

REVUES GÉNÉRALES

Diabète

Les pièges de l'HbA1c

RÉSUMÉ : Les dernières recommandations de l'ADA font état de l'utilisation de l'HbA1c comme moyen diagnostique du diabète ou d'altération glycémique. Le dosage de l'hémoglobine glyquée A1c est cependant sujet à de nombreuses erreurs. La variabilité interindividuelle du processus de glycation, la fréquence des situations cliniques (physiologiques ou pathologiques) qui faussent sa mesure ainsi que la possibilité d'interférence dans les méthodes de dosage pourraient limiter cette utilisation diagnostique à des populations caucasiennes sans pathologie associée. La connaissance de ces limites d'interprétation permet également de relativiser la mise en place des correspondances entre HbA1c et moyenne glycémique dont l'utilisation tend à se généraliser. Garder son sens critique et être averti des pièges éventuels de l'hémoglobine glyquée garantit au praticien l'acuité de son sens clinique et sa proximité vis-à-vis des besoins du patient.



→ **A. WOJTUSCISZYN**

Département d'Endocrinologie,
Diabète et Nutrition,
Institut de Recherche en Biothérapie,
Laboratoire de Thérapie Cellulaire du
Diabète, CHRU, MONTPELLIER.

Depuis les études cliniques d'envergure telles que le DCCT chez le patient diabétique de type 1 et l'UKPDS chez le diabétique de type 2, la relation entre hémoglobine glyquée A1c (HbA1c), contrôle glycémique et complications du diabète est établie. L'hémoglobine glyquée est ainsi devenue un paramètre essentiel pour le suivi du patient diabétique. Sa mesure est maintenant utilisée pour révéler le niveau de contrôle glycémique du patient durant les 2-3 mois précédant le prélèvement et estimer le risque de développement de complications, en particulier micro-vasculaires, à plus long terme [1, 2].

Utiliser l'HbA1c pour diagnostiquer un diabète ?

Depuis 2009 et le consensus émis par un comité d'experts internationaux, l'HbA1c a été proposée comme nouveau critère diagnostique de diabète si $\geq 6,5 \%$ ou de dysglycémie à haut risque de survenue de diabète si comprise entre 6,0 et 6,5 % [3]. L'ADA en 2010 a entériné ce nouveau critère diagnostique de diabète, mais a étendu la notion d'altération glycémique à une fourchette

plus large d'HbA1c (entre 5,7 et 6,5 %) [4]. Les autres critères de diagnostic de diabète (glycémie à jeun $\geq 1,26$ g/L à deux reprises, et glycémie ≥ 2 g/L lors de l'HGPO) restent bien entendu valables.

Cette décision s'appuie principalement sur les résultats de l'étude DETECT actualisés très récemment [5]. Cette étude a montré que le risque de rétinopathie est quasiment nul lorsque l'HbA1c est en deçà de 6,0 %, s'élève très progressivement pour des valeurs comprises entre 6,0 et 6,5 % puis de façon très significative au-delà de 6,5 %.

La mesure de l'HbA1c présente quelques avantages sur le dosage de la glycémie à jeun : son dosage est maintenant bien standardisé, il est sujet à moins de variabilité que la glycémie à jeun chez un même individu (moins de 2 %), peut être réalisé à toute heure, est peu affecté par le stress ou d'autres facteurs extérieurs. Le dosage de la glycémie est plus variable (12 à 15 % de variabilité chez un même individu) en fonction de l'horaire de prélèvement (même à jeun, en raison principalement de la production hépatique de glucose) et en raison de la glycolyse dans le tube de prélèvement.

REVUES GÉNÉRALES

Diabète

Nous verrons cependant que plusieurs éléments peuvent mettre en échec la précision et la valeur du dosage de l'HbA1c.

[HbA1c et moyenne glycémique

Les nouvelles recommandations de l'ADA concernant l'utilisation de l'HbA1c s'accompagnent d'une proposition visant à utiliser la traduction de l'HbA1c en termes de moyenne glycémique (eAG: *estimated average glucose* ou ADAG: *A1c derived average glucose*). Le but est de permettre une meilleure compréhension du contrôle glycémique obtenu par les patients diabétiques eux-mêmes en utilisant un système mental qui leur est familier: la valeur de la glycémie. Ainsi, les patients pourront mieux comprendre le sens d'une valeur d'HbA1c à 9 % si on évoque qu'en moyenne la glycémie lors des trois derniers mois était de 2,12 g/L. Cependant, là aussi, la linéarité de la relation entre moyenne glycémique et HbA1c peut être mise à mal par divers facteurs.

[Qu'est-ce que l'HbA1c? Comment la mesurer?

L'hémoglobine est formée de 2 dimères de globines. Chez la plupart des individus adultes, l'hémoglobine (Hb) A ($\alpha 2$, $\beta 2$) représente plus de 97 % de la totalité de l'hémoglobine. L'hémoglobine A2 ($\alpha 2$, $\delta 2$) représente 1,5 à 3 % de l'hémoglobine totale. L'hémoglobine fœtale F ($\alpha 2$, $\gamma 2$) est habituellement inférieure à 2 %. Cette proportion peut augmenter en cas de grossesse, d'anémie, de drépanocytose, de bêta-thalassémie ou dans certains cas de leucémie. Les composants de l'HbA peuvent être identifiés par leurs charges distinctes: parmi eux la fraction A1c représente 60 à 80 % des hémoglobines qui sont glyquées. La glycation protéique est une réaction lente, non enzymatique, qui consiste en la fixation de résidus glucosés sur la

partie N-terminale des protéines, ici les chaînes β de l'hémoglobine A. La formation d'hémoglobine glyquée est donc directement fonction du taux de glucose circulant dans le sang au contact des érythrocytes dont la durée de vie moyenne est de 120 jours. L'hémoglobine glyquée est ainsi un excellent marqueur de la glycémie moyenne durant les 120 jours précédant sa détermination.

Il existe plus de 30 méthodes de dosage différentes pour la mesure de l'hémoglobine glyquée. La qualité du dosage de l'HbA1c doit être théoriquement contrôlée par le laboratoire tous les jours. Il détermine lui-même l'intervalle de référence pour la normalité de ce test qui, idéalement, doit être compris entre 4 et 6 % pour les méthodes usuelles de dosage. La mesure par la chromatographie en phase liquide à haute pression (HPLC) a été retenue par les promoteurs des études DCCT et UKPDS comme la méthode de référence. Les résultats exprimés en pourcentage que nous utilisons encore actuellement sont d'ailleurs issus de ces études et d'un consensus NGSP/DCCT (*National Glycohemoglobin Standardisation Program*). En pratique, le dosage par HPLC reste actuellement le plus fiable en France même si les méthodes d'immunochimie, plus simples d'utilisation, sont fréquemment utilisées, en particulier par les laboratoires indépendants. Il reste cependant de nombreuses sources d'erreurs.

La méthode de référence pour le dosage de l'HbA1c récemment adoptée est celle de l'IFCC (*International Federation of Clinical Chemistry*). Elle repose sur un dosage en spectrométrie de masse, seulement disponible dans une quinzaine de laboratoires dans le monde et très chère. C'est une sorte d'"étalon standard" qui ne pourra pas être appliqué en pratique courante, mais qui permet de calibrer les dosages effectués par les différentes méthodes appliquées usuellement. L'expression

des résultats exprimés en mmol/L ne nous est pas familière mais les résultats habituellement exprimés en pourcentage sont maintenant convertis dans cette unité de référence.

[Les différents paramètres qui faussent le dosage de l'HbA1c

1. les facteurs altérant la glycation de l'hémoglobine

La mesure de l'hémoglobine glyquée n'est cependant pas exactement le reflet de la moyenne glycémique des deux ou trois derniers mois: les taux plasmatiques de glucose les plus récents influencent plus fortement le taux d'HbA1c. Ainsi, les glycémies des 30 derniers jours avant son dosage sont responsables de 50 % de sa valeur, alors que les taux de glucose datant des 90 à 120 jours précédents ne sont responsables que de 10 % de sa valeur. Cela peut expliquer les variations des taux d'HbA1c parfois observées lors de l'amélioration ou de la détérioration rapide de l'équilibre glycémique d'un patient [6].

De plus, la vitesse même du processus de glycation est de plus propre à chaque individu: il existe ainsi des "glycateurs rapides" et des "glycateurs lents" qui, même s'ils ont la même glycémie moyenne, présenteront des taux différents d'HbA1c. Cette différence d'intensité de glycation peut s'observer en comparant les taux d'hémoglobine glyquée (reflet de la glycation intracellulaire) et la glycation des protéines extracellulaires, appelées fructosamine, dont plus de 80 % sont représentées par l'albumine. Ces deux entités sont en général étroitement liées: il existe cependant des situations où les valeurs d'HbA1c et de fructosamine diffèrent, révélant des processus de glycation distincts [7]. En fait, les études réalisées chez les jumeaux révèlent que 70 % des déterminants interindividuels des va-

leurs d'HbA1c sont d'origine génétique : parmi eux, la perméabilité de la membrane érythrocytaire au glucose et le pH ainsi que le niveau de 2,3-diphosphoglycérate au sein de l'érythrocyte dont le rôle est primordial dans le processus de glycation [8].

La glycation, initialement décrite comme un processus lent et irréversible, peut être plus labile. L'exposition de globules rouges à des concentrations très élevées de glucose pendant 6 à 12 heures peut en augmenter la valeur de façon transitoire mais très significative : c'est le concept d'hémoglobine glyquée labile, nouvelle source d'erreurs dans les dosages d'HbA1c. L'incubation des globules rouges en solution saline (pour "laver" cette fraction labile) est donc recommandée avant le dosage de l'HbA1c. Le processus de déglycation, encore peu décrit, peut également intervenir.

2. Les limites dues au turn over de l'hémoglobine

En dehors de toute situation pathologique, la durée de vie et l'âge moyen des globules rouges peuvent être des facteurs confondants dans la mesure de l'HbA1c. Les "jeunes" érythrocytes sont moins chargés en hémoglobine glyquée que les "vieux", car moins longuement exposés au glucose circulant. On admet que la durée de vie des globules rouges est d'environ 120 jours et que l'âge moyen des globules est de 50 jours environ. La durée de vie des érythrocytes oscille cependant chez les individus entre 38 et 60 jours, avec des durées d'exposition au glucose sanguin variables et des valeurs d'HbA1c pos-

siblement différentes pour une même glycémie moyenne (**tableau I**, [7])

L'ethnie est un facteur de variabilité important des valeurs d'HbA1c. Dans l'étude DPP chez les patients souffrant d'intolérance au glucose mais non diabétiques, l'HbA1c différait de façon significative entre Caucasiens (5,78 %) et Afro-Américains (6,18 %) [9]. Une étude récente a montré la possible surestimation des diagnostics de diabète chez 1,8 % de la population noire-américaine (contre 0,3 % de surestimation chez les "Blancs" non hispaniques) selon les critères récemment entérinés par l'ADA [10].

La grossesse est un autre exemple physiologique de perturbation du dosage de l'HbA1c : son niveau baisse lors du second trimestre pour réaugmenter lors du troisième trimestre. Ces variations sont dues à l'hémodilution, aux perturbations hormonales entraînant des fluctuations glycémiques plus rapides, et à une modification de la durée de vie des érythrocytes.

Les conditions pathologiques qui influencent la durée de vie des érythrocytes peuvent fausser les mesures d'hémoglobine glyquée : une anémie hémolytique, une hémorragie aiguë, par exemple, peuvent être la cause de dosages anormalement bas. L'anémie ferriprive aurait plutôt tendance à majorer les résultats des dosages d'HbA1c par un mécanisme non encore totalement élucidé. La présence de réticulocytes, nouveaux érythrocytes dont l'hémoglobine n'a pas encore été glyquée, après le traitement d'une anémie par fer, érythropoïétine ou vitamine B12, peut sous-estimer la valeur de l'HbA1c.

En revanche, les patients splénectomisés présentent des taux plus élevés d'HbA1c en raison de la durée de vie plus longue de leurs érythrocytes [11].

3. La présence d'hémoglobine anormale

Les hémoglobinopathies peuvent également être source d'erreurs de dosage. La présence d'une hémoglobine fœtale (HbF co-éluant avec l'HbA1bAHH) peut majorer le dosage de l'HbA1c tandis que les hémoglobines S (drépanocytose) et C (co-éluant avec l'HbA) vont sous-estimer sa valeur. Ces deux derniers variants sont plus fréquemment présents dans les populations d'origine africaine. Les populations noires sont donc plus sujettes à ce type d'anomalies et peuvent par ce biais présenter plus souvent des valeurs faussées d'HbA1c. Pour la méthode HPLC, la vérification manuelle des chromatogrammes permet de visualiser la présence d'une hémoglobine anormale, donc d'une probable interférence.

4. les autres conditions pathologiques qui peuvent influencer le dosage de l'HbA1c

Les vitamines C et E, qui protégeraient de la glycation protéique, pourraient aussi altérer la précision des mesures. Les modifications du pH sanguin peuvent également altérer ce processus. Des facteurs extrinsèques, comme une intoxication alcoolique ou opiacée, ou une prise chronique d'acide salicylique, peuvent également entraîner des variations des taux d'HbA1c en modifiant la charge de l'hémoglobine.

D'autres médicaments comme la dapson (utilisée comme anti-lépreux et immunomodulateur, et qui peut entraîner des hémolyses), certains anti-rétroviraux (ribavirine et interféron), ou même peut-être les glitazones – en raison de l'hémodilution qu'elles peuvent entraîner – peuvent engendrer une sous-estimation de la valeur d'HbA1c.

Sujet	HbA1c (%)	MG (g/L)	Âge moyen des GR (jours)	Risque apparent	HbA1c corrigée
1	7,8	1,50	56	Élevé	7,0
2	7,0	1,50	50	Augmenté	7,0
3	6,0	1,50	44	Normal	7,0

TABLEAU I : Variations des valeurs d'HbA1c pour une même moyenne glycémique en fonction de l'âge moyen des érythrocytes. D'après Cohen [7]. MG : moyenne glycémique, GR : globules rouges.

REVUES GÉNÉRALES

Diabète

Des interférences peuvent également être observées, en fonction de la méthode de dosage choisie, si le patient présente une hypertriglycéridémie ou d'une hyperbilirubinémie. La méthode par HPLC, est moins sujette à ce type d'influence.

D'autres situations pathologiques complexes, potentiellement associées au diabète, peuvent fausser la mesure de l'HbA1c. C'est le cas de l'insuffisance rénale qui peut par différents mécanismes – acidose, anémie par carence en EPO, modification de la durée de vie des érythrocytes ou présence d'hémoglobine carbamylée – altérer sa mesure. Le cas particulier de la présence d'hémoglobine carbamylée doit être souligné: il peut mettre en défaut la méthode HPLC si un examen méticuleux des tracés n'est pas effectué. Cette carbamylation ne semble pas proportionnelle à l'urémie des patients.

C'est également le cas du patient présentant une pathologie hépatique chronique, même sans cirrhose ou splénomégalie, chez qui les valeurs d'HbA1c seront basses et pour lesquelles l'examen du carnet d'auto-surveillance permet de rétablir la juste vision clinique du contrôle glycémique. Le mécanisme de cette sous-estimation reste encore obscur.

L'alcoolisme peut avoir plusieurs conséquences sur le dosage de l'HbA1c: une surestimation due à la suppression érythropoïétique ou à la formation d'acétaldéhyde, une sous-estimation en cas d'hypertriglycéridémie ou de pathologie hépatique associée [11].

Les limites de la relation "moyenne glycémique/HbA1c"

Bien entendu, toutes les limites du dosage de l'HbA1c évoquées ci-dessus sont également responsables d'anomalies de la corrélation "moyenne glycémique/HbA1c".

La traduction de valeur d'HbA1c en moyenne glycémique repose princi-

POINTS FORTS

- L'hémoglobine A1c représente la glycation d'un secteur intracellulaire bien particulier et potentiellement différent du volume total de distribution du glucose: celui des globules rouges.
- Tous les facteurs (génétiques, environnementaux ou pathologiques) influençant les processus de glycation, déglycation, la durée de vie des érythrocytes, la perméabilité membranaire du glucose [...] en modifient potentiellement la valeur.
- Les méthodes actuelles de dosage peuvent être mises en défaut par certaines situations cliniques.
- L'HbA1c ne peut être utilisée à visée diagnostique qu'en restant vigilant sur l'existence potentielle de tous ces facteurs.
- L'adoption d'un étalon international peu influencé par ces causes externes peut mieux être comprise à la lumière de ces considérations.
- Les situations qui surestiment le dosage de l'HbA1c:
 - hypertriglycéridémie,
 - insuffisance rénale/hyperurémie (Hb carbamylée),
 - déficit en fer, vitamine b12, folates,
 - splénectomie,
 - abus d'opiacés, d'alcool ou d'acide acétylsalicylique,
 - hyperbilirubinémie,
 - présence d'hémoglobine fœtale (Hbf),
 - ethnie (Africain/Africain-Américain).
- Les situations qui sous-estiment le dosage de l'HbA1c:
 - vitamines C et E,
 - maladie hépatique chronique,
 - hémodialyse,
 - hémolyse,
 - transfusion sanguine,
 - présence d'HbS et C,
 - splénomégalie,
 - médicaments: dapsone, antiviraux, interféron, fer, EPO...
 - grossesse.

palement sur des données du DCCT [6], puis sur celles de l'étude ADAG [12]. Dans la population homogène du DCCT (patients diabétiques de type 1 caucasiens), la corrélation entre moyenne glycémique et HbA1c était excellente ($r: 0,82$), avec tout de même un degré de variabilité important selon les individus: ainsi, pour une même valeur glycémique moyenne de 1,80 g/L, les valeurs d'HbA1c

pouvaient s'étaler entre 6 et 11 %. L'ADAG study group a inclus environ 500 sujets adultes non diabétiques et diabétiques de type 1 ou 2, dont 15 % étaient d'origine africaine. Les corrélations moyennes glycémiques/HbA1c ont été construites grâce aux recueils d'auto-surveillance glycémiques et par la pose de dispositifs de mesure continue du glucose. Le *design* de cette étude, donnant la référence actuelle du

A1c (%)	g/L	mmol/L
5	0,97 [0,76-1,20]	5,4 [4,2-6,7]
6	1,26 [1,00-1,52]	7,0 [5,0-8,5]
7	1,54 [1,23-1,85]	8,6 [6,8-10,3]
8	1,83 [1,47-2,17]	10,2 [8,1-12,1]
9	2,12 [1,70-2,49]	11,8 [9,4-13,9]
10	2,40 [1,93-2,82]	13,4 [10,7-15,7]
11	2,69 [2,17-3,14]	14,9 [12,0-17,5]
12	2,98 [2,40-3,47]	16,5 [13,3-19,3]

TABLEAU II : Moyennes glycémiques estimées à partir des valeurs d'HbA1c. D'après Nathan [12].

rapport moyenne glycémique/HbA1c (**tableau II**), a pourtant demandé l'exclusion de près de 25 % des patients en raison de la présence d'une anémie, d'une grossesse, d'une hémoglobinopathie, de traitement interférant avec le dosage de l'HbA1c ou encore en raison d'une variabilité glycémique trop importante. Malgré ces restrictions, 10 % d'entre eux ne respectent pas ces critères de corrélation, probablement en raison de leur capacité de glycation ou de pénétration du glucose au sein des érythrocytes. D'autre part, les intervalles de confiance donnés restent très larges, laissant une marge d'erreur d'interprétation importante (**tableau II**).

Cette étude montre par ailleurs que cette corrélation tend à différer en fonction de l'origine ethnique du patient : là encore, les patients d'origine africaine ont une moyenne glycémique plus basse que les Caucasiens pour une valeur d'HbA1c identique. L'âge des patients semble également intervenir : l'étude DirecNet, réalisée chez l'enfant, a donné d'autres correspondances entre HbA1c et glycémie moyenne que l'étude ADAG [13].

Enfin, dans les données DCCT, à HbA1c égale, une différence significative en termes de moyenne glycémique était observée entre le groupe traité intensivement et le groupe traité de façon conventionnelle suggérant l'intervention du contrôle glycémique et sa stabilité dans le processus de glycation [14].

Significativité clinique de l'HbA1c ou de la moyenne glycémique

Il reste à évoquer les limites de la qualification d'un contrôle glycémique par une valeur moyenne, qu'elle soit moyenne glycémique mesurée, calculée ou HbA1c. En effet, le degré de variabilité des glycémies apparaît comme un paramètre de contrôle glycémique à part entière [15]. La répétition des hypoglycémies va fausser directement la mesure de l'HbA1c, qui peut être dans les valeurs recommandées chez un patient dont les valeurs glycémiques oscillent entre 0,4 g/L et 3,0 g/L. Fonder l'ensemble du suivi diabétologique sur une valeur figée reflétant la moyenne glycémique des derniers mois peut faire oublier la pertinence d'une prise en charge globale du patient, avec bien entendu la prise en compte des risques encourus et de sa qualité de vie.

Bibliographie

1. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N Engl J Med*, 1993;329: 977-986.
2. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet*, 1998;352:837-853.

3. International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*, 2009;32: 1327-1334.
4. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 33 Suppl 1:S62-69.
5. COLAGIURI S, LEE CM, WONG TY *et al*. K. Glycemic thresholds for diabetes-specific retinopathy: implications for diagnostic criteria for diabetes. *Diabetes Care*, 2011; 34:145-150.
6. ROHLFING CL, WIEDMEYER HM, LITTLE RR *et al*. Defining the relationship between plasma glucose and HbA(1c): analysis of glucose profiles and HbA(1c) in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care*, 2002;25:275-278.
7. COHEN RM, SMITH EP. Frequency of HbA1c discordance in estimating blood glucose control. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2008;11: 512-517.
8. SNIEDER H, SAWTELL PA, ROSS L *et al*. HbA (1c) levels are genetically determined even in type 1 diabetes: evidence from healthy and diabetic twins. *Diabetes*, 2001;50:2858-2863.
9. HERMAN WH, MA Y, UWAIFO G *et al*. Differences in A1C by race and ethnicity among patients with impaired glucose tolerance in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes Care*, 2007;30:2453-2457.
10. OLSON DE, RHEE MK, HERRICK K *et al*. Screening for diabetes and pre-diabetes with proposed A1C-based diagnostic criteria. *Diabetes Care*, 2010;33:2184-2189.
11. GALLAGHER EJ, LE ROITH D, BLOOMGARDEN Z. Review of hemoglobin A (1c) in the management of diabetes. *J Diabetes*, 2009;1: 9-17.
12. NATHAN DM, KUENEN J, BORG R *et al*. Translating the A1C assay into estimated average glucose values. *Diabetes Care*, 2008;31:1473-1478.
13. WILSON DM, KOLLMAN. Relationship of A1C to glucose concentrations in children with type 1 diabetes: assessments by high-frequency glucose determinations by sensors. *Diabetes Care*, 2008;31:381-385.
14. KILPATRICK ES, RIGBY AS, ATKIN SL. Variability in the relationship between mean plasma glucose and HbA1c: implications for the assessment of glycemic control. *Clin Chem*, 2007;53:897-901.
15. KILPATRICK ES, RIGBY AS, GOODE K *et al*. Relating mean blood glucose and glucose variability to the risk of multiple episodes of hypoglycaemia in type 1 diabetes. *Diabetologia*, 2007;50:2553-2561.

L'auteur a déclaré ne pas avoir de conflits d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.