

INSULINE

DEFINITION

L'insuline est une protéine de 51 acides aminés (5808 Da) composée d'une chaîne A (21 acides aminés) et d'une chaîne B (30 acides aminés), reliées par deux ponts disulfure.

Elle dérive d'une molécule précurseur, synthétisée dans les cellules bêta des îlots de Langerhans, la pré-pro-insuline, elle-même très rapidement convertie en pro-insuline (86 acides aminés). Cette dernière est transportée dans l'appareil de Golgi où elle est clivée enzymatiquement pour générer l'insuline et le peptide C (peptide de connexion ou *Connective peptide*) en quantités équimolaires. L'appareil de Golgi émet des vésicules qui deviennent des granules de sécrétion où se trouvent à la fois de la pro-insuline en faibles quantités, de l'insuline et du peptide C.

La sécrétion de l'insuline dans la veine porte s'accompagne de la libération d'une quantité équimolaire de peptide C ainsi que de faibles quantités de pro-insuline et d'une autre hormone appelée amyline (ou *Islet amyloid polypeptide*, IAPP).

L'insuline est métabolisée au niveau du foie alors que le peptide C et la pro-insuline le sont essentiellement dans le rein. C'est pourquoi la demi-vie de l'insuline est courte (environ 4 minutes) alors que celle du peptide C est nettement plus longue (20 à 30 minutes). Du fait de cette différence dans le métabolisme, les concentrations de l'insuline et du peptide C ne sont pas égales dans les veines périphériques.

L'insuline est la seule hormone hypoglycémisante ; elle manifeste son activité principalement dans le foie, les muscles et le tissu adipeux. Elle augmente la capture du glucose dans les tissus sensibles à l'insuline, stimule la synthèse de glycogène hépatique et musculaire, inhibe la glycogénolyse et la néoglucogenèse. Elle favorise également le stockage des triglycérides dans les adipocytes et inhibe la lipolyse.

INDICATIONS DU DOSAGE

La mesure de l'insuline trouve son intérêt dans l'étude des hypoglycémies :

- hypoglycémies fonctionnelles dans lesquelles il faut rechercher une hypoglycémie réactionnelle à la 4^e ou à la 5^e heure d'une épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) ;
- hypoglycémies organiques ou hyperinsulinismes (ex : insulinome).

En revanche, ce dosage n'a pas d'intérêt dans le

diagnostic du diabète qui repose sur la seule hyperglycémie chronique. Cependant, le dosage de l'insuline est indiqué pour mettre en évidence une insulino-résistance ou une anomalie des produits de sécrétion des cellules β du pancréas.

Enfin, ce dosage est aussi préconisé dans les études expérimentales de la physiopathologie du diabète et de l'intolérance au glucose.

RECOMMANDATIONS PREANALYTIQUES

■ PRELEVEMENT - CONSERVATION - TRANSPORT

Se reporter au référentiel des examens de biologie médicale Biomnis en ligne pour les conditions de prélèvement et conservation-transport.

Quel que soit le type de prélèvement, il ne faut pas qu'il soit hémolysé car les érythrocytes contiennent une enzyme dégradant spécifiquement l'insuline. En effet, même une légère hémolyse entraîne une perte importante d'insuline pouvant atteindre le tiers après une heure à 20 °C.

Le prélèvement est effectué généralement le matin à jeun à moins d'une consigne particulière demandée par le médecin. La glycémie doit toujours être mesurée simultanément pour l'interprétation ultérieure du résultat

■ RENSEIGNEMENTS NECESSAIRES

Il faut préciser s'il s'agit ou non d'une mesure de la glycémie à jeun ; il en est de même de l'heure du prélèvement et du contexte clinique du patient (grossesse, diabète, obésité, syndrome de Cushing, etc.) ainsi que des traitements administrés.

La prise d'insuline ou d'antidiabétiques oraux doit être signalée.

Il est également nécessaire de préciser s'il s'agit d'une épreuve dynamique : épreuve de jeûne, hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) ou par voie veineuse (HGPI), test au glucagon.

METHODES DE DOSAGE

L'insuline est, en pratique, toujours dosée par une technique d'immunoanalyse. Les premières techniques proposées étaient radio-immunologiques utilisant des antisérums polyclonaux qui reconnaissaient également la pro-insuline. Ceci entraînait une surestimation des résultats dans les cas où les pro-insulines étaient élevées. Par la suite, le développement des anticorps monoclonaux a permis la mise au point de techniques sandwich qui peuvent être immunoradiométriques (IRMA), immuno-enzymatiques (IEMA) ou immuno-fluorométriques (IFMA), ces techniques étant effectuées sur automates.

Il est important de remarquer que, quelle que soit la technique utilisée, la présence d'anticorps anti-insuline entraîne des résultats erronés. En effet, en fonction de la

technique, les résultats d'insuline seront soit sous- soit surestimés. Ces anticorps sont d'origine auto-immune : ils peuvent apparaître après traitement par l'insuline, même humaine. Ils ont, en effet, été observés chez environ 30 % des sujets présentant un diabète de type I et ceci avant toute administration d'insuline. Il est donc nécessaire d'éliminer ces anticorps et de doser l'insuline libre. Ceci est effectué après précipitation des anticorps par le polyéthylène-glycol (PEG) et centrifugation. L'insuline mesurée dans le surnageant correspond ainsi à la fraction libre, non liée aux anticorps. Il est à noter que la précipitation des immunoglobulines par le PEG doit être effectuée rapidement après le prélèvement pour perturber le moins possible l'équilibre entre l'insuline et les anticorps.

EXPLORATION DYNAMIQUE

La mesure basale de l'insuline est, le plus souvent, insuffisante pour évaluer l'insulinosécrétion ; aussi des épreuves de stimulation sont-elles nécessaires.

■ TESTS DE STIMULATION

■ **Repas d'épreuve** : c'est un puissant stimulant mais il manque de standardisation.

■ **HGPO** : durant les trois jours précédant l'épreuve, le sujet aura une activité physique normale, un régime alimentaire non restrictif et évitera notamment les œstrogénostatifs, les salicylés, les diurétiques et les corticoïdes. Après une nuit de jeûne et un prélèvement sanguin au temps 0, le patient ingère 75 g de glucose dans 200 à 300 ml d'eau. Les échantillons sanguins sont ensuite prélevés toutes les 30 minutes pendant 3 heures ou plus tard en cas d'étude des hypoglycémies.

Ce test a l'inconvénient de ne pas être physiologique et de présenter des résultats avec de grandes variabilités aussi bien intra- qu'inter-individuelles.

Par rapport aux sujets de poids normal avec une tolérance normale au glucose, ce test met en évidence :

- chez les obèses, un hyperinsulinisme dans la première phase de la réponse ;
- chez les intolérants au glucose, un hyperinsulinisme et un retard de réponse ;
- chez les diabétiques de type 2, un retard de réponse mais avec des insulinémies comparables à celles des sujets normaux.

■ **L'hyperglycémie provoquée par voie intraveineuse (HGPIV)** : cette épreuve permet d'évaluer le pic précoce d'insulino-sécrétion dans le cadre du dépistage précoce du diabète insulino-dépendant chez les apparentés. Après injection intra-veineuse de 0,5 g/kg de glucose, les échantillons sanguins sont recueillis à 1, 3, 5, 10, 20, 30, 45 et 60 minutes. Le pic précoce de l'insuline (PPI), obtenu en additionnant les insulinémies à 1 et 3 minutes, doit être égal ou supérieur à 45-50 mUI/l. La diminution de ce pic est associée à un risque accru de

développer un diabète de type 1.

■ **Test au glucagon** : après un prélèvement de base au temps 0, 1 mg de glucagon est injecté en IV, puis un deuxième prélèvement est effectué après 4 ou 6 minutes. Ce test présente l'avantage d'être rapide, de stimuler directement l'insuline et de minimiser le risque d'hypoglycémie en cas d'insulinome du fait de l'effet hyperglycémiant du glucagon.

■ TESTS DE FREINAGE

Les tests de freinage tels que l'épreuve de jeûne (test de Conn) ou l'administration d'insuline, peuvent être pratiqués (l'hypoglycémie chez le sujet normal provoque une baisse de la concentration d'insuline et du C-peptide sérique). Compte tenu des risques, ces tests exigent une présence médicale (voir le paragraphe consacré aux insulinomes).

MESURE DE L'INSULINORÉSISTANCE

La sensibilité à l'insuline peut être modifiée dans différentes circonstances physiologiques, pathologiques ou pharmacologiques. Le plus souvent, elle est réduite. Cette insulino-résistance entraîne une augmentation compensatoire de l'insuline pour maintenir l'homéostasie du glucose.

Pour mesurer cette insulino-résistance, la technique de référence est le clamp euglycémique hyperinsulinique. Elle consiste à perfuser de l'insuline à débit continu en association avec une perfusion de glucose à débit variable de manière à maintenir une glycémie constante. Elle est de pratique lourde, aussi différents index ont-ils été proposés pour cette évaluation. Les deux index les plus utilisés sont le HOMA-IR (*Homeostasis Model Assessment Insulin Resistance*) et le QUICKI (*Quantitative Insulin Sensitivity Check Index*) qui tiennent compte de l'insulinémie et de la glycémie à jeun.

Le HOMA se calcule selon la formule :

$$\text{Insuline (mIU/l)} \times \text{Glucose (mmol/l)} / 22,5$$

et le QUICKI selon la formule :

$$1 / [\log (\text{Insuline, mUI/l}) + \log (\text{Glucose, mg/dl})].$$

Si dans l'ensemble, il existe une bonne corrélation entre ces index et la sensibilité à l'insuline mesurée par le clamp euglycémique, leur application à des sous-groupes de patients et au niveau individuel pose des problèmes. C'est ainsi qu'une variabilité importante de la corrélation est observée selon le sous-groupe considéré : témoins, obèses, diabétiques de type 2, patientes présentant un syndrome d'ovaires polykystiques. Cette hétérogénéité peut être en rapport avec la différence de la physiopathologie de l'insulino-résistance selon la population considérée.

UNITES

La concentration d'insuline est exprimée le plus souvent en mUI/ml ou en mUI/l.

Selon les techniques, l'étalonnage est réalisé avec l'étalon international IRP 83/500 de l'OMS pour lequel 1 UI = 6 nmol = 38,4 µg, ou avec l'étalon 1st IRP 66/304 (OMS) ; dans ce cas, la conversion des µU/ml en pmol/l est effectuée en multipliant les mU/ml par 6,945.

VALEURS DE REFERENCE

Les valeurs obtenues dépendent des réactifs utilisés et de l'aptitude des anticorps à ne reconnaître que l'insuline et non les molécules apparentées (peptide C et pro-insuline).

A titre indicatif, sujets sains (normoglycidiens et non obèses) à jeun : 2-20 mU/l.

VARIATIONS PHYSIOLOGIQUES

Dans le sang, l'insulinémie varie selon des rythmes complexes, l'un rapide de faible amplitude (1 à 3 µU/ml) et d'une périodicité de 10 - 15 minutes, et l'autre d'une amplitude plus élevée et d'une période d'une à trois heures.

Chez les enfants de moins de 6 ans, l'insulinémie est plus basse (de 50 à 60 %) que celle des adultes ; elle augmente ensuite régulièrement jusqu'à la fin de la puberté.

Au cours du premier trimestre de la grossesse, l'action de l'insuline est stimulée par les œstrogènes et la progestérone et les concentrations de glucose ont tendance à diminuer. En revanche, au cours du 3^e trimestre, la tolérance au glucose est légèrement diminuée et les concentrations d'insuline augmentent, ce qui suggère une insulino-résistance. Cette résistance est en partie en rapport avec l'hormone lactogène placentaire (hPL), un antagoniste de l'insuline dont la sécrétion augmente dans la dernière partie de la grossesse.

VARIATIONS PATHOLOGIQUES

L'insulinémie doit être interprétée en fonction de la glycémie. A jeun, elle est considérée comme un reflet de l'insulino-résistance alors qu'après stimulation, elle reflète la capacité sécrétoire du pancréas.

■ HYPOGLYCEMIES

■ Hyperinsulinisme endogène

Insulinome

C'est la cause la plus fréquente de l'hypoglycémie résultant d'un hyperinsulinisme endogène. Il est généralement unique mais des insulinomes multiples ou des microadénomatoses ont été rapportés. C'est une

pathologie rare affectant également les deux sexes et pouvant survenir à tout âge. Dans la grande majorité des cas, la tumeur est intra-pancréatique mais elle peut siéger en dehors du pancréas. Dans une faible proportion des cas (5 à 10 %), ces tumeurs sont malignes.

Les insulinomes peuvent entrer dans le cadre de l'adénomatose polyendocrinienne de type I ou syndrome de Wermer. Cette affection familiale, de transmission autosomique dominante, est caractérisée par une prolifération adénomateuse multiple dans les glandes endocrines : parathyroïdes, hypophyse, pancréas. Le diagnostic biologique repose sur l'autonomie de la sécrétion d'insuline objectivée par la persistance d'une insulinémie normale ou augmentée en présence d'une hypoglycémie.

Le test de freinage insulinaire n'entraîne pas une diminution suffisante du peptide C (normalement moins de 50 %). L'épreuve de jeûne permet aussi de confirmer le diagnostic par l'augmentation du rapport insulinémie/glycémie pendant le jeûne alors qu'il doit normalement diminuer.

En plus de l'insuline, quelques insulinomes malins sécrètent d'autres hormones : ACTH, hCG, somatostatine, sérotonine, glucagon, VIP.

Hypoglycémies secondaires à des tumeurs extrapancréatiques

Les plus fréquentes sont des tumeurs mésoenchymateuses (fibrosarcome, neurofibrome, lymphosarcome) de localisation rétro-péritonéale le plus souvent. Les autres tumeurs sont des hépatocarcinomes et des corticosurrénales. Ces tumeurs associent, aux accès d'hypoglycémie, des concentrations basses aussi bien d'insuline que de peptide C et de proinsuline. Le facteur causal a été identifié à l'IGFII sécrétée par la tumeur sous une forme de haut poids moléculaire (big IGFII).

Hypoglycémie par auto-anticorps anti-insuline (Maladie de Hirata)

Le syndrome d'autoimmunité anti-insuline, surtout fréquent au Japon, génère des anticorps anti-insuline à titre élevé. La physiopathologie des accès hypoglycémiques pourrait faire intervenir une liaison aux auto-anticorps de l'insuline sécrétée après un repas. Quand l'insuline libre diminue, un relargage passif de l'insuline liée entraîne une hyperinsulinémie. Cette cinétique pourrait expliquer d'une part, l'intolérance au glucose lors de l'HGPO et, d'autre part, la survenue tardive de l'hypoglycémie post-prandiale que présentent certains patients. Le diagnostic repose sur l'association des hypoglycémies à une hyperinsulinémie et des concentrations élevées d'anticorps anti-insuline.

■ Hypoglycémies factices

Elles miment cliniquement et biologiquement une hypoglycémie secondaire à un insulinome. Cependant, les accidents hypoglycémiques surviennent à jeun mais

aussi en période post-prandiale immédiate, ce qui doit alerter. L'attention doit aussi être attirée par les antécédents psychiatriques, retrouvés chez environ un tiers des patients.

L'hypoglycémie factice peut être secondaire à l'administration d'insuline ou de médicaments insulino-sécrétagogues.

Le diagnostic d'hypoglycémie par administration d'insuline, repose sur la constatation, en présence d'une glycémie basse, inférieure à 0,45 g/l (2,5 mmol/l), de concentrations inappropriées d'insuline, soit élevées, soit normales, mais en tout cas non abaissées, associées à des concentrations indétectables de peptide C et de pro-insuline. Le diagnostic est plus difficile si le patient est vu en dehors des périodes d'hypoglycémie, mais les tests de freinage de l'insuline sont normaux.

L'hypoglycémie par prise d'un insulino-sécrétagogue est difficile à distinguer biologiquement d'un insulinome. En effet, lors des épisodes hypoglycémiques, l'insulinémie est élevée d'une manière inappropriée et il en est de même de celles du peptide C et de la pro-insuline. Dans ce cas, le diagnostic repose sur la mise en évidence de la sulfonylurée hypoglycémiant dans le plasma ou l'urine du patient. Les techniques d'électrophorèse capillaire avec HPLC permettent la mesure des différents sulfamides hypoglycémiantes.

■ DEPISTAGE DU DIABÈTE

Dans les familles à risque (présence d'un diabétique de type 1 chez un parent ou dans la fratrie), l'HGPIV permet d'évaluer le contenu pancréatique en insuline par la détermination du pic précoce de l'insuline (PPI). Une diminution du PPI chez un sujet, signifie un risque augmenté de développer un diabète de type 1. Cependant, ce résultat doit être associé aux marqueurs immunologiques et génétiques pour permettre de déterminer un risque global de développer la maladie. Il est à remarquer par ailleurs qu'une diminution du PPI n'est pas spécifique du diabète de type 1. Elle est, en effet, aussi présente dans le diabète de type 2 et indique un risque élevé d'évoluer vers le diabète, chez les intolérants au glucose.

■ SYNDROMES DE RÉSISTANCE À L'INSULINE

La résistance à l'insuline fait surtout partie du tableau physiopathologique du diabète de type 2, mais elle peut jouer aussi un rôle critique dans le diabète de type 1, ainsi que de nombreuses autres pathologies : obésité androïde, cirrhose, insuffisance rénale, HTA essentielle.

■ Insulinorésistance majeure

Ce sont des maladies rares résultant d'une mutation du gène du récepteur de l'insuline et comprenant : l'insulinorésistance de type A, le leprechaunisme, le diabète lipoatrophique et le syndrome de Rabson-

Mendenhall. L'hyperandrogénie est présente dans toutes ces maladies mais l'*acanthosis nigricans* n'est observée que dans le diabète lipoatrophique et l'insulinorésistance de type A. D'un point de vue biologique, elles se caractérisent par un hyperinsulinisme.

■ Syndrome métabolique

Le syndrome métabolique, encore appelé syndrome X ou encore syndrome d'insulinorésistance, peut être défini comme la présence d'une intolérance au glucose ou d'un diabète du type 2 et ou d'une résistance à l'insuline associée à au moins deux des anomalies suivantes : hypertension artérielle, hypertriglycéridémie, obésité androïde, cholestérol HDL inférieur à 0,9 mmol/l, présence d'une microalbuminurie. D'autres anomalies sont fréquemment observées : hyperuricémie, anomalies de la coagulation, anomalies de la fibrinolyse. L'existence de cette entité est néanmoins remise en question.

POUR EN SAVOIR PLUS

- Chevenne D., *Insuline*, EMB (Elsevier), 2003.
- Bastard J.P., Vigouroux C., Capeau J., *Syndrome métabolique ou syndrome d'insulinorésistance*, EMC (Elsevier, Paris) Endocrinologie-Nutrition, 10-363-A10,2001, 7p.
- Chevenne D., Trivin F., Porquet D., *Insulin assays and reference values*, Diabetes Metab (Paris) 1999, 25:459-476.
- Guillausseau P.J., Virally-Monod M., Tielmans D., Timsit J., *Hypoglycémie de l'adulte*, EMC (Elsevier, Paris) Endocrinologie-Nutrition, 10-364-E-10, 1998, 12p.
- Porquet D., Chevenne D., *Stratégies d'exploration fonctionnelle et de suivi thérapeutique*, Introduction au chapitre diabétologie du CD-ROM produit par le CNBH, Immuno-analyse & Biologie spécialisée, 2002, 17:369-374.
- Rabasa-Lhoret R., Laville M., *Mesurer l'insulinosensibilité en pratique clinique*, Diabetes Metab (Paris) 2001, 27:201-208.
- Sapin R., Demangeat C., *Aspects analytiques des dosages d'insuline, peptide-C, proinsulines et glucagon*, Médecine Nucléaire – Imagerie fonctionnelle et métabolique. 2001,25:73-84.

biomnis – biomnis

biomnis – biomnis