

# INTÉRÊT DU DOSAGE DES SULFAMIDÉS HYPOGLYCÉMIANTS : de la vérification de la compliance au diagnostic différentiel des hyperinsulinismes

R. DENOZ (1, 2), C. CHARLIER (1, 2)

**RÉSUMÉ :** Plus de cinquante ans après leur mise sur le marché, les sulfamidés hypoglycémiant font toujours partie du traitement de base du diabète non insulino-dépendant. A côté de leurs remarquables propriétés pharmacologiques, ces produits ont, à différentes reprises, été tenus responsables d'hypoglycémies sévères survenant de manière inexplicable chez des sujets non diabétiques. Ce type d'hypoglycémie, qualifiée de factice, est notamment fréquemment retrouvée dans le syndrome de Munchausen, trouble psychiatrique poussant le malade à mimer une pathologie. Cette hypoglycémie est associée à un hyperinsulinisme endogène simulant une pathologie endocrine très rare, l'insulinome. Nous souhaitons faire connaître aux Cliniciens l'intérêt de la recherche et du dosage sanguin des sulfamidés hypoglycémiant dans le cadre du diagnostic différentiel des hyperinsulinismes. La mise en évidence d'une hypoglycémie induite par ces médicaments constitue un élément intéressant pour orienter le diagnostic et éventuellement éviter une pancréatectomie en cas de forte suspicion d'insulinome. La méthode analytique développée au laboratoire s'appuie sur la chromatographie liquide ultra performante couplée à la spectrométrie de masse tandem (UPLC-MS-MS). Par cette technique, on peut mettre en évidence dans le sang une dizaine de sulfonylurées et le répaglinide. Elle constituera à l'avenir une méthode de choix face à toute suspicion de mésusage des sulfonylurées.

**MOTS-CLÉS :** Sulfamidés hypoglycémiant - LC-MS-MS - Insulinome - Syndrome de Munchausen

INTEREST OF SULFONYLUREAS ASSAY: FROM THERAPEUTIC  
MONITORING TO DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF HYPERINSULINISM

**SUMMARY :** More than fifty years after their marketing, sulfonylureas remain one of the most prescribed drugs for the treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus. However, these products are sometimes responsible of unexplained and severe hypoglycaemias observed in patient without diabetic pathology. These typical hypoglycemia, qualified as factitious, are one of the clinical expressions of the Munchausen syndrome, a psychiatric disorder characterized by the need for the subject to simulate a pathology. The hypoglycemia is associated with an endogenous hyperinsulinism, also observed in a rare endocrine pathology, the insulinoma. This article aims to show the interest of the determination of sulfonylureas in blood for the differential diagnostic of endogenous hyperinsulinisms. The confirmation of a factitious hypoglycemia is capital to avoid a partial or subtotal pancreatectomy, surgical treatment when an insulinoma is suspected. Ultra liquid chromatography coupled with the mass spectrometry tandem (UPLC-MS-MS) technique had been used. The technique allowed the identification and quantification of the most used sulfonylureas and repaglinide in blood, and will be a method of choice to confirm a non-appropriate consumption of sulfonylureas.

**KEYWORDS :** Hypoglycemic sulfonylureas - LC-MS-MS - Insulinoma - Munchausen syndrome

## LES SULFAMIDÉS HYPOGLYCÉMIANTS

C'est en 1942 que l'effet hypoglycémiant des sulfamidés a été reconnu de manière fortuite, lorsque plusieurs accidents hypoglycémiques sévères furent observés après administration d'un sulfamidé à propriété antibactérienne chez des patients atteints de fièvre typhoïde. Par la suite, A. Loubatières confirme le tropisme particulier de certains sulfamidés pour les cellules insulinosécrétrices des îlots de Langerhans, entraînant une libération accrue d'insuline endogène (1). Et c'est en 1956 que la commercialisation de la première sulfonylurée, le tolbutamide, comme agent antidiabétique, eut lieu. Ce médicament d'un type nouveau représentait la seule alternative aux injections d'insuline pour le traitement des patients diabétiques non insulino-dépendants. Aujourd'hui encore, malgré la commercialisation d'autres médicaments hypoglycémiant, les

sulfonylurées occupent toujours une place de choix dans la prise en charge des patients souffrant du diabète non insulino-dépendant.

Les sulfonylurées dites de première génération comprenaient, outre le tolbutamide, le carbutamide, le chlorpropamide, le tolazamide et l'acétohexamide. D'un point de vue chimique, ces médicaments hypoglycémiant étaient des arylsulfonylurées substituées sur le benzène et sur l'urée. Le premier sulfamidé hypoglycémiant de deuxième génération, à savoir le glibenclamide, fut commercialisé dix ans plus tard. Sa formule chimique est celle d'une arylsulfonylurée, porteuse de structures aliphatiques et de cycles hydrophobes à ses deux extrémités. De structure chimique ainsi modifiée, les sulfonylurées de deuxième génération possédaient une activité pharmacologique beaucoup plus puissante, puisque le glibenclamide est actif à des doses 100 fois plus faibles que les sulfonylurées de première génération. D'autres sulfamidés de deuxième génération allaient rapidement rejoindre l'arsenal thérapeutique disponible, parmi lesquels on peut citer le gliclazide, le glipizide et la gliquidone. Le glimépiridine, dernier sulfamidé

(1) Service de Toxicologie Clinique, Médico-légale, Environnementale et en Entreprise, CHU de Liège.

(2) Centre Interfacultaire de Recherche du Médicament, Département de Pharmacie, Université de Liège.

hypoglycémiant mis sur le marché, est parfois considéré comme le premier hypoglycémiant de troisième génération.

A l'heure actuelle, cinq sulfamidés hypoglycémiants sont commercialisés en Belgique, le glibenclamide, le gliclazide, le glipizide, la glimépiride et le glimépiride.

#### INTÉRÊT DU DOSAGE DES SULFAMIDÉS HYPOGLYCÉMIANTS

Les dosages des sulfonyles dans les prélèvements sanguins ne font pas partie des analyses couramment réalisées dans les laboratoires de toxicologie clinique, alors qu'ils peuvent être utiles pour le suivi thérapeutique pharmacologique des patients diabétiques et pour la recherche des causes d'hypoglycémies inexplicables.

- Le suivi thérapeutique pharmacologique de cette classe médicamenteuse est rarement utilisé. L'efficacité des traitements hypoglycémiants est en effet parfaitement évaluée par la mesure de la glycémie et mieux de l'hémoglobine glyquée, qui reflète la glycémie moyenne observée au cours des 6 dernières semaines. Chez le sujet non diabétique, le taux d'hémoglobine glyquée se situe entre 4 et 6 % de l'hémoglobine totale, un taux inférieur à 7% constitue l'objectif thérapeutique à atteindre chez le sujet diabétique (2). Outre l'intérêt du dosage sanguin des sulfonyles pour adapter la posologie du patient diabétique, l'évaluation du taux sanguin des sulfonyles est aussi un moyen indispensable pour vérifier la compliance du sujet au traitement lorsque certains doutes subsistent sur le respect du traitement.

- La recherche des sulfamidés dans le sang s'avère également utile pour identifier les causes d'une hypoglycémie inattendue. Elle peut être la conséquence d'une erreur d'administration du médicament. Elle peut aussi être due à une prise volontaire et abusive de médicament hypoglycémiant. Dans ce dernier cas, on observe une hypoglycémie générée volontairement, appelée factice, fréquemment observée dans le syndrome de Munchausen, pathologie psychiatrique caractérisée par le besoin de mimer une maladie (3, 4). Chez l'adulte, la symptomatologie et l'exploration du métabolisme glucidique sont dans ce cas fortement évocatrices d'une pathologie endocrine, l'insulinome (5). Ces patients seront régulièrement hospitalisés pour des symptômes qu'ils ont provoqués consciemment, à l'insu de leur entourage. Des cas d'hypoglycémies factices ont également été observés chez de jeunes enfants, mettant le plus souvent en cause leurs

proches. Ils portent alors le nom de syndrome de Munchausen par procuration (6).

Le dosage sanguin des sulfonyles présente donc plusieurs intérêts : vérifier la compliance du patient au traitement, diagnostiquer une intoxication fortuite, mettre en évidence un mésusage comme dans le syndrome de Munchausen pouvant conduire à un diagnostic erroné, permettre ou confirmer un diagnostic d'hyperinsulinisme.

#### L'HYPOGLYCÉMIE ASSOCIÉE À UN HYPERINSULINISME

L'hypoglycémie induite par un hyperinsulinisme résulte d'un déséquilibre entre le taux sanguin d'insuline et la glycémie. Dans les conditions physiologiques, le taux de glucose dans le sang joue un rôle central dans le contrôle de la sécrétion d'insuline (Fig. 1). La sécrétion de l'hormone se produit lorsque le glucose entre dans la cellule bêta-langerhansienne via son récepteur spécifique. Le glucose est alors phosphorylé par une glucokinase, pour conduire *in fine* via le cycle de Krebs et la chaîne respiratoire, à la synthèse de 38 molécules d'ATP par molécule de glucose. Lorsque la synthèse d'ATP dans la cellule est suffisamment importante, l'augmentation du rapport ATP/ADP provoque la fermeture du canal potassique de la cellule pancréatique. La fermeture de ce canal entraîne une dépolarisation de la membrane cellulaire conduisant à l'ouverture du canal calcique, avec entrée de calcium dans la cellule et exocytose d'insuline. On comprend ainsi les liens étroits existant entre la glycémie et l'insuline. La prise de sulfonyles provoque de la même manière une libération d'insuline par blocage direct du canal potassique de la cellule pancréatique.

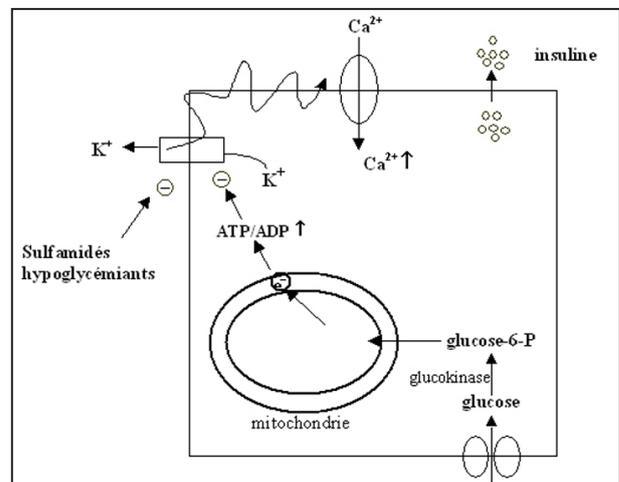


Figure 1. Effet insulinosécrétagogue des sulfamidés hypoglycémiants.

Les hypoglycémies associées à un hyperinsulinisme se rencontrent le plus souvent chez les sujets diabétiques, qu'ils reçoivent de l'insuline ou des sulfamidés hypoglycémiant. Elles s'expliquent par une prise trop importante de ces agents antidiabétiques compte tenu des taux sanguins de glucose. La fréquence des hypoglycémies est estimée, selon la «United Kingdom Prospective Diabetes Study» (UKPDS), à 11%, 17% et 37% pour les patients recevant respectivement chlorpropamide, glibenclamide et insuline (7). Si on ne considère que les épisodes d'hypoglycémies sévères, c'est-à-dire nécessitant une intervention d'un tiers, ces taux passent respectivement à 1,0%, 1,4% et 1,8%. Ainsi, au moins 1% des diabétiques sous sulfonylurées développe chaque année une hypoglycémie sévère. Ce risque hypoglycémique constitue toujours aujourd'hui le principal obstacle à l'augmentation des doses de sulfamidés chez les patients dont le traitement est jugé insuffisant.

En l'absence de prise de médicaments hypoglycémiant, les deux principales causes responsables d'hypoglycémies avec hyperinsulinisme sont l'insulinome et l'hyperinsulinisme congénital (8-9). L'insulinome comprend la quasi-totalité des hyperinsulinismes endogènes chez l'adulte et l'enfant de plus de 5 ans, alors que l'hyperinsulinisme congénital, caractérisé par une hyperplasie diffuse ou localisée des cellules  $\beta$  de Langerhans, se révèle chez le nourrisson ou au cours de la petite enfance.

#### L'INSULINOME

Il s'agit d'une tumeur  $\beta$ -langerhansienne, habituellement bénigne, générant une sécrétion d'insuline ectopique et non contrôlée, totalement indépendante de la glycémie du sujet (10). L'insulinome est rarement dû (moins de 10% des cas) à une néoplasie maligne endocrinienne multiple de type 1 (NEM-1). L'apparition de cette pathologie est rare puisqu'elle ne touche que quatre personnes par million d'individus, avec une faible prédominance chez la femme (9). L'insulinome constitue la principale cause d'hypoglycémie associée à un hyperinsulinisme chez l'adulte non diabétique et peut survenir à tout âge, avec cependant une prédominance entre 40 et 70 ans. L'hypoglycémie apparaît le plus souvent en période de jeûne, plus de 6 heures après le dernier repas, ou à la suite d'un léger effort physique. Les symptômes cliniques qui sont peu spécifiques, associent troubles visuels, confusion et dysphorie, et sont incapables à eux seuls d'établir le diagnostic. En raison de la très faible fréquence de la pathologie dans la population générale et du manque de spécificité des

signes cliniques, le diagnostic de l'insulinome est parfois méconnu et peut demander plusieurs années avant d'être affirmé (11). En outre, lorsqu'ils sont présents, les signes neurologiques peuvent faire penser à des troubles psychiatriques, masquant encore plus la pathologie endocrine. L'insulinome, dont le traitement repose principalement sur l'ablation chirurgicale, peut être actuellement détecté et localisé dans plus de 95% des cas par les techniques d'imagerie médicale (12).

#### L'HYPERINSULINISME CONGÉNITAL

L'hyperinsulinisme congénital apparaît le plus souvent dès les premiers jours de vie, parfois au cours des premières années de l'enfance. De fréquence estimée à 1 pour 30.000 à 1 pour 50.000, il est généralement responsable d'hypoglycémies sévères nécessitant une prise en charge rapide pour prévenir le risque de séquelles neurologiques (13). Il existe plusieurs types d'hyperinsulinisme congénital différenciés sur base du moment d'apparition des symptômes, période néonatale ou pendant les premières années de la vie, du type anatomopathologique de la lésion, focale ou diffuse, et du mode de transmission génétique, sporadique, autosomique récessif ou dominant (8). La principale cause d'hyperinsulinisme congénital est le dysfonctionnement du canal potassique pancréatique. Le traitement médical consiste à corriger l'hypoglycémie et à limiter les effets de l'insuline. La pancréatectomie partielle permet de guérir les formes focales, alors que les formes diffuses nécessitent une pancréatectomie subtotala avec un risque non négligeable de conduire à l'installation d'un diabète.

#### DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL DES HYPOGLYCÉMIES AVEC HYPERINSULINISME

Pour établir le diagnostic différentiel des hypoglycémies avec hyperinsulinisme, on s'appuie sur une anamnèse du patient, un examen clinique, des tests biologiques et l'imagerie médicale. Il est important de prendre en considération la possibilité d'une hypoglycémie factice accompagnant ce type de symptomatologie, que ce soit par injection d'insuline ou ingestion de médicaments insulinosécrétagues.

L'injection d'insuline peut rapidement être confirmée au moyen de tests biologiques, représentés par un dosage sanguin d'insuline et de peptide C. Un taux effondré de ce dernier en présence d'un hyperinsulinisme est en effet très évocateur d'une prise d'insuline exogène. Par contre, un taux élevé de peptide C lors d'un

épisode d'hypoglycémie associée à un hyperinsulinisme est témoin d'une sécrétion endogène non contrôlée d'insuline. Cette situation se rencontre aussi bien dans des pathologies endocrines comme l'insulinome et l'hyperinsulinisme congénital qu'à la suite d'une ingestion de médicaments insulinosécrétagogues.

Des hypoglycémies factices sont susceptibles d'amener à un faux diagnostic d'insulinome en l'absence de recherche de consommation de médicaments (14). Une étude anglaise cite le chiffre de 37% d'hypoglycémies induites par une sulfonurée dans une population de 93 patients préalablement suspectée d'être porteuse d'un insulinome (5). Dans deux autres études, 10 et 17% des hypoglycémies initialement inexplicables sont dues à la consommation d'une sulfonurée (15).

Il est dès lors essentiel de rechercher la consommation de médicaments insulinosécrétagogues quand on veut établir le diagnostic des hypoglycémies induites par un hyperinsulinisme endogène.

#### **DOSAGE DES SULFAMIDÉS HYPOGLYCÉMIANTS DÉVELOPPÉ AU CHU DE LIÈGE DANS LE CADRE DU DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL DES HYPOGLYCÉMIES SECONDAIRES À UN HYPERINSULINISME**

Plusieurs techniques chromatographiques ont été décrites pour rechercher et doser les sulfamidés hypoglycémiant (16). La plupart de ces méthodes analytiques ont cependant été développées pour le dosage d'un seul agent hypoglycémiant, le plus souvent dans le cadre d'études pharmacocinétiques ou en rapport avec une intoxication. Ces techniques ne conviennent donc pas pour la mise en évidence d'hypoglycémies factices, où plusieurs médicaments peuvent être concernés. Dans ces cas où il est demandé d'exclure une hypoglycémie factice, on doit impérativement rechercher le plus grand nombre possible d'agents insulinosécrétagogues, afin d'éviter le risque d'un résultat faussement négatif. D'autant qu'en raison de l'existence d'un approvisionnement possible par internet de ces agents hypoglycémiant, l'étude ciblée de médicaments commercialisés dans notre pays est insuffisante. Pour ces différentes raisons, la technique d'analyse développée au laboratoire de Toxicologie clinique du CHU de Liège concerne un grand nombre de sulfamidés hypoglycémiant, les cinq médicaments commercialisés en Belgique (glibenclamide – Daonil<sup>®</sup>, Beroren<sup>®</sup>; gliclazide – Diamicon<sup>®</sup>; glipizide – Glibenèse<sup>®</sup>, Minidiab<sup>®</sup>; gliquidone –

Glurenorm<sup>®</sup>, glimépiride - Amarylle<sup>®</sup>), auxquels s'ajoutent d'autres sulfonurées disponibles sur le marché international (carbutamide, chlorpropamide, tolbutamide, tolazamide, glibornuride, acétohexamide). On y adjoindra le répaglinide – Novonorm<sup>®</sup>, seul représentant de la classe des glinides, dont le mécanisme d'action sur la sécrétion d'insuline est tout à fait comparable à celui des sulfonurées.

La recherche d'une consommation de sulfamidés hypoglycémiant doit se faire sur un échantillon sanguin prélevé le plus rapidement possible après l'épisode d'hypoglycémie. Le prélèvement sanguin avec lequel l'hyperinsulinisme a été mis en évidence constitue d'ailleurs l'échantillon idéal. En dehors de ces conditions, l'hypoglycémie factice ne pourra être exclue avec certitude. Les sulfamidés sont en effet pour la plupart rapidement éliminés du sang après une prise unique, avec des temps d'élimination variant de 12 à 24 heures selon les molécules. Le recours à des techniques analytiques très sensibles et très spécifiques est en l'occurrence indispensable pour ces recherches. La technique développée au laboratoire est une chromatographie liquide ultra-performante couplée à la spectrométrie de masse en tandem (UPLC-MS-MS), technologie garantissant à l'heure actuelle la meilleure sensibilité et spécificité pour ces médicaments anti-diabétiques. L'urine, contenant principalement les métabolites de ces agents pharmacologiques, peut également être utilisée mais uniquement en complément des analyses sanguines.

Cette technique originale constitue dès à présent un outil précieux au service des Cliniciens et surtout des Diabétologues pour exclure une hypoglycémie factice induite par des médicaments insulinosécrétagogues et affirmer le diagnostic de l'hyperinsulinisme endogène avec hypoglycémie.

#### **CONCLUSION**

Les hypoglycémies répétitives et inexplicables survenant chez le sujet non diabétique, associées à un hyperinsulinisme endogène, évoquent la prise clandestine de médicaments insulinosécrétagogues. C'est pourquoi, la mise en évidence de ces médicaments dans le sang doit être systématiquement réalisée en cas de suspicion d'insulinome ou d'hyperinsulinisme congénital. La technique de recherche de ces agents pharmacologiques doit être très sensible, comme la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse, et doit permettre d'identifier le plus grand nombre de sulfonurées, auquel on ajoutera le répaglinide. Le prélèvement sanguin

doit être réalisé lors de l'épisode d'hypoglycémie, afin d'éviter tout résultat faussement négatif. La technique chromatographique développée au laboratoire de Toxicologie clinique du CHU de Liège permet de dépister les hypoglycémies factices, l'une des pathomimies les plus fréquentes du syndrome de Munchausen.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Scheen A.— Les sulfamidés hypoglycémiant, 50 ans après Loubatières. *Rev Med Liege*, 1996, **51**, 90-93.
2. Rosenstock J.— Treatment strategies and new therapeutic advances for type 2 diabetes. *Diabetes Educ*, 2000, **26**, 14-18.
3. Charlton R, Smith G, Day A.— Munchausen's syndrome manifesting as factitious hypoglycemia. *Diabetologia*, 2001, **44**, 784-785
4. Bretz SW, Richards JR.— Munchausen syndrome presenting acutely in the Emergency Department. *J Emerg Med*, 2000, **18**, 417-420.
5. Kwong P, Teale JD.— Screening for sulphonylureas in the investigation of hypoglycemia. *J R Soc Med*, 2002, **95**, 381-385.
6. Bougnères P.— Hypoglycémies «occultes», Munchausen par ou sans les parents. *Med Clin Pediatr*, 2002, **2**, 16-17.
7. Del Prato S, Pulizzi N.— The place of sulfonylureas in the therapy for type 2. *Metabolism*, 2006, **55**, S20-27.
8. Giurgea I, Ribeiro MJ, Boddaert N.— Congenital Hyperinsulinism in Newborn and Infant. *Arch Pédiatrie*, 2005, **12**, 1628-1635
9. Service FJ, McMahon MM, O'Brien PC, et al.— Functioning insulinoma-incidence, recurrence, and long-term survival of patients : a 60-years study. *Mayo Clin Proc*, 1991, **66**, 711-719.
10. Nikfarjam M, Warshaw AL, Axelrod L, et al.— Improved Contemporary Surgical Management of Insulinomas: A 25-year Experience at the Massachusetts General Hospital *Ann Surg*, 2008, **247**, 165-172.
11. Palladino AA, Bennett MJ, Stanley CA.— Hyperinsulinism in Infancy and Childhood: When an Insulin Level is Not Always Enough. *Clin Chem*, 2008, **54**, 256-263.
12. Rostambeigi N, Thompson GB.— What should be done in an operating room when an insulinoma cannot be found ? *Clin Endocrinology*, 2009, **70**, 512-515.
13. Dekelbab BH, Sperling MA.— Recent advances in hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy. *Acta Paediatrica*, 2006, **95**, 1157-1164.
14. Bardin C, Tafzi N.— Difficultés d'interprétation en toxicologie : identification plasmatique de sulfamidés hypoglycémiant et hypoglycémies inexplicées. *Rev Fr Lab*, 2008, **406**, 39-42.
15. Guillausseau PJ, Laloï-Michelin M, Delaval-Molko A.— Hypoglycémies factices de l'adulte. *Med Ther Endocrinol Repro*, 2002, **4**, 145-148.
16. Hozey G, Trenque T, Binet L.— Recherche et dosage de sulfamidés hypoglycémiant dans le plasma humain par CLHP-MS/MS à trappe d'ions : validation et application au dépistage des hypoglycémies factices. *Ann Toxicol Anal*, 2006, **18**, 197-205.

Les demandes de tirés à part sont à adresser à Mr. R. Denooz, Service de Toxicologie clinique, Médico-légale, Environnementale et en Entreprise, CHU de Liège, 4000 Liège, Belgique.  
Email : Raphael.Denooz@chu.ulg.ac.be