique qui présentaient une protéinurie au-dessus de 6,5g/24 h montraient des concentrations d'apoA I urinaires détectables [16]. Par ailleurs, Hirano T. rapporte une activité réduite de la triglycéride lipase hépatique dans la néphropathie diabétique [61].

L'élimination excessive d'apoA I dans les urines s'accompagnerait de la réduction de l'activité de la LCAT et donc d'une diminution de l'estérification du cholestérol libre des HDL ; ce qui pourrait être vérifié en étudiant ultérieurement le rapport de l'excrétion urinaire d'apoA I sur le HDL-cholestérol estérifié qui sera augmenté chez les sujets à néphropathie au cours du diabète.

La diminution de l'activité de la triglycéride lipase hépatique (TGLH) serait une conséquence de l'élimination urinaire de l'apoC, ce qui pourrait être vérifié en étudiant le

rapport de l'excrétion urinaire de l'apoC sur l'activité de la triglycéride lipase hépatique qui sera élevé chez les sujets à néphropathie au cours du diabète.

CONCLUSION :

Au terme de cette étude, nous pouvons retenir que :

- chez les sujets diabétiques de type 1, il est beaucoup plus indiqué de calculer le débit de filtration glomérulaire avec la formule de Cockcroft et Gault plutôt qu'avec la formule du CKD-EPI qui reste équivalente sinon plus performante que la formule du MDRD simplifiée.
- chez les sujets diabétiques de type 2, l'application de la formule du CKD-EPI, équivalente sinon plus performante que la formule du MDRD modifié, demeure plus appropriée que l'emploi de la formule de Cockcroft et Gault pour estimer le débit de filtration glomérulaire.
- le rôle de l'hyperglycémie chronique dans la survenue de la néphropathie au cours du diabète est plus évident chez les sujets diabétiques de type 1 que chez les sujets diabétiques de type 2. L'hyperglycémie chronique est, en fait, une condition nécessaire mais pas suffisante pour expliquer le développement de la néphropathie au cours du diabète, en particulier au cours du diabète de type 2.
- le rôle de l'HbA_{1c} en tant que marqueur du contrôle glycémique chez les sujets diabétiques surtout de type 1 devrait être remis en cause avec la survenue d'une réduction du débit de filtration glomérulaire.
- la dyslipidémie du sujet diabétique est bien impliquée dans l'aggravation de la néphropathie au cours du diabète de type 1, ce qui est moins évident dans le diabète de type 2. Toutefois, le rôle de la dyslipidémie comme facteur déclenchant de la néphropathie n'est pas apparu.
- il est possible que la dyslipidémie caractéristique de la néphropathie au cours du diabète soit une résultante de celle-ci. En d'autres termes, la néphropathie au cours du diabète entraînerait, elle-même, la dyslipidémie qui la caractérise.
- l'athérogénicité du profil lipidique des sujets diabétiques va crescendo des sujets diabétiques de type 1 présentant un DFG normal aux sujets diabétiques de type 1 avec une baisse du

DFG, puis aux sujets diabétiques de type 2 ayant un DFG normal, et enfin aux sujets diabétiques de type 2 avec une diminution du DFG.

En définitive, l'utilisation des formules d'estimation du DFG peut paraître rébarbative. Aussi suggérerions-nous, pour notre population de sujets diabétiques sénégalais de race noire, la détermination de la cystatinémie-C qui reflèterait plus fidèlement le débit de filtration glomérulaire.

RESUME DE LA THESE

Introduction :

Le débit de filtration glomérulaire (DFG) est un marqueur diagnostique de la néphropathie. Pour estimer le DFG la formule de CG, du MDRDs ou du CKD-EPI peut être utilisée. L'objectif de cette étude est de déterminer parmi ces trois formules laquelle est la mieux adaptée pour estimer le DFG au cours du diabète.

Matériels et méthodes :

Sur une population de 59 diabétiques de type 1 et 70 diabétiques de type 2, avec un diabète âgé d'au moins 5 ans, recrutés au centre anti-diabète Marc Sankalé de Dakar (Sénégal), la créatininémie a été dosée avec la méthode de Jaffé en cinétique sur Hospitex.

Le DFG a ensuite été déterminé à l'aide des formules de COCKROFT et GAULT (CG), du MDRD et du CKD-EPI. Les moyennes obtenues ont été comparées à l'aide du test t de Student et le seuil de significativité a été fixé à $p < 0,05$. De même, les différences de proportions ont été considérées significatives pour $T_0\alpha > 1,96$. Quant aux coefficients de corrélation calculés, ils ont été soumis au test Z, pour des différences significatives à partir de $Z_0\alpha > 1,96$.

Résultats :

La moyenne du DFG, la proportion de sujets à DFG réduit et la force du lien entre l'inverse de la créatininémie et le DFG ne présentent aucune différence significative que le DFG soit calculé avec la formule du MDRD ou avec celle du CKD-EPI chez les sujets diabétiques de type 1 comme chez les sujets diabétiques de type 2.

La moyenne du DFG et la force de corrélation entre l'inverse de la créatininémie et le DFG ne sont pas significativement différentes si le DFG est calculé avec la formule de CG à la place du CKD-EPI. Par contre, la proportion de sujets à DFG réduit est significativement plus importante si le DFG des sujets diabétiques de type 1 est obtenu avec la formule de CG plutôt qu'avec celle du CKD-EPI (66,10% vs 47,46% ; $T_0\alpha = 2,05$).

La moyenne du DFG et la proportion de sujets à DFG réduit demeurent statistiquement égales chez les sujets diabétiques de type 2 que le DFG soit estimé par la formule de CG ou par celle du CKD-EPI. Toutefois, la corrélation entre l'inverse de la créatininémie et le DFG est plus forte chez le sujet diabétique de type 2 si le DFG est calculé avec la formule du CKD-EPI à la place de la formule de CG (0,961 vs 0,632 ; $Z_0\alpha = 7,02$).

.

Conclusion :

- chez les sujets diabétiques de type 1, il est beaucoup plus indiqué de calculer le débit de filtration glomérulaire avec la formule de Cockcroft et Gault plutôt qu'avec la formule du CKD-EPI qui reste équivalente sinon plus performante que la formule du MDRD simplifiée.
- chez les sujets diabétiques de type 2, l'application de la formule du CKD-EPI, équivalente sinon plus performante que la formule du MDRD modifié, demeure plus appropriée que l'emploi de la formule de Cockcroft et Gault pour estimer le débit de filtration glomérulaire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) **Action S.**
Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor.
Science 1996; **271**:460–461.

- 2) **Agaba EI, Duguru M, Agaba PA, Angbazo D.**
Serum lipid profile of Nigerian diabetics with end stage renal disease.
West Afr J Med. 200; 24(4):305-8.

- 3) **Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé.**
Diagnostic de l'insuffisance rénale chronique chez l'adulte. Recommandations pour la pratique clinique.
Paris: ANAES; 2002.

- 4) **Alberti KGMM, Zimmet PZ for the WHO consultaion.**
Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus, provisional report of a WHO consultation.
Diabetic Med, 1998; 15: 539-553.

- 5) **American Diabetes Association (ADA)**
Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus.
Diabetes Care. 2010; 33: S62-S69.

- 6) **Anna Kottgen, Elisabeth Selvin, Lesley A.**
Serum cystatine in the United States: The Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III).
American Journal of Kidney Diseases. 2008; 51(3): 385-394

- 7) **Anurag S., Simon C.S.**
Microalbuminuria: causes and implications.
Pediatr Nephrol. 2011; 26(11): 1957–1965

- 8) **Arai T., Wang N., Bezouevski M., Welch C., Tall A.R.**

Decreased atherosclerosis in heterozygous low density lipoprotein receptor-deficient mice expressing the scavenger receptor BI transgene.

J. Biol. Chem. 2000; 274:2366–2371.

- 9) **Austin, M.A., King, M.D., Vranizan, K.M., and Krauss, R.M.**

Atherogenic lipoprotein phenotype. A proposed genetic marker for coronary heart disease risk.

Circulation. 1990; 82:495–506.

- 10) **Bacon B.L., Pardue H.L.**

Predictive, error-compensating kinetic method for enzymatic quantification of creatinine in serum.

Clin. Chem. 1991; 37:1338-1344.

- 11) **Battisti W.P., Palmisano J., Keane W.E.**

Dyslipidemia in patients with type 2 diabetes. relationships between lipids, kidney disease and cardiovascular disease.

Clin Chem Lab Med. 2003; 41(9):1174-81.

- 12) **Boemi M., Sirolla C., Fumelli P., James R.W.**

Renal disease as a determinant of increased lipoprotein (a) concentrations in diabetic patients.

Diabetes Care. 1999; 22(12):2033-6.

- 13) **Bonnet F., Cooper M.E.**

Potential influence of lipids in diabetic nephropathy: insights from experimental data and clinical studies.

Diabetes Metab. 2000; 26(4):254-64.

- 14) **Borel J., J. Channard, J. Gougeon, M. Leutenegger, G. Potron, A. Randoux, et P. Zettoun –**

Comment prescrire et interpréter un examen de biochimie,

Ed Maloine, 1984.

- 15) **Bouzakri K, Koistinen HA, Zierath J.**

Molecular mechanisms of skeletal muscle insulin resistance in type 2 diabetes.

Curr Diab Rev 2005;1:167–74.

- 16) **Brites FD, Fernández KM, Verona J, Malusardi MC, Ischoff P, Beresan H, Elbert A, Wikinski RL.**

Chronic renal failure in diabetic patients increases lipid risk factors for atherosclerosis.

Diabetes Res Clin Pract. 2007;75(1):35-41.

- 17) **Brownlee M.**

Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications.

Nature 2001; 414:813–820.

- 18) **Bruce A. Molitoris.**

Yet Another Advance in Understanding Albuminuria?

J Am Soc Nephro.l 2010; 21: 2013–2015.

- 19) **Bruce C., Chouinard R.A., Jr., Tall A.R.**

Plasma lipid transfer proteins, high-density lipoproteins, and reverse cholesterol transport.

Annu. Rev. Nutr. 1998; 18:297–330.

- 20) **Bulum T, Duvnjak L, Prkacin I.**

Lower levels of HDL2 cholesterol are associated with microalbuminuria in patients with type 1 diabetes.

Acta Med Croatica. 2001; 65(3):243-50.

- 21) **Cagliero E, Roth T, Roy S, Lorenzi M.**

Characteristics and mechanisms of high-glucose-induced overexpression of basement membrane components in culture human endothelial cells.

Diabetes, 1991, 40, 102- 110.

22) **Caramori ML, Fioretto P, Mauer M.**

Low glomerular filtration rate in normoalbuminuric type 1 diabetic patients: An indicator of more advanced glomerular lesions.

Diabetes 52: 1036–1040, 2003.

23) **Cartensen CA, Nagel R**

Development and evaluation of a reagent carrier with a new reaction sequence for the determination of creatinine in blood, plasma, serum and urine.

Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 1993; 31: 335-346.

24) **Chan DC, Barrett HPR, Watts GF**

Dyslipidemia in visceral obesity.

Am J Cardiovasc Drugs. 2004; 4: 227- 246

25) **Chen HC, Guh JY, Chang JM, Hsieh MC, Shin SJ, Lai YH.**

Role of lipid control in diabetic nephropathy.

Kidney Int Suppl. 2000; (94):S60-2.

26) **Christian Moussard.**

Biochimie structurale et métabolique.

De Boeck, 3^{ième} édition.

27) **Cissé A., Lopez Sall P., Diop P.A., Diop S.N., Sylla Niang M., Ka Cissé M.S., Guèye P.M., Sarr A., Ndour Mbaye N.M.**

Fréquence de la microalbuminurie au cours du diabète à Dakar (Sénégal).

Dakar Médical. 2003 ; 48: 237-239.

28) **Clarke H, Soler A.P. and Mullin J.M.**

Protein kinase C activation leads to dephosphorylation of occludin and tight junction permeability increase in LLC-PK1 epithelial cell sheets.

J Cell Sci. 2000; 113 : 3187-3196.

29) **Cockcroft D.W., Gault M.H.**

Prediction of creatinine clearance from serum creatinine.

Nephron. 1976; 16; 31-41.

30) **Cowie C.C, Port F.K., Wolf R.A .**

Disparities in incidence of diabetic end stage renal disease according to race and type of diabetes .

N. Engl. J. Med., 1989 ; 321 : 1074 -1079.

31) **Dalla Vestra M, Saller A, Bortoloso E, Mauer M, Fioretto P.**

Structural involvement in type 1 and type 2 diabetic nephropathy.

Diabetes Metab. 2000; 26 (4): 8-14.

32) **Danesh FR, Kanwar Y.S.**

Modulatory effects of HMG-CoA reductase inhibitors in diabetic microangiopathy.

FASEB J. 2004; 18: 805-815.

33) **De Fronzo R.A.**

Pathogenesis of type II diabetes: metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes.

Diab Rev. 1997; 5:177–269.

34) **Delanaye P, Cavalier E, Mariat C, Maillard N, Krzesinski JM.**

MDRD or CKD-EPI study equations for estimating prevalence of stage 3 CKD in epidemiological studies: which difference? Is this difference relevant?

BMC Nephrol 2010;11:8.

35) **DeRubertis F.R., Craven P.A., Melhem M.F., Salah E.M.**

Attenuation of renal injury in db/db mice overexpressing superoxide dismutase: evidence for reduced superoxide-nitric oxide interaction.

Diabetes. 2004; 53:762–768.

36) **Diallo F.**

Intérêt du dosage de la microalbuminurie dans la néphropathie diabétique.

Thèse Med. UCAD/FMPOS. 1998- N°15

37) **Diop O.**

Fréquence du syndrome pluri métabolique dans une entreprise dakaroise.

Thèse pharmacie. UCAD/FMPOS. 2009; N°133

38) **Durand G., Beaudeau J.L.**

Biochimie médicale : marqueurs actuels et perspectives.

Lavoisier. 2008 . 271-292

39) **Ekelund S., Paby P.**

High-performance liquid chromatographic determination of creatinine.

Scand. J. Clin. Lab. Invest.1991; 51: 67-71.

40) **Elaine W. R., Russell R.**

Smooth muscle cells and the pathogenesis of the lesions of atherosclerosis.

Br Heart J 1993; 69(Supplement): S 30-S 37

41) **Evans J.L., Goldfine I.D., Maddux B.A., Grodsky G.M.**

Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes.

Endocr Rev. 2002; 23: 599-622

42) **Ferro T., Neumann P., Gertzberg N.**

Protein kinase C- α mediates endothelial barrier dysfunction induced by TNF- α .

Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2000; 278: L1107-L1117.

43) **Fioretto P., Stehouwer CD, Mauer M, Chiesura-Corona M, Brocco E, Carraro A, Bortoloso E, Hinsbergh VW, Crepaldi G, Nosadini R.**

Heterogeneous nature of microalbuminuria in NIDDM: studies of endothelial function and renal structure.

Diabetologia. 1998;41:233–236.

44) **Fonseca V., Inzucchi S.E., and Ferrannini E.**

Redefining the Diagnosis of Diabetes Using Glycated Hemoglobin.

Diabetes Care. 2009; 32(7): 1344–1345.

45) **Garg A.X., Kiberd BA, Clark WF, Haynes RB, Clase CM.**

Albuminuria and renal insufficiency prevalence guides population screening: Results from the NHANES III.

Kidney Int.2002; 61: 2165–2175.

46) **Garvey W.T., Maianu L, Zhu JH, Brechtel-Hook G, Wallace P, Baron AD.**

Evidence for defects in the trafficking and translocation of GLUT4 glucose transporters in skeletal muscle as a cause of human insulin resistance.

J Clin Invest 1998; 101:2377–86

47) **Ginsberg H.N.**

Association of postprandial triglyceride and retinyl palmitate responses with newly diagnosed exerciseinduced myocardial ischemia in middle-aged men and women.

Arterioscler Thromb. Vasc. Biol. 1995 ; 15:1829–1838.

48) **Gingsberg H.N.**

Insulin resistance and cardiovascular disease.

The Journal of Clinical Investigation. 2000. Vol:106; N° 4.

49) **Grant S.F., Thorleifsson G., Reynisdottir I., Benediktson R., Manolesu R., Sainz J.**

Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes.

Nat Genet 2006; 38:320–3.

50) **Grimaldi A.,**

Diabétologie : questions d'internat.

Université Paris VI.2000.

51) **Grimaldi A., Hartemann-Heurtier A.**

Diabète insulino-dépendant : étiologie, physiopathologie, diagnostic, complications, traitement.

La revue du praticien, 2000 ; 50 : 1473-1475.

52) **Guillausseau P.J.**

Traitement préventif de la microangiopathie diabétique : bloquer les mécanismes pathogéniques.

Diabetes Metab. 1994 ; 20: 219-2

53) **Guy J.M., Legg E.F.**

An improved cation exchange HPLC method for the measurement of serum creatinine.

Ann. Clin. Biochem. 1990; 27: 223-226.

54) **Hadjadj S, Duly-Bouhanick B, Bekherras A, Bridoux F, Gallois Y, Mauco G, Ebran J, Marre M**

Serum triglycerides are a predictive factor for the development and the progression of renal and retinal complications in patients with type 1 diabetes.

Diabetes Metab. 2004; 30(1):43-51.

55) **Hall V., Thomsen R.W., Henriksen O., Lohse N.**

Diabetes in Sub Saharan Africa 1999-2011: Epidemiology and public health implications: a systematic review.

BMC Public Health. 2011; 11: 564.

56) **Hara F., Nakazato K, Shiba K, Shimoda J, Kojima T, Fukumura Y, Kobayashi I.**

Studies of diabetic nephropathy. I. Effects of storage time and temperature on microalbuminuria.

Biol Pharm Bull. 1994;17:1241–1245.

57) **Harris M.I., Klein R., Welborn T.A., Knuiman MW.**

Onset of NIDDM occurs at least 4–7 years before clinical diagnosis.
Diabetes Care 1992;15:815–9.

58) **Hasslacher C, Bostedt-Kiesel A, Kempe HP, Wahl P.**

Effect of metabolic factors and blood pressure on kidney function in proteinuric type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients.

Diabetologia.1993; 36:1051–1056.

59) **Hausmann R., Kuppe C., Egger H., Schweda F., Knecht V., Elger M., Menzel S., Somers D., Braun G., Fuss A., Uhlig S., Kriz W., Tanner G., Floege J., Moeller M.J.**

Electrical forces determine glomerular permeability.

J Am Soc Nephrol. 2010; 21: 2053–2058

60) **Hermans M.P.**

Lipides postprandiaux et diabète.

Louvain Med. 118 : S184- S188, 199.

61) **Hirano T**

Lipoprotein abnormalities in diabetic nephropathy.

Kidney Int Suppl. 1999; 71:S22-4.

62) **Horowitz B.S.**

Increased plasma and renal clearance of an exchangeable pool of apolipoprotein A-I in subjects with low levels of high density lipoprotein cholesterol.

J. Clin. Invest. 1993. 91:1743–1752.

63) **Janet J.K.L.**

Microalbuminuria among Type 1 and Type 2 diabetic patients of African origin in Dar Es Salaam, Tanzania.

BMC Nephrol. 2007; 8: 2.

64) **Jefferson J.A., Shankland S.J., Pichler R.H.**

Proteinuria in diabetic kidney disease: A mechanistic viewpoint.

Kidney Int. 2008; 74: 22–36,

65) **Jensen J.S.**

Microalbuminaria and the risk of atherosclerosis.

Clinical epidemiological and physiological investigations.

Dan Med Bull. 2000; 47(2):63-78.

66) **Kahn S.E.**

The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of type 2 diabetes.

Diabetologia. 2003; 46: 3–19.

67) **Kashihara N., Watanabe Y., Makino H., Wallner E.I., Kanwar Y.S.**

Selective decreased de novo synthesis of glomerular proteoglycans under the influence of reactive oxygen species.

Proc Natl Acad Sci USA. 1992; 89:6309–6313.

68) **Keech A., Simes R.J., Barter P., for the FIELD study investigators**

Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in 9795 people with type 2 diabetes mellitus (the FIELD study): Randomised controlled trial.

Lancet. 2005; 366: 1849–1861

69) **Kenn H., C Louverakis C.**

An immunoassay method for urinary alburilln at low concentrations.

Lancet. 1963 ; 2 : 913-914.

70) **Kernbaum S., Costa J.M., Delatour F., Faurisson F., Girod C., Kamoun P.**

Dictionnaire de médecine.

Paris: Médecine-Sciences Flammarion; 1998.

- 71) **Kim DM, Ahn CW, Park JS, Cha BS, Lim SK, Kim KR, Lee HC, Huh KB.**

An implication of hypertriglyceridemia in the progression of diabetic nephropathy in metabolically obese, normal weight patients with type 2 diabetes mellitus in Korea.

Diabetes Res Clin Pract. 2004; 66 Suppl 1:S169-72.

- 72) **Klahr S., Levey A.S., Beck G.J., Caggiula A.W., Hunsicker L., Kusek J.W.**

The effects of dietary protein restriction and blood-pressure control on the progression of chronic renal disease. Modification of Diet in Renal Disease Study Group.

N Engl J Med 1994; 330(13):877-84.

- 73) **Kruszynska Y.T., Olefsky J.M.**

Cellular and molecular mechanisms of non-insulin dependent diabetes mellitus.

J Invest Med.1996; 44:413–28.

- 74) **Lacqumant Corinne**

Thèse de biologie : étude génétique de l'insulino-résistance du diabète et de leurs complications cardiovasculaires.

UST de Lille 1, UFR de biologie : décembre 2000.page : 10-24 ; 77-78.

- 75) **Larger E, Roussel R.**

Physiopathologie de la micro-angiopathie diabétique.

In : Traité de Diabétologie, A. Grimaldi ed. Flammarion-Sciences, 2005; pp 521-535.

- 76) **Levey A.S., Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D.**

A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group.

Ann Intern Med 1999; 130(6):461-70.

- 77) **Levey A.S., Greene T, Kusek J., Beck G.**

A simplified equation to predict glomerular filtration rate from serum creatinine.

J Am Soc Nephrol 2000; 11: A0828.

78) **Levey A.S., Coresh J., Greene T., Marsh J., Stevens L.A., Kusek J.W.**

Expressing the Modification of Diet in Renal Disease Study equation for estimating glomerular filtration rate with standardized serum creatinine values.

Clin Chem 2007; 53(4):766-72.

79) **Levey A.S., Stevens L.A., Schmid C.H., Zhang Y.L., Castro A.F. 3rd, Feldman H.I., Kusek J.W., Eggers P., Van Lente F., Greene T., Coresh J.; CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration)**

A new equation to estimate glomerular filtration rate.

Ann Intern Med. 2009; 150 (9):604-12.

80) **Levick J.R.**

Capillary filtration-absorption balance reconsidered in light of dynamic extravascular factors.

Exp Physiol. 1991; 76: 825-857.

81) **Lewis D.M., Tooke J.E., Beaman M.**

Peripheral microvascular parameters in the nephritic syndrome.

Kidney Int. 1998; 54: 1261-1266.

82) **MacIsaac R.J., Panagiotopoulos S., McNeil K.J., Smith T.J., Tsalamandris C., Hao H., Matthews P.G., Thomas M.C., Power D.A., Jerums G.**

Is nonalbuminuric renal insufficiency in type 2 diabetes related to an increase in intrarenal vascular disease?

Diabetes Care, 2006. 29: 1560–1566.

83) **Mathiessen E.R., Oxenball B., Johansen K.**

Incipient nephropathy in type I diabetes.

Diabetologia, 1984 ; 26 : 406-410.

84) **Mattock M.B., Cronin N., Cavallo-Perin P., Idzior-Walus B., Penno G., Bandinelli S, Standl E., Kofinis A., Fuller J.H.; EURODIAB IDDM Complications Study.**

Plasma lipids and urinary albumin excretion rate in Type 1 diabetes mellitus: the EURODIAB IDDM Complications Study.

Diabet Med. 2001; 18 (1):59-67.

85) **McKenna K., Thompson C.**

Microalbuminuria: a marker to increased renal and cardiovascular risk in diabetes mellitus. Scott Med J. 1997; 42(4):99-104.

86) **Mogencen C.E.**

Microalbuminuria and incipient diabetic nephropathy.

Diab. Nephrop.1984 ; 3 : 75-78.

87) **Mogensen C.E.**

Histoire naturelle de la néphropathie diabétique chez le diabétique insulino-dépendant et concept d'une intervention non glycémique.

In : Journées annuelles de diabétologie de l'Hôtel Dieu (Paris), 1989 : 225-246.

88) **Mogensen C.E.**

Microalbuminuria and hypertension with focus on type 1 and type 2 diabetes.

J Intern Med. 2003; 254: 45–66.

89) **Moore T.H., Shield J.P.:**

Microalbuminuria in diabetic adolescents and children-feasibility phase of a national cross-sectional study. MIDAC Research Group.

J Diabetes Compl.1999; 13: 122-128.

90) **Nieuwdorp M, Haeften TW, Gouverneur MC, Mooij HL, Lieshout MH, Levi M, Meijers JC, Holleman F, Hoekstra JB, Vink H, Kastelein JJ, Stroes ES.**

Loss of endothelial glycocalyx during acute hyperglycemia coincides with endothelial dysfunction and coagulation activation in vivo.

Diabetes. 2006;55:480–486.

- 91) **Nieuwdorp M, Mooij HL, Kroon J, Atasever B, Spaan JA, Ince C, Holleman F, Diamant M, Heine RJ, Hoekstra JB, Kastelein JJ, Stroes ES, Vink H.**

Endothelial glycocalyx damage coincides with microalbuminuria in type 1 diabetes.

Diabetes. 2006;55:1127–1132.

- 92) **Nordestgaard B.G., Tybjaerg-Hansen A., and Lewis B.**

Influx in vivo of low density, intermediate density, and very low density lipoproteins into aortic intimas of genetically hyperlipidemic rabbits. Roles of plasma concentrations, extent of aortic lesion, and lipoprotein particle size as determinants.

Arterioscler. Thromb. 1992. 12:6–18.

- 93) **Osberg I., Chase H.P., Garg S.K., DeAndrea A., Harris S., Hamilton R., Marshall G.**

Effects of storage time and temperature on measurement of small concentrations of albumin in urine.

Clin Chem, 1990; 36:1428–1430.

- 94) **O’Rahilly S.P., Nugent Z., Rudenski A.S., Hosker J.P., Burnett M.A., Darling P.**

β -cell dysfunction, rather than insulin-insensitivity, is the primary defect in familial type 2 diabetes.

Lancet, 1986; 2:360–4.

- 95) **O’Rahilly S., Turner R.C., Matthews D.R.**

Impaired pulsatile secretion of insulin in relatives of patients with non-insulin-dependent diabetes.

N Engl J Med. 1988; 318:1225–30.

- 96) **Parving H.H., Oxenball B., Svendsen P.A.**

Early detection of patients at risk of developing diabetic nephropathy.

A longitudinal study of urinary albumin excretion.

Acta. Endocrin. 1982; 100: 550-555.

- 97) **Petersen K.F., Shulman G.I.**

Etiology of insulin resistance.

Am J Med. 2006; 119 (5): S10–6

98) **Phillips C.A., Molitch M.E.**

The relationship between glucose control and the development and progression of diabetic nephropathy.

Curr Diab Rep. 2002;2:523–529.

99) **Pierre Valdiguié.**

Biochimie clinique.

Ed : EMI. 2^{ième} édition

100) **Porte Daniel, Sherwin Jr. Robert S., Baron Alain.**

Diabetes mellitus.

Ellenberg & Rifkin's; Sixth edition.

101) **Polonsky K.S., Given B.D., Hirsch L.J., Tillil H., Shapiro E.T., Beebe C.**

Abnormal patterns of insulin secretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus.

N Engl J Med. 1988; 318:1231–9.

102) **Pugliese A., Zeller M., Fernandez A. Jr.**

The insulin gene is transcribed in the human thymus and transcription levels correlated with allelic variation at the INS VNTR-IDDMM2 susceptibility locus for type 1 diabetes.

Nat Genet, 1997; 15: 293-297.

103) **Rapp J.H.**

Triglyceride-rich lipoproteins isolated by selected-affinity anti-apolipoprotein B immunosorption from human atherosclerotic plaque.

Arterioscler. Thromb. 1994; 14:1767–1774.

104) **Rigalleau V., Lasseur C., Perlemoine C., Barthe N., Raffaitin C.,**

Chauveau P., Combe C., Gin H.

Cockcroft-Gault formula is biased by body weight in diabetic patients with renal impairment.

Metabolism. 2006; 55(1):108-12.

- 105) **Rigalleau V., Lasseur C., Perlemoine C., Barthe N., Raffaitin C., Liu C., Chauveau P., Baillet-Blanco L., Beauvieux M.C., Combe C., Gin H.**

Estimation of glomerular filtration rate in diabetic subjects: Cockcroft formula or modification of Diet in Renal Disease study equation?

Diabetes Care. 2005; 28(4):838-43.

- 106) **Rohlfing C.L., Wiedmeyer H.M., Little R.R.**

Defining relationship between plasma glucose and HbA1c : analysis of glucose profile and HbA1c in the diabetes Diabetes Control and Complications trials.

Diabetes care, 2002; 25: 275-278.

- 107) **Ruan XZ, Moorhead J.F., Fernando R., Wheeler D.C., Powis S.H., Varghese Z.**

PPAR agonists protect mesangial cells from interleukin 1 β -induced intracellular lipid accumulation by activating the ABCA1 cholesterol efflux pathway.

J Am Soc Nephrol. 2003 ; 14: 593-600.

- 108) **Rutledge JC, Ng K.F., Aung H.H., Wilson D.W.**

Role of triglyceride-rich lipoproteins in diabetic nephropathy.

Nat Rev Nephrol. 2010; 6(6):361-70.

- 109) **Satchell S. C., Tooke J. E.**

What is the mechanism of microalbuminuria in diabetes: a role for the glomerular endothelium?

Diabetologia. 2008; 51(5): 714–725.

- 110) **Satoh M., Fujimoto S., Haruna Y.**

NAD(P)H oxidase and uncoupled nitric oxide synthase are major sources of glomerular superoxide in rats with experimental diabetic nephropathy.

Am J Physiol Renal Physiol. 2005; 288:F1144–F1152.

111) **Schnittler H.J.**

Structural and functional aspects of intercellular junctions in vascular endothelium.
Basic Res Cardiol. 1998; 93: 30-39.

112) **Serge Bernard**

Instruments et techniques de laboratoire – Diagnostics médico-chirurgicaux.

113) **Shulman G.I.**

Cellular mechanisms of insulin resistance.
J Clin Invest. 2000; 106:171–6.

114) **Siekman L.**

Determination of creatinine in human serum by isotope dilution-mass.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem.1985; 23: 137-144

115) **Sniderman A.D.**

Association of hyperapobetalipoproteinemia with endogenous hypertriglyceridemia and atherosclerosis.
Ann. Intern. Med.1982; 97:833–839.

116) **Spencer K.**

Analytical reviews in clinical biochemistry : the estimation of creatinine.
Ann. Clin. Biochem.1986; 23: 1-25.

117) **Starling E.**

On the absorption of fluid from the connective tissue spaces.
J Physiol (London).1896; 19: 312-136.

118) **Stehouwer C.D., Smulders Y.M.**

Microalbuminuria and risk for cardiovascular disease: Analysis of potential mechanisms.
J Am Soc Nephrol. 2006 ; 17: 2106–2111.

119) **Suranyi M.G., Guasch A., Hall B.M.**

Elevated levels of tumor necrosis factor-alpha in the nephrotic syndrome in humans.
Am J Kidney Dis. 1993; 21:251-259.

120) **Tanganelli E., Prencipe L., Bassi D., Cambiaghi S., Muradore**

Enzymic assay of creatinine in serum and urine with creatinine iminohydrolase and glutamate dehydrogenase.

Clin. Chem. 1982; 28: 1461-1464.

121) **Tanuj C., Deepika S., Archana S.**

Role of the renin angiotensin system in diabetic nephropathy.

World J Diabetes. 2010; 1(5): 141-145.

122) **Temple R.C., Clark P.M.S., Nagi D.K., Schneider A.E., Yudkin J.S., Hales C.N.**

Radioimmunoassay may overestimate insulin in non-insulin-dependent diabetics.

Clin Endocrinol (Oxf). 1990; 32:689–93.

123) **Thomas MC, Rosengård-Bärlund M, Mills V, Rönneck M, Thomas S, Forsblom C, Cooper ME, Taskinen MR, Viberti G, Groop PH**

Serum lipids and the progression of nephropathy in type 1 diabetes.

Diabetes Metab. 2006; 29 (2) :317-22.

124) **Thomson S.C., Blantz R.C.**

Biophysical basis of glomerular filtration.

In: The Kidney: Physiology and Pathophysiology, 4th Ed., Edited by Alpern R, Hebert S, Elsevier/Academic Press. 2007; pp 565–588

125) **Tolonen N, Forsblom C, Thorn L, Wadén J, Rosengård-Bärlund M, Saraheimo M, Feodoroff M, Mäkinen VP, Gordin D, Taskinen MR, Groop PH; FinnDiane Study Group.**

Lipid abnormalities predict progression of renal disease in patients with type 1 diabetes.

Diabetologia. 2009; 52(12):2522-30.

126) **Tooke J.E.**

Microvascular function in human diabetes.

A physiological perspective diabetes. 1995; 44: 721-726.

- 127) **Toshiharu Ninomiya, Vlado Perkovic, Bastiaan E. de Galan, Sophia Zoungas, Avinesh Pillai, Meg Jardine, Anushka Patel, Alan Cass, Bruce Neal, Neil Poulter, Carl-Erik Mogensen, Mark Cooper, Michel Marre, Bryan Williams, Pavel Hamet, Giuseppe Mancina, Mark Woodward, Stephen MacMahon, and John Chalmers**

Albuminuria and Kidney Function Independently Predict Cardiovascular and Renal Outcomes in Diabetes on behalf of the ADVANCE

J Am Soc Nephrol. 2009; 20(8): 1813–1821.

- 128) **Tsalamandris C., Allen T.J., Gilbert R.E., Sinha A., Panagiotopoulos S., Cooper M.E., Jerums G.**

Progressive decline in renal function in diabetic patients with and without albuminuria. Diabetes. 1994; 43: 649–655

- 129) **Tsinalis D, Binet I.**

Appréciation de la fonction rénale : créatinine, urée et filtration glomérulaire.

Forum Med Suisse. 2006; 6:414-9.

- 130) **UK Prospective Diabetes Study Group. UK Prospective Diabetes Study16.**

Overview of 6 years therapy of type II diabetes: a progressive disease.

Diabetes. 1995; 44:1249–58.

- 131) **Usui H, Shikata K., Matsuda M., Okada S., Ogawa D., Yamashita T.**

HMG-CoA reductase inhibitor ameliorates diabetic nephropathy by its pleiotropic effects in rats.

Nephrol Dial Transplant. 2003; 18: 265-272.

- 132) **Vervoort G, Willems HL, Wetzels JF.**

Assessment of glomerular filtration rate in healthy subjects and normoalbuminuric diabetic patients: validity of a new (MDRD) prediction equation.

Nephrol Dial Transplant. 2002; 17(11): 1909-13.

133) **Viberti G.C., Hill R.D., Jarret R.J.**

Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropathy in insulin dependent diabetes mellitus.

Lancet. 1982; 2 : 1430-32.

134) **Vink H., Duling B.R.**

Identification of distinct luminal domains for macromolecules, erythrocytes, and leukocytes within mammalian capillaries.

Circ Res.1996; 79 : 581–589.

135) **Virallya M., J.-F. Blickléb, J. Girardc, S. Halimid, D. Simone,f,g, P.-J. Guillausseaua.**

Type 2 diabetes mellitus: epidemiology, pathophysiology, unmet needs and therapeutical perspectives.

Diabetes & Metabolism. 2007; 33: 231–244.

136) **Vlassara H.**

Recent progress in advanced glycation end products and diabetic complications.

Diabetes. 1997; 46: S19-25.

137) **Wanner C., Quaschnig T.**

Dyslipidemia and renal disease: pathogenesis and clinical consequences.

. Kidney Int Suppl 2001; 10 (2) : 195-201.

138) **Wautier J.L., Guillausseau P.J.**

Diabetes, advanced glycation end-products and vascular.

Vascular Med. 1998; 3: 131-7

139) **Wautier JL, Guillausseau PJ.**

Advanced glycation end-products and their receptors and diabetic angiopathy. Diabetes Metab. 2001; 27: 535-4

140) **Williamson J.R., Chank K., Frangos M., Hasan K.S., Ido Y., Kawamura F., Nyengaard J.R., van den Enden M., Kilo C., Tilton R.G.**

Hyperglycemic pseudohypoxia and diabetic complications.

Diabetes. 1993; 42: 801- 813.

141) **Wolfrum S., Jensen K.S., Liao J.K.**

Endothelium-dependent effects of statins.

Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2003; 23: 729-736.

142) **Weyer C., Bogardus C., Mott D.M., Pratley R.E.**

The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus.

J Clin Invest. 1999; 104:787–97.

143) **Zeggini E., McCarthy M.I.**

TCFL2: the biggest story in diabetes genetics since HLA?

Diabetologia. 2007; 50:1–4.

144) **Zhiri A., Houot O., Wellman-Bednawska M., Siest G.**

Simultaneous determination of uric acid and creatinine in plasma by reversed- phase liquid chromatography.

Clin. Chem. 1985; 31: 109-112.

145) **Zierath JR, Houseknecht KL, Kahn BB.**

Glucose transporters and diabetes.

Semin Cell Dev Biol. 1996; 7:295–307.

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

PERMIS D'IMPRIMER

Vu :

**Le Président du jury
de.....**

Vu :

Le Doyen

Vu et Permis d'imprimer

Pour le Recteur, Président de l'Assemblée d'Université Cheikh Anta Diop de Dakar
et par délégation

Le Doyen