



ROYAUME DU MAROC
UNIVERSITE SIDIMOHAMMED BEN ABDELLAH
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE FES



METFORMINE ET VITAMINE B12

EXPERIENCE DU SERVICE D'ENDOCRINOLOGIE DU CHU HASSAN II FES:

(A PROPOS DE 185 CAS)

PAR :

Docteur YASSINE Imane

Née le 07/12/1986 à Fes

**POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE SPECIALITE EN MEDECINE
ENDOCRINOLOGIE ET MALADIES METABOLIQUES**

**Sous la direction de
Professeur EL OUAHABI Hanane**

Session Juin 2017

PLAN

INTRODUCTION	5
Rappel	7
I. Rappel physiologique:	8
1. La vitamine B12 ou cobalamine :.....	8
2. La metformine :.....	19
OBJECTIFS DE L'ETUDE	26
I. Objectifs de l'étude.....	27
I. Matériels et méthodes :.....	29
1. Cadre de l'étude.....	29
2. Période de l'étude.....	29
3. Type de l'étude.	29
4. Population étudiée.....	29
5. Echantillonnage :.....	29
6. Recueil et analyse des données :.....	29
7. Le dosage de la vitamine B12 :.....	31
8. Méthode d'analyse et de traitement des résultats :.....	32
RESULTATS	33
I. Résultats :.....	34
A. Etude descriptive:.....	34
1. Description de la population sous metformine :.....	34
2. Description de la population de DT2 sans metformine :.....	38
3. Comparaison des paramètres cliniques et paracliniques des deux groupes :.....	41
B. Etude analytique :.....	42
1. Corrélacion entre le statut en vitamine B12 chez les patients DT2 sous Metformine et les paramètres cliniques :.....	42
2. Corrélacion entre le statut en vitamine B12 chez les patients DT2 sous Metformine et les paramètres paracliniques	43
Discussion	44
I. Discussion.....	45

1. Données épidémiologiques :.....	45
2. Données cliniques :.....	48
3. Prise en charge thérapeutique :	53
4. Prévention :.....	56
CONCLUSION	57
RESUME	59
RÉFÉRENCES	62

Liste des figures et tableaux :

Figure 1 : Structure de la vitamine B12

Figure 2 : Voies métaboliques de la vitamine B12,

Figure 3 : Principales étiologies des carences en vitamine B12,

Figure 4 : Structure de la metformine

Figure 5 : Répartition selon le sexe dans le groupe sous metformine

Figure 6 : Répartition du groupe sous metformine selon l'IMC

Figure 7 : Répartition de la population selon les FDRCV et les complications dégénératives.

Figure 8 : Répartition de la population selon le statut en vitamine B12

Figure 9 : Statut vitaminique B12 des deux groupes

Figure 10 : Interprétation des dosages de vitamine B12, de ses métabolites et des folates.

Tableau 1 : Teneur en vitamine B12

Tableau 2 : Syndrome de non-dissociation de la vitamine B12, causes et diagnostic

Tableau 3 : Manifestations biologiques et cliniques du déficit en vitamine B12

Tableau 4 : Études strasbourgeoises sur l'intérêt d'un traitement par vitamine B12 administré par voie orale dans le cadre du syndrome de maldigestion des cobalamines alimentaires

INTRODUCTION

La metformine est depuis de nombreuses années le traitement incontournable du diabète de type 2. Il s'agit d'un des rares antidiabétiques auquel on associe une amélioration de la mortalité et de la morbidité cardio vasculaire. L'effet indésirable classique de ce traitement, la diarrhée, est certes gênant, mais relativement anodin. Ce qui est moins connu, c'est que la metformine pourrait également être à l'origine de carences en vitamines B12 par malabsorption, [1]. Ces déficits pourraient entraîner une augmentation en Homocysteine, (qui n'est pas un facteur de risque mais un simple marqueur de risque cardiovasculaire), en particulier chez les diabétiques de type 2 [2]. En l'absence de recommandations claires, l'objectif de notre étude est d'évaluer le statut vitaminique B12 chez les patients traités par metformine et de faire un point sur cette association entre metformine et carence en vitamine B12, en s'appuyant sur les données épidémiologiques et cliniques publiées dans les revues de littérature.

RAPPEL

I. Rappel physiologique:

1. La vitamine B12 ou cobalamine :

La vitamine B12 est une vitamine hydrosoluble qui a une structure chimique proche de celle de l'hème avec un atome central constitué par du cobalt, d'où le nom de cobalamine (Figure 1).

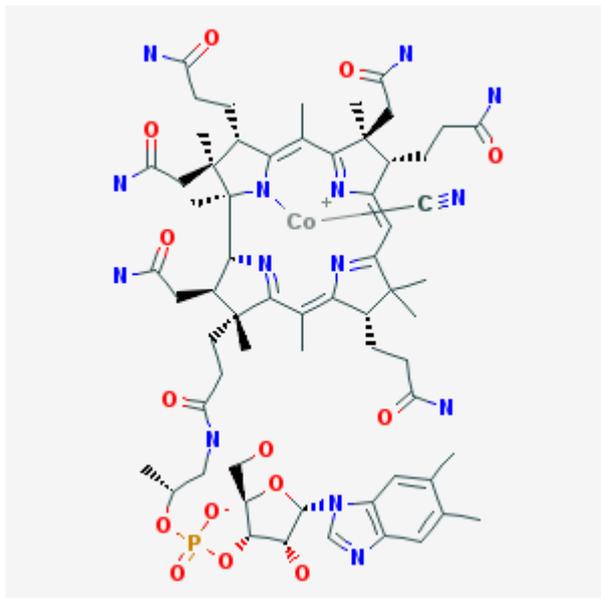


Figure 1 :structure de la vitamine B12

Elle existe sous plusieurs formes regroupées dans la famille des cobalamines: cyanocobalamine, hydroxocobalamine, méthylcobalamine et adénosylcobalamine. La cyanocobalamine et l'hydroxocobalamine sont les seules formes stables. On peut considérer que les recherches sur la vitamine B12 ont commencé au XIXème siècle avec la description d'une anémie mortelle, l'anémie pernicieuse, par Thomas Addison et Michael Anton Biermer.

a. Définitions :

Plusieurs définitions de la carence en vitamine B12 sont proposées dans la littérature:

1. *Taux sérique < 200 pg/mL (150 pmol/L) sur 2 prélèvements [4];*
2. *Taux sérique < 160 pg/mL [5];*
3. *Taux sérique < 200 pg/mL et taux sérique de l'homocystéine totale < 13 pmol/L ou taux de l'acide méthylmalonique > 0,4 µmol/L en l'absence d'une insuffisance rénale, d'un déficit en folates ou en vitamine B6 [6];*
4. *Taux sérique < 200pg/mL avec des signes cliniques neurologiques et/ou des anomalies hématologiques [7].*

La 3ème définition apparaît la plus pertinente. C'est la plus utilisée pour confirmer une carence en vitamine B12 [8], sauf chez le sujet âgé en raison de la prévalence élevée des manifestations neuropsychiatriques et de l'absence de normes bien établies pour le taux de l'homocystéine et de l'acide méthylmalonique qui constituent des marqueurs de la carence fonctionnelle en vitamine B12.

Chez les patients carencés en vitamine B12, il y a une discordance entre le test de Schilling standard, utilisant de la vitamine B12 radioactive libre, et le test de Schilling modifié où la vitamine B12 radioactive est liée à des protéines alimentaires. Ces tests, qui ne sont pas disponibles en pratique courante, sont utilisés dans les laboratoires de recherche.

b. Besoins physiologiques en vitamine B12 :

La vitamine B12 est fournie exclusivement par l'alimentation d'origine animale (Tableau.1).

L'apport quotidien varie entre 5 et 7 µg/j selon le régime alimentaire [6, 9,7]. Les besoins sont estimés entre 2 et 5 µg par jour. Une partie de l'excédent en

vitamine B12, environ 50%, est stockée dans le foie. La réserve hépatique varie entre 2 et 5 mg, ce qui représente environ 1000 jours d'apport [9].

Tableau 1 : Teneur en vitamine B12

Teneur en B12 (mcg/100g)	Produits carnés	Poissons et crustacés
65 - 70	Foie d'agneau cuit Foie de génisse cuit Foie de veau cuit	
30 - 40	Foie de volaille cuit Rognon d'agneau braisé Rognon de veau braisé Rognon de boeuf cuit	
15 - 30	Rognon de porc cuit	Huître crue Clam ou Palourde crus Bulot cuit Bigorneau cuit
10 - 15	Coeur de boeuf cuit	Hareng fumé Sardine à l'huile Thon rouge cuit au four Moule cuite à l'eau Hareng grillé Hareng frit
9 - 10	Lapin en ragoût	Sardine à la sauce tomate Maquereau cuit au four Maquereau frit
8 - 9	Pâté de foie de volaille à tartiner Cervelle d'agneau cuite	Pilchard à la sauce tomate Thon cuit au four Hareng frais cru
7 - 8		Raie cuite au four Crabe en conserve Filet de maquereau à la sauce tomate Maquereau fumé
6 - 7	Pâté de foie de porc Pâté de campagne	Thon cru Raie crue Sardine crue Truite de rivière cuite

c. Absorption de la vitamine B12 (Fig.2)

La vitamine B12 ingérée est liée à des protéines alimentaires. Elle en est dissociée sous l'influence du suc gastrique, surtout de l'acide chlorhydrique et de la pepsine. Puis, elle se lie aux haptocorrines, glycoprotéines porteuses présentes dans les sécrétions salivaires et gastriques [6, 11, 9]. Dans le duodénum, ces protéines sont progressivement digérées et la vitamine B12 libre se lie alors au facteur intrinsèque (FI), sous l'effet des sécrétions biliaires et pancréatiques. Le FI sécrété par les cellules gastriques, en se liant à la vitamine B12, la protège du catabolisme bactérien iléal.

Deux systèmes distincts contribuent à son absorption intestinale. Le premier, spécifique et dépendant du FI, est saturable. Une succession de transports intraluminaux aboutit, dans l'iléon terminal, à la liaison du complexe vitamine B12-FI à un récepteur cellulaire, la cubuline [9,11]. Le second système d'absorption est indépendant du FI: 1% à 5% de la dose de vitamine B12 ingérée est absorbée par simple diffusion [9]. Il ne permet pas l'absorption d'une dose suffisante avec le régime alimentaire habituel mais, étant insaturable, il permet d'envisager un traitement substitutif per os. Après endocytose, la vitamine B12, dissociée du FI, se lie surtout à la transcobalamine II. Ce nouveau complexe, ou holotranscobalamine, passe dans le sang et transporte la vitamine B12 jusqu'aux cellules [9]. Il existe un cycle entéro-hépatique qui permet le stockage de la vitamine B12 dans le foie. Dans le rein, la mégaline, un récepteur du tubule rénal proximal, permet la réabsorption de la vitamine B12 excrétée dans l'urine primitive. De ce fait, les réserves physiologiques en vitamine B12 sont abondantes : ceci explique l'installation tardive et insidieuse des signes cliniques (en moyenne 7 ans après l'arrêt de l'absorption) et la dissociation fréquente entre l'importance des anomalies biologiques (l'anémie en particulier) et le caractère discret des manifestations cliniques [2, 11, 12].

La physiologie de la phase sanguine n'est pas totalement élucidée. Il y aurait au moins trois transporteurs sériques, les transcobalamines 1, 2 et 3, (TC I, II et III), qui participent à des systèmes de transport parallèles. Seule l'holotranscobalamine II (holo TC II) semble avoir un rôle physiologique important. Celle-ci se lie de façon spécifique à la membrane cellulaire, permettant ainsi l'apport vitaminique aux voies métaboliques cellulaires [9].

d. Rôles physiologiques de la vitamine B12 :

La vitamine B12 est une coenzyme ubiquitaire impliquée dans de nombreuses réactions enzymatiques intracellulaires [13]. Elle intervient dans les réactions qui aboutissent à la synthèse de l'ADN et de la méthionine à partir de l'homocystéine [14,

15, 16]. L'altération de la synthèse de l'ADN entraîne un blocage de la maturation cellulaire touchant d'abord les cellules à multiplication rapide d'où les manifestations hématologiques et cutanéomuqueuses [12]. L'altération de la synthèse de la méthionine à partir de l'homocystéine se traduit par un défaut de synthèse de la protéine de base de la myéline ; ce défaut de synthèse est responsable de l'apparition des anomalies de la conduction nerveuse [13, 15, 17, 18]. Les troubles neurologiques peuvent aussi être expliqués par le rôle de cofacteur de la vitamine B12 dans la régulation de la synthèse et de l'activité de certaines cytokines à tropisme neurologique [15, 19, 20]. Chez des patients présentant une carence en vitamine B12 accompagnée d'une atteinte neurologique, on a mis récemment en évidence une baisse de certaines cytokines neurotrophiques comme l'EGF (epidermal growth factor) et l'interleukine 6 (IL-6), et une augmentation dans le sang et le liquide céphalorachidien du taux de cytokines neurotoxiques comme le TNF (tumor necrosis factor), le NGF (nerve growth factor) et le ligand du facteur CD 40 soluble. Après correction de la carence en vitamine B12, le taux de ces différentes cytokines se normalise [16,21].

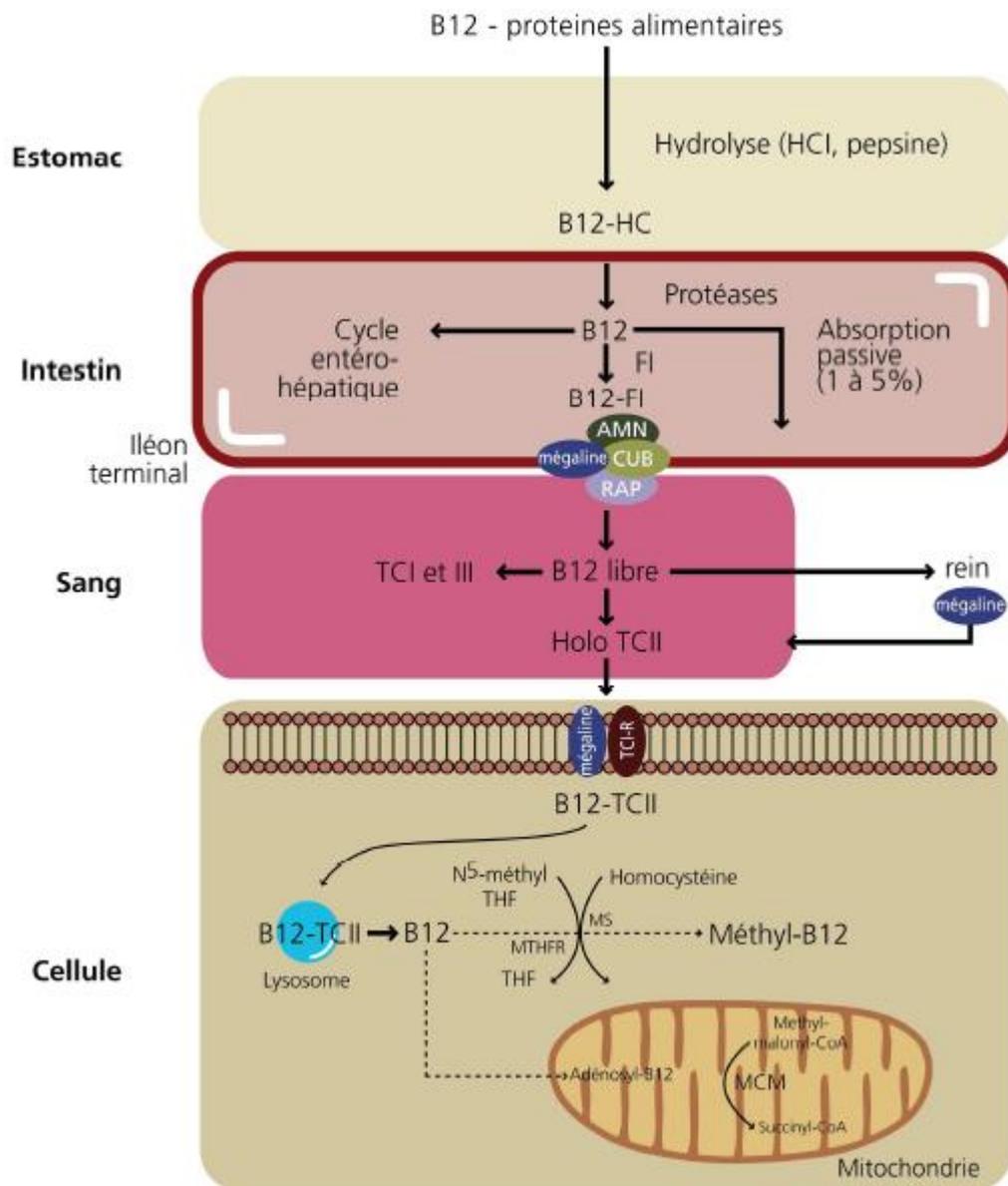


Figure 2 : Voies métaboliques de la vitamine B12, d'après Serraj et al. modifié [16].

e. Etiologies de la carence en vitamine B12

Elles sont intimement liées aux étapes de son ingestion, de sa digestion et de son absorption.

Chez l'adulte, les étiologies de la carence en vitamine B12 sont par ordre de fréquence décroissant (Fig. 3) [2, 4, 22]:

- le syndrome de non-dissociation de la vitamine B12 de ses protéines porteuses [2, 23] ;
- la maladie de Biermer ;
- la malabsorption ;
- une carence d'apport ;
- autres : médicaments (surtout anti-H2 et inhibiteurs de la pompe à protons, hydantoïne, Bactrim®, colchicine, méthotrexate, metformine...) et syndromes congénitaux.

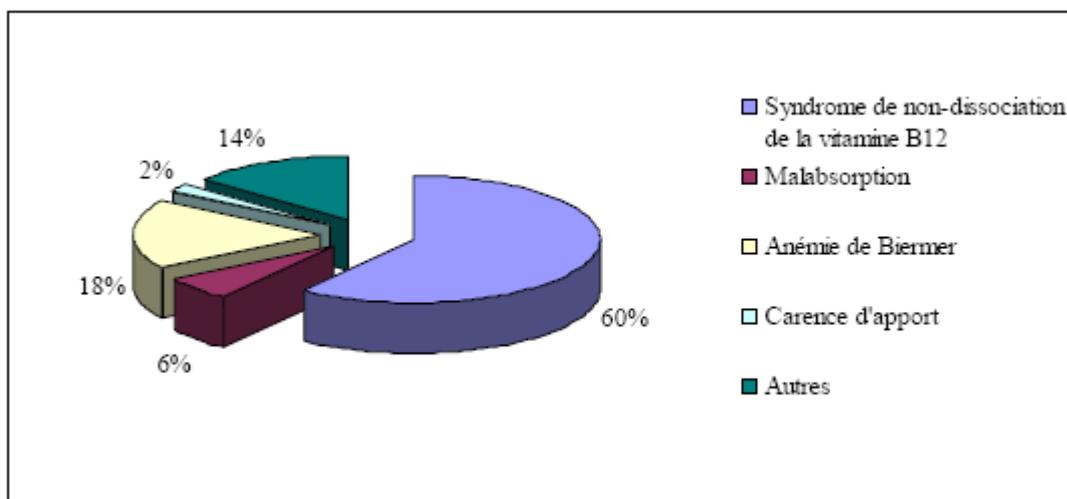


Figure 3 : Principales étiologies des carences en vitamine B12, d'après Andrès et al. modifié [2, 10, 24].

- Syndrome de non-dissociation de la vitamine B12 des protéines porteuses (protéines alimentaires ou haptocorrines).

Ce syndrome décrit dans les années 90 est défini par les critères de Carmel [23]. Il regroupe les pathologies responsables d'une rupture de l'intégrité du système de transport (Tab. 2).

Tableau 2. Syndrome de non-dissociation de la vitamine B12, causes et diagnostic

[24].

Éléments diagnostiques du syndrome de non-dissociation de la vitamine B12 de ses protéines porteuses ou maldigestion des cobalamines alimentaires

1. Concentration sérique de vitamine B12 < 200 pg/mL
 2. Test de Schilling « standard » (avec de la cyanocobalamine libre marquée au cobalt-58) normal ou test de Schilling « modifié » (utilisant de la vitamine B12 radioactive liée à des protéines alimentaires) anormal ‡
 3. Pas de carence nutritionnelle en vitamine B12 (apport > 2 µg/j)
-
4. Existence d'un facteur prédisposant à la carence en vitamine B12 :
- gastrite atrophique, infection chronique à *Helicobacter pylori*, gastrectomie, by-pass gastrique
 - insuffisance pancréatique exocrine
 - éthyisme chronique
 - prise d'antiacides (inhibiteurs de la pompe à protons) ou de biguanides (metformine)
 - pullulation microbienne, sida
 - Sjögren, sclérodermie
 - « idiopathique » ou lié à l'âge
-

La principale cause du syndrome de non-dissociation est liée à l'atrophie gastrique, en rapport ou non avec une infection à *Helicobacter pylori* [25, 26]. Dans l'étude de Kaptan et al. [26], 40% des 77 sujets ayant une carence en vitamine B12 liée à *H. pylori* ont été guéris après un traitement antibiotique adapté.

Les autres facteurs prédisposants rapportés sont les suivants :

- la pullulation microbienne intestinale (carence réversible après une antibiothérapie adaptée) [23] ;
- la prise au long cours d'anti-acides, d'antihistaminiques H₂, d'inhibiteurs de la pompe à protons ou de metformine [27, 28, 29]. La dissociation du complexe vitamine B12-protéines alimentaires est alors réduite en raison de l'achlorhydrie induite par les médicaments: la vitamine B12 ne peut donc pas se lier au FI. De plus, l'achlorhydrie favorise la pullulation bactérienne : la vitamine B12 est alors catabolisée par les bactéries [30] ;
- l'intoxication alcoolique chronique ;
- les interventions de chirurgie ou de plastie gastrique (en particulier le bypass réalisé pour traiter une obésité) ;
- l'insuffisance pancréatique exocrine partielle [31, 11] ;
- le syndrome de Sjögren [32] ;

- la sclérodermie ;

- Malabsorption de la vitamine B12

Plus fréquemment rencontré, le déficit de la fonction exocrine du pancréas, secondaire à une pancréatite chronique (alcoolisme) ou à une pancréatectomie [33, 34, 22]. Les sujets ayant subi une gastrectomie ou une résection chirurgicale de l'intestin grêle terminal représentent 5% des carences de la vitamine B12 [31, 26, 35]. Plus rarement (moins de 2% des cas) [24], la malabsorption de la vitamine B12 est secondaire à une maladie de Crohn, un lymphome, une tuberculose, une amylose, une sclérodermie, une maladie de Whipple, à la prise de colchicine, de cholestyramine ou de metformine [34, 6]. Dans le traitement par la metformine , le risque carenciel n'apparaît que pour une dose moyenne de 2 g/j et après une durée moyenne de traitement de 4 ans [36]. La metformine confère à la membrane des cellules pariétales de l'iléon une charge positive qui inhibe l'endocytose calcium-dépendante du complexe vitamine B12-FI ; cette inhibition est réversible après un apport calcique [37].

- Carence d'apport en vitamine B12

Elle est rare chez l'adulte en bonne santé dans les pays industrialisés (prévalence de 5% dans l'étude strasbourgeoise) [24, 33]. Elle s'observe principalement chez des sujets ayant un régime végétarien [38], les sujets dénutris, comme chez les sujets âgés ou institutionnalisés, et chez les patients en hôpital psychiatrique [10].

f. Manifestations biologiques et cliniques d'une carence en vitamine B12

Les principales manifestations biologiques et cliniques de la carence en vitamine B12 sont présentées dans le Tableau. 3.

Tableau 3 : Manifestations biologiques et cliniques du déficit en vitamine B12 : [40].

Manifestations hématologiques

Sang périphérique : macrocytose, anisocytose, hypersegmentation des neutrophiles, anémie macrocytaire aréogénérative, thrombopénie, leucopénie, pancytopenie, stigmates d'hémolyses (augmentation des LDH, de la bilirubine libre, des ASAT, chute de l'haptoglobine), tableau de pseudomicroangiopathie thrombotique

Moelle : hypercellularité, augmentation des précurseurs érythroïdes, anomalie de la chromatine nucléaire, asynchronisme de maturation nucléocytoplasmique, karyorrhexie, résultats anormaux en cytométrie de flux et cytogénétique

Manifestations neuropsychiatriques

Cerveau : altérations des fonctions supérieures, troubles cognitifs, syndrome cérébelleux

Moelle : sclérose combinée de la moelle

Système nerveux autonome : hypotension orthostatique, impuissance, incontinence

Système nerveux périphérique : neuropathie sensitive, atteinte des nerfs crâniens, atrophie du nerf optique, anosmie agueusie

Manifestations digestives

Glossite de Hunter, perlèche, chéilite, douleurs abdominales, dyspepsie, nausées et vomissements, diarrhée, troubles fonctionnels intestinaux, ulcères cutanéomuqueux

Manifestations gynéco-obstétricales

Atrophie de la muqueuse vaginale, infections chroniques vaginales (surtout mycoses) et/ou urinaires

Hypofertilité et fausses couches à répétition

g. Prise en charge thérapeutique

La prise en charge d'une carence en vitamine B12 comporte :

- un traitement d'attaque d'un mois visant à apporter de la vitamine B12 aux cellules déficitaires et à former un stock puis ;
- un traitement d'entretien pour apporter aux cellules l'équivalent de leurs besoins en vitamine B12 si la pathologie ayant entraîné le déficit n'est pas réversible .Plusieurs modes d'administration de vitamine B12 existent :oral, sous-cutané (SC) ou intramusculaire (IM) [40].

L'efficacité de l'administration par voie orale de la vitamine B12 dans la maladie de Biermer ou la malabsorption repose sur le fait qu'environ 1 à 2 % de la vitamine B12 est absorbée de manière passive. Néanmoins, en cas de problème d'observance, la substitution parentérale est recommandée. De même, en cas d'atteinte sévère (présence de signes neurologiques, pancytopenie), il semble raisonnable de recourir initialement à cette voie d'administration puis discuter la voie orale en traitement d'entretien selon le souhait du patient. Les schémas thérapeutiques habituellement utilisés sont :

- voie parentérale (SC ou IM) : 1 mg/jour pendant 7 jours puis 1 mg/semaine pendant 1 mois puis 1 mg/mois jusqu'à correction de la cause ou à vie ;
- voie orale : il n'existe pas de consensus sur la dose et la fréquence d'administration. La dose minimale à utiliser semble être 0,5 mg/j sauf dans la maladie de Biermer où la dose requise doit être d'au moins 1 mg/j. L'absence d'étude à long terme ne permet pas d'évaluer si un traitement par voie orale autre que journalier est assez efficace [40]. À noter que les comprimés de vitamine B12 ne sont pas remboursés et que les ampoules de 1 mg peuvent être utilisées.

2. La metformine :

Découverte en 1922 et introduite en Europe en 1957, la metformine (diméthylbiguanide) (Fig. 4) a connu une carrière d'ombre et de lumière jusqu'à son approbation par la Food and Drugs Administration (FDA) fin 1994 et sa consécration comme thérapeutique de première ligne suite aux résultats de la United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) [41].

Et depuis la metformine constitue le traitement de première ligne du diabétique type 2 [42].

Il s'agit du seul biguanide encore commercialisé, ses concurrents, la phenformine, surtout développée aux États-Unis, et la buformine en Allemagne, ayant été retirés en raison de leur risque important d'acidose lactique.

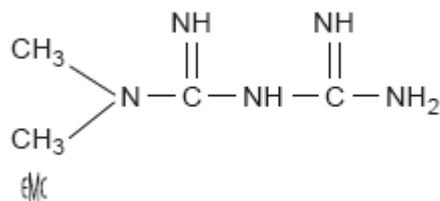


Figure 4 : Structure de la metformine

a. Données pharmacologiques

✓ Pharmacocinétique

La metformine (Met), base faible très polaire, est extrêmement soluble dans l'eau. Sa biodisponibilité est de l'ordre de 50-60 %, l'absorption s'effectuant au niveau du grêle. La liaison aux protéines est négligeable. La demi-vie plasmatique est de 1,5 à 4,9 heures. Les concentrations circulantes obtenues aux doses thérapeutiques sont de 0,3 à 1 mg/l [43].

La metformine est très peu métabolisée et est éliminée sous forme inchangée par voie rénale, 90 % de la dose administrée disparaissant en 12 heures. De ce fait, une altération, même modérée, de la fonction rénale est susceptible d'avoir un

retentissement important sur les concentrations plasmatiques du produit. L'élimination rénale de la metformine répond à un modèle multiexponentiel impliquant à la fois la filtration glomérulaire et une sécrétion tubulaire.

Dans la plupart des tissus, les concentrations intracellulaires de metformine sont équivalentes aux taux plasmatiques, mais elles dépassent celles-ci dans le foie, les reins, et surtout les glandes salivaires et la paroi intestinale.

b. Propriétés pharmacodynamiques : effet antihyperglycémiant

La metformine est classée parmi les insulinosensibilisateurs, car elle réduit l'hyperglycémie des patients diabétiques de type 2 sans augmenter leur insulïnémie, mais une sécrétion résiduelle d'insuline est nécessaire à son action.

L'effet antihyperglycémiant de la metformine résulte essentiellement de la réduction de la production hépatique de glucose, principalement par inhibition de la néoglucogenèse et, à un moindre degré, par inhibition de la glycolyse [44]. En outre, la metformine potentialise l'effet de l'insuline sur la captation musculaire et adipocytaire du glucose. Dans le muscle, elle favorise le stockage du glucose sous forme de glycogène, mais n'augmente pas son oxydation. Il n'est toutefois pas certain que cet effet périphérique observé in vivo soit direct. Il apparaît plus probable qu'il résulte de l'amélioration de la glucotoxicité. Au niveau intestinal, la metformine réduit l'absorption du glucose, mais cela ne participe probablement que de façon marginale à son effet thérapeutique.

c. Mécanisme d'action

La ou les cibles moléculaires de la metformine restent mal connues. Sur des hépatocytes isolés, son action nécessite la présence de la protéine kinase activée par l'acide adénosine monophosphorique (AMPK) [45, 46], un système enzymatique de structure hétérotrimérique comportant une sous-unité a catalytique et deux sous-unités b et c régulatrices, qui joue un rôle majeur dans l'intégration et la régulation de l'homéostasie énergétique cellulaire. L'AMPK est activée par l'augmentation du

rapport acide adénosine monophosphorique (AMP)/adénosine triphosphate (ATP) et par diverses autres kinases. Elle déclenche, par phosphorylation enzymatique directe et modulation de l'expression génique, une série de processus cataboliques conduisant à la production d'ATP et inhibe les voies anaboliques consommatrices d'ATP [47].

Le mécanisme par lequel la metformine active l'AMPK reste débattu et certains travaux suggèrent même qu'il pourrait ne pas s'agir d'un effet direct de la molécule [48].

d. Autres effets de la metformine

En dehors de son effet sur le métabolisme glucidique, la metformine exerce un certain nombre d'autres effets directs ou indirects favorables : effet sur le poids : dans la plupart des études, le traitement par metformine s'est accompagné d'une stabilité pondérale voire d'une discrète perte pondérale, contrastant avec la prise de poids observée sous sulfamides hypoglycémiantes (SH) [48] ; effet sur les lipides plasmatiques : le traitement au long cours par metformine s'accompagne d'une réduction modérée des triglycérides plasmatiques par réduction de la synthèse hépatique des *very low density lipoprotein* (VLDL), ainsi que des acides gras libres circulants. À un moindre degré, une légère baisse du cholestérol total et une augmentation du *high density lipoprotein* (HDL)-cholestérol ont été rapportées dans certaines études [48] ;

- Effets sur la pression artérielle : une baisse tensionnelle discrète est rapportée de façon inconstante sous metformine. Elle est sans doute attribuable à la réduction pondérale et à l'amélioration de l'insulinorésistance
- Amélioration de l'activité fibrinolytique par diminution du *plasminogen activator inhibitor 1* (PAI-1), le principal inhibiteur de l'activateur du

plasminogène, et réduction du risque thrombotique par diminution du facteur de von Willebrand[49] ;

- diminution de l'adhésion et de l'agrégation plaquettaire ;
- amélioration de la relaxation vasculaire ;
- réduction de l'excrétion urinaire d'albumine.

e. **Effets indésirables**

✓ Acidose lactique

L'acidose lactique est la complication la plus grave du traitement par metformine [50, 51] et est à l'origine des contreindications et précautions d'emploi de la molécule.

Sa fréquence, évaluée entre 2 et 9/100 000 patients–années, est nombre de travaux récents remettent même en cause la responsabilité dans la survenue d'acidoses lactiques chez les patients diabétiques, l'augmentation du risque paraissant davantage liée au diabète lui-même qu'à son traitement [52]. Aux doses thérapeutiques, la metformine majore discrètement les taux circulants de lactate par augmentation de sa production intestinale et réduction de la glucogenèse à partir des produits terminaux de la glycolyse. Une acidose lactique risque de se produire en cas d'anoxie tissulaire, ou en situation d'insuffisance rénale qui conduit à une accumulation anormale de metformine. Le traitement par metformine doit être adapté en cas d'insuffisance rénale, même modérée (débit de filtration glomérulaire estimé [DFGe] inférieur à 60 ml/min) (42), ou s'il existe un risque d'insuffisance rénale aiguë (déshydratation, utilisation de contraste iodé) ou d'ischémie tissulaire (anesthésie générale, insuffisance cardiorespiratoire sévère, infarctus du myocarde, affection intercurrente sévère). L'apparition de signes prémonitoires d'acidose lactique (asthénie, crampes musculaires, douleurs abdominales et thoraciques) doit également conduire à son arrêt immédiat avant l'apparition des manifestations plus graves (oligurie, état de choc).

✓ Troubles digestifs

Les troubles digestifs à type de pesanteur épigastrique, ballonnement abdominal, nausées, diarrhées, dysgueusie (goût métallique) et anorexie représentent les effets indésirables les plus fréquents. Ils sont dose-dépendants et s'atténuent parfois avec le temps, mais on peut évaluer à 5-10 % le pourcentage de patients ayant une intolérance totale et durable à la metformine conduisant à son arrêt (53).

✓ Autres effets indésirables

Les autres effets indésirables sont rares : allergies (rash, prurit, urticaire), carence en vitamine B12 réversible à l'arrêt du traitement ou corrigée par une prise orale de vitamine B12 cristalline (53).

La metformine ne provoque pas d'hypoglycémies en l'absence d'associations thérapeutiques, de jeûne prolongé ou de prise massive d'alcool.

f. Place thérapeutique de la metformine et modalités pratiques de prescription

Du fait de ses bénéfices thérapeutiques démontrés chez les patients en surpoids, de l'absence de risque d'hypoglycémie, de la longue expérience de son utilisation et de son coût peu élevé, la metformine est actuellement recommandée, en l'absence de contre-indication, comme thérapeutique de première ligne chez tous les diabétiques de type 2 dont l'HbA1c n'est pas parfaitement normalisée sous traitement hygiénodietétique [53]. Elle demeure une composante essentielle de toutes les étapes ultérieures de bi- ou trithérapie orale et du traitement insulinique du diabétique de type 2 en surpoids chez lequel elle exerce un effet d'épargne insulinique et limite la prise de poids.

La metformine est disponible sous forme de chlorhydrate (comprimés dosés à 500, 850 et 1 000 mg) et d'embonate (700 mg) . Les posologies usuelles sont de 1 700 à 2 550 mg/j. La dose peut être augmentée jusqu'à 3 000 mg avec un faible bénéfice thérapeutique supplémentaire et au prix d'une majoration des effets indésirables. Il est recommandé d'instaurer le traitement de façon progressive et

pendant le repas pour limiter le risque de troubles digestifs, sources d'abandon thérapeutique. Chez certains patients rapportant des antécédents d'intolérance digestive, souvent du fait de posologies fortes d'emblée, la réintroduction d'une autre forme du produit à faible dose est parfois possible. Il est essentiel de respecter les contre-indications et précautions d'emploi du produit, bien que certains auteurs [54, 55] préconisent de les assouplir, sous réserve de surveillance. Le risque d'acidose lactique reste en effet extrêmement faible par rapport aux bénéfices thérapeutiques de la metformine, même en cas de contre-indications relatives, et le développement de l'acidose lactique nécessite presque toujours l'existence d'une autre affection favorisante. De même, la contre-indication classique représentée par la grossesse est remise en question par les données cliniques [56].

g. Autres domaines potentiels d'utilisation de la metformine

✓ Prévention du diabète de type 2

Chez des sujets présentant une intolérance au glucose, la metformine, à la dose de 2×850 mg/j, a permis d'obtenir une réduction de l'incidence du diabète de 31 %, par rapport à un placebo. Cet effet est toutefois moindre que celui d'une prise en charge hygiénodététique intensive (- 58 %) et ne se maintient pas à l'arrêt du traitement [57].

✓ Prise en charge de l'obésité et du syndrome métabolique

Dans les études BIGPRO (Biguanides and the Prevention of the Risk of Obesity) 1 et BIGPRO 1.2, une baisse non significative du poids et une tendance à l'amélioration des composants du syndrome métabolique ont été observées sous metformine 850, 2×1 cp/j par rapport au placebo [58].

Plusieurs essais ont mis en évidence un discret effet de la metformine sur la perte de poids de sujets obèses.

✓ **Syndrome des ovaires polykystiques**

Bien que la pathogénie de ce syndrome reste mal comprise, l'insulinorésistance y joue un rôle majeur. Diverses observations et essais cliniques ont rapporté sous metformine une réduction des taux circulants de testostérone, une amélioration des cycles menstruels et de l'ovulation. Plusieurs études contre placebo, ont montré que la metformine seule augmente le taux d'ovulation chez les patientes avec un SOPK [59],

✓ **Utilisation chez les enfants et les adolescents**

L'évolution moderne du mode de vie s'accompagnant d'une apparition plus précoce du DT2, en particulier aux États-Unis, la question de l'utilisation pédiatrique de la metformine se pose. Certains travaux suggèrent l'intérêt de cette molécule, en particulier vis-à-vis du poids si on la compare aux SH ou à l'insuline chez ces jeunes diabétiques obèses [58]. Ainsi, l'autorisation de mise sur le marché (AMM) de la metformine a été élargie en 2006 aux enfants et adolescents âgés de plus de 10 ans.

OBJECTIFS DE L'ETUDE

I. Objectifs de l'étude

L'objectif de notre étude est d'évaluer les données cliniques et paracliniques plus particulièrement le statut en vitamine B12 chez 135 patients DT2 traités par Metformine, comparativement à un groupe témoin incluant 50 patients DT2 non traités par la Metformine et aussi d'évaluer la corrélation entre le statut vitaminique B12, avec les différents paramètres cliniques et métaboliques.

MATERIEL ET METHODES

I. Matériels et méthodes :

1. Cadre de l'étude

Notre étude est réalisée au service de Diabétologie–Endocrinologie du CHU HASSAN 2 de FES

2. Période de l'étude

Notre étude s'étale sur une période de 4ans (du 01 janvier 2012 au 31 décembre 2015)

3. Type de l'étude.

Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive comparative (étude cas–témoin).

4. Population étudiée

Notre étude intéresse 135 patients traités par Metformine et 50 patients sans Metformine (groupe témoin).

5. Echantillonnage :

a. Critères d'inclusion

Tout patient diabétique de type 2 ayant bénéficié d'un dosage de la vitamine B12. Deux groupes ont été randomisés : un groupe sous Metformine et un autre groupe sans Metformine.

b. Critères d'exclusion

Les patients DT2 avec :

- Gastrectomie partielle ou totale
- Maladie de Crohn, ou autre pathologie digestive

6. Recueil et analyse des données :

Pour la collecte des informations, une fiche d'exploitation a été utilisée comportant les éléments suivants :

Identité :

Nom et prénom :

IP : ND :

Age :

Sexe :

ATCD :

Diabète :

- Durée d'évolution :

- Traitement : metformine insuline
 ADO+ insuline

HTA:

Dyslipidémie :

Cardiopathie :

Hérédité diabétique :

Habitudes toxiques :

Clinique :

Examen clinique :

IMC :

Tour de taille :

HTA :

Examens para-cliniques :

Bilan métabolique :

Glycémie à jeun :

HbA1c :

Anémie :

Normochrome normocytaire	hypochrome microcytaire	normochrome macrocytaire
--------------------------	-------------------------	--------------------------

Fer sérique :

Ferritinémie :

Dyslipidémie :

Vit B12 :

Bilan des complications dégénératives :

Microangiopathie :

microalb de 24h : insuffisance rénale:

Ophtalmopathie :

Neuropathie :

Macroangiopathie :

cardiopathie

ECG :

Echodoppler des art des TSA et mb inf :

Traitement :

ADO :

Type : metformine

Dose :

Insuline :

7. Le dosage de la vitamine B12 :

Le dosage de la vitamine B12 a été fait par méthode électrochimiluminescence

Les valeurs normales sont comprises entre (200 à 866 pg/ml)

8. Méthode d'analyse et de traitement des résultats :

Les données ont été saisies et codées sur Excel, puis analysées à l'aide du logiciel SPSS v20 au sein du laboratoire d'épidémiologie, recherche clinique et médecine communautaire à la faculté de médecine et de pharmacie de Fès.

Pour la partie descriptive, les variables quantitatives ont été exprimées par leur moyenne et leur écart-type, ainsi que par leurs valeurs minimale et maximale.

Les variables qualitatives ont été exprimées par leur effectif et leur fréquence.

Le seuil de signification (p) retenu était de 0,05.

La réalisation des graphiques a été effectuée avec le logiciel Microsoft Excel 2010.

RESULTATS

I. Résultats :

A. Etude descriptive:

Nous avons inclus dans notre étude 185 patients DT2 dont 135 patients sous Metformine, et 50 patients non traités par Metformine (groupe témoin)

1. Description de la population sous metformine :

a. Données cliniques du groupe de patients DT2 sous metformine:

➤ Age et sexe

L'âge moyen de patients est de $51,80 \pm 17,51$ ans, avec des extrêmes allant de 30 à 80 ans.

On note une prédominance féminine avec un sex-ratio de 1,72F/H.

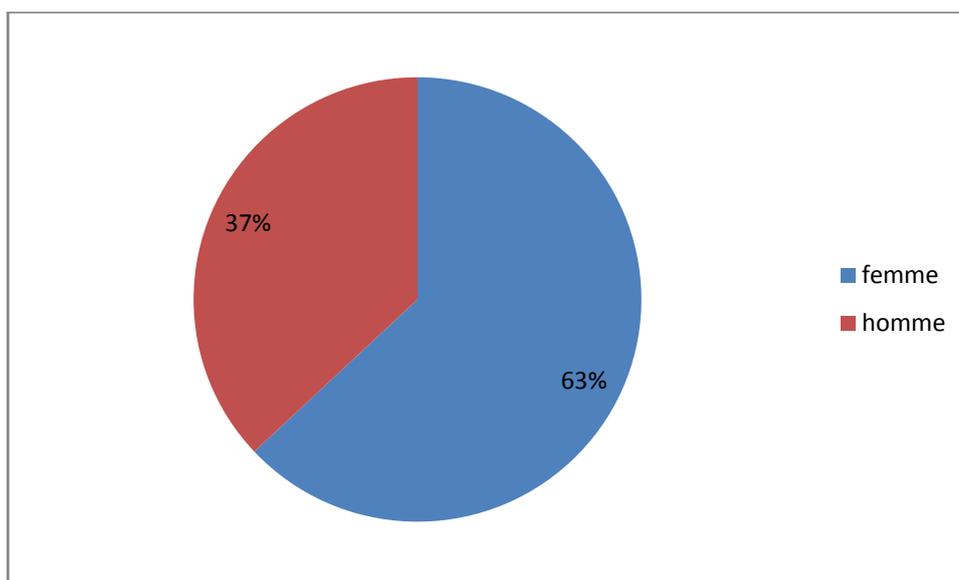


Figure 5 : Répartition selon le sexe dans le groupe sous metformine

➤ Habitudes toxiques :

Les habitudes toxiques présentes dans ce groupe : un tabagisme dans 8 % des cas et un alcoolisme dans 6% des cas.

➤ Données anthropométriques :

Le poids moyen de notre population est de $70,43 \pm 20$ Kg, avec des extrêmes allant de 50 à 110 kg.

Le tour de taille moyen des patients de ce groupe est de $97,4 \pm 18,46$ cm,
L'IMC de notre population est de $27,8 \pm 7,15$ kg/m², avec des extrêmes allant de 22 à 45 kg/m².

L'obésité est présente chez 27 % des patients de ce groupe.

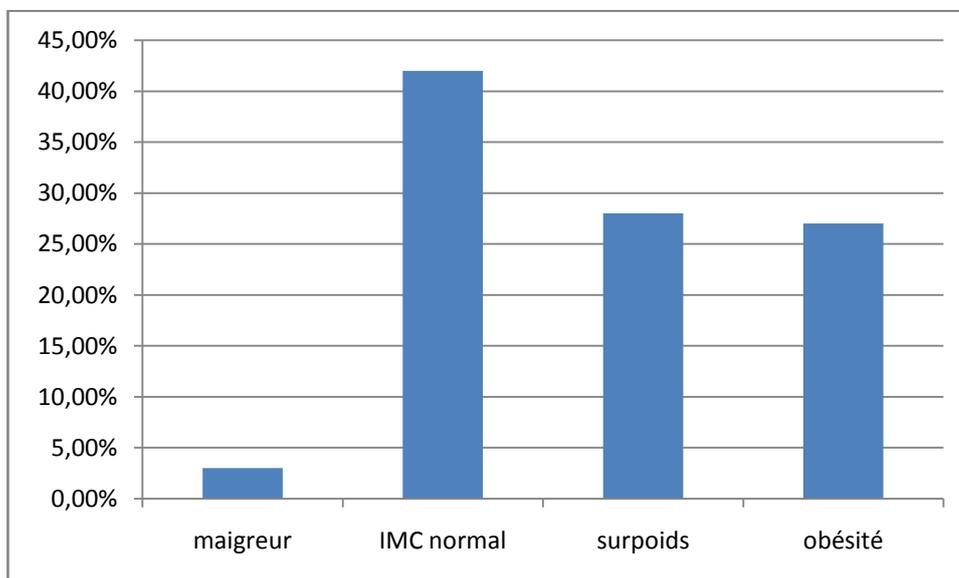


Figure 6 : répartition du groupe sous metformine selon l'IMC

➤ **Durée du diabète :**

La durée moyenne du diabète dans notre population est de $9,5 \pm 5,2$ ans
(Extrêmes 2 mois à 20 ans).

➤ **Facteurs de risque cardiovasculaires associés au diabète :**

Une dyslipidémie est présente chez 27 % des patients de ce groupe

Une HTA est présente chez 41 % des patients ce groupe.

➤ **Complications dégénératives associées au diabète :**

Les complications microangiopathiques sont présentes dans 34 % des cas avec une rétinopathie diabétique dans 34 %, une néphropathie diabétique dans 22 %, la neuropathie diabétique est présente chez 11% des patients de ce groupe.

Les complications macroangiopathiques sont présentes dans 18% des cas.

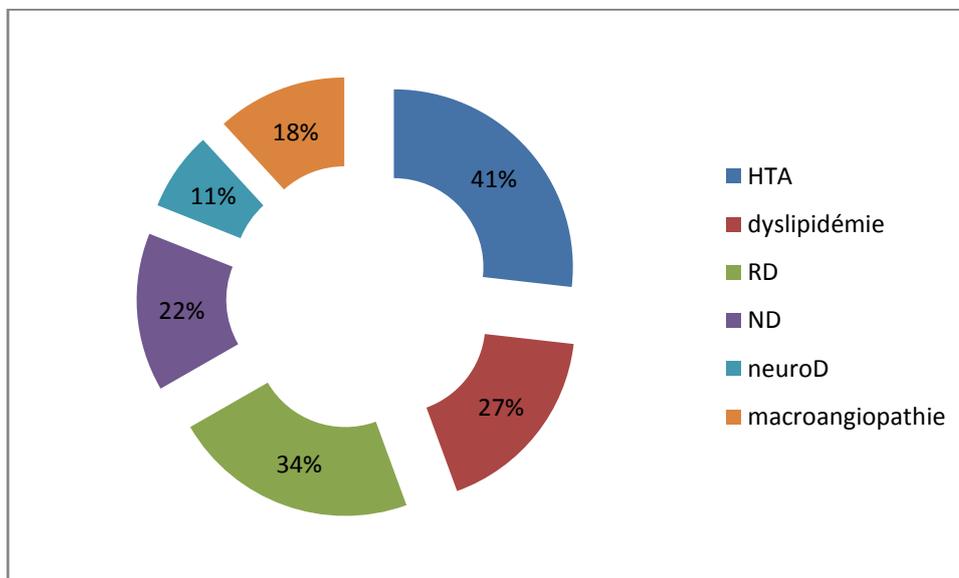


Figure 7 : répartition de la population selon les FDRCV et les complications dégénératives.

➤ **Prise de la Metformine:**

La dose moyenne de Metformine dans notre population est 1660 ± 446 mg/j, le minimum étant 1000 mg/j et le maximum étant 2500 mg/j.

b. Données paracliniques du groupe de patients DT2 sous metformine: :

➤ **HBA1C et GAJ :**

La GAJ moyenne de ce groupe est de $1,86 \pm 0,17$ g/l (extrêmes : 0,7–3g/l).

L'HBA1C moyenne est de $11,52 \pm 2,2$ % (extrêmes : 7– 17 %)

➤ **Vitamine B12**

Le taux moyen de la vitamine B12 des patients DT2 sous Metformine est de $366,36 \pm 187,32$ pg/ml, le minimum étant de 107 pg/ml et le maximum étant de 750 pg/ml.

14% des patients sous Metformine présentent un taux de vitamine B12 inférieur à 200pg/ml,

30 % des patients ont un taux de vitamine B12 compris entre 200 et 300 pg/ml), alors que 56 % des patients sous Metformine présentent un taux de vitamine B12 supérieur a 300pg/ml.

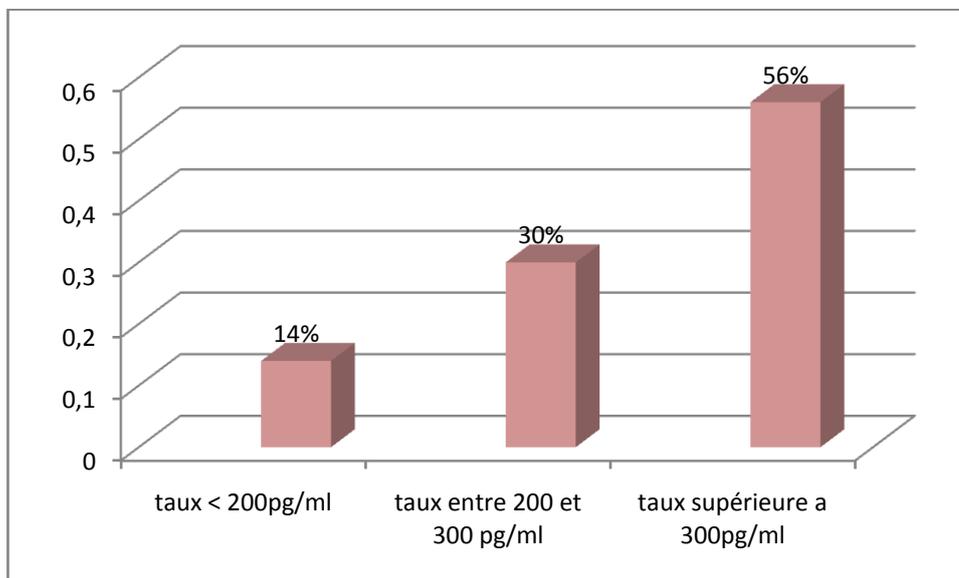


Figure 8 : Répartition de la population selon le statut en vitamine B12

➤ Hémoglobine

L'hémoglobine moyenne de notre population sous Metformine est de $12,6 \pm 1,8$ g/dl, le minimum étant de 6 g/dl et le maximum étant de 16 g/dl.

➤ Type d'anémie :

On note une anémie normochrome normocytaire chez 5% des patients de ce groupe.

Une anémie hypochrome microcytaire chez 18% des patients.

Une anémie macrocytaire chez 0,7% des cas

➤ Fer sérique et ferritinémie

Le fer sérique moyen de notre population sous Metformine est de 0.58 ± 0.33 mg/l, le minimum étant de 0.19 mg/l et le maximum étant de 2. mg/l. 8 % de l'ensemble de la population présentent une carence en fer sérique.

La ferritinémie moyenne de notre population sous Metformine est de 69.73 ± 1 ug/l, le minimum étant de 13ug/l et le maximum étant 158 ug/l. 8 patients (5,3%) de notre série présentent une diminution de la ferritinémie.

➤ Créatinine:

La moyenne de la créatinine de notre population sous Metformine est de $11,17 \pm 10,74$ mg/l, extrême allant de 0,5 mg/l à 74 mg/l.

(IRC modérée :12%, IRC sévère: 8%, fonction rénale normale :80%)

La moyenne de LDL de notre population sous Metformine est de $1,01 \pm 0,5$ g/l, extrême allant de 0,3 g/l à 2,18 g/l.

La moyenne de TG de notre population sous Metformine est de $1,31 \pm 0,6$ g/l, extrême allant de 0,49 g/l à 3,3 g/l.

2. Description de la population de DT2 sans metformine :

a. Données cliniques du groupe de patients DT2 sans metformine:

➤ Age et sexe

L'âge moyen des patients de ce groupe est de $42,60 \pm 10,17$ ans, avec des extrêmes allant de 30 à 70 ans.

On note un sex-ratio de 1F/H.

➤ Habitudes toxiques :

Les habitudes toxiques sont présentes chez 10% des patients de ce groupe.

➤ Données anthropométriques :

Le poids moyen de notre population est de $68,25 \pm 13,5$ Kg, avec des extrêmes allant de 58 à 105 kg.

Le tour de taille moyen des patients de ce groupe est de $92,4 \pm 15,46$ cm, L'IMC de notre population est de $29,8 \pm 7,1$ kg/m², avec des extrêmes allant de 19 à 40,6 kg/m².

L'obésité est présente chez 32 % des patients de ce groupe.

➤ Durée du diabète :

La durée moyenne du diabète dans notre population est de $10,07 \pm 9,7$ ans (Extrêmes 0 mois à 33 ans).

➤ Facteurs de risque cardiovasculaires associés au diabète :

Une dyslipidémie est présente chez 20 % des patients de ce groupe

Une HTA est présente chez 36 % des patients ce groupe.

➤ Complications dégénératives associées au diabète :

Les complications microangiopathiques sont présentes dans 28% des cas avec une rétinopathie diabétique dans 26 %, une néphropathie diabétique chez 28 % des patients de ce groupe et une neuropathie dans 12% des cas.

Les complications macroangiopathiques sont présentes dans 12% des cas.

b. Données paracliniques du groupe de patients DT2 sans metformine:

➤ HBA1C et GAJ :

La GAJ moyenne de ce groupe est de $3,50 \pm 0,94$ g/l (extrêmes : 0,65–4,8g/l).

L'HBA1C moyenne est de $9,71 \pm 2,05$ % (extrêmes : 7– 14 %)

➤ Vitamine B12

Le taux moyen de la vitamine B12 des patients DT2 sans Metformine est de $506,3 \pm 193,59$ pg/ml, le minimum étant de 179 pg/ml et le maximum étant de 1447 pg/ml. Alors qu'il est de $366,36 \pm 187,32$ pg/ml, chez les patients sous metformine (extrêmes 107 et 750 pg/ml) ,avec un p statistiquement significatif ($p < 0,0001$).

1 seul patient de ce groupe sans metformine a une carence en vitamine B12, aucun patient n'a un taux de vitamine B12 compris entre 200 et 300 pg/ml et 49 patients ont un taux de vitamine B12 supérieure à 300 pg/ml.

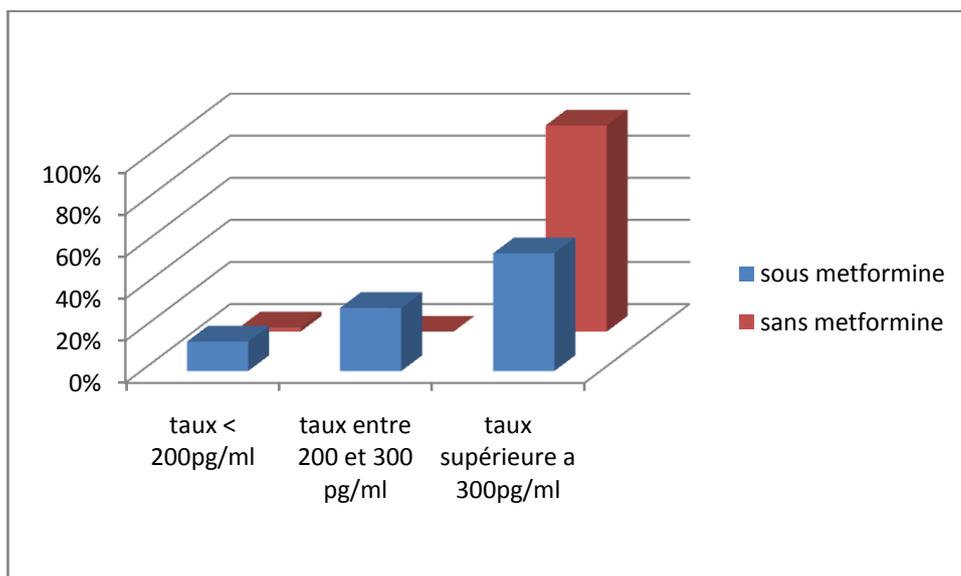


Figure 9 : Statut vitaminique B12 des deux groupes

➤ Hémoglobine

L'hémoglobine moyenne de notre population sans Metformine est de 13,29 ±1,5 g/dl, le minimum étant de 10 g/dl et le maximum étant de 16 g/dl.

➤ Type d'anémie :

On note une anémie hypochrome microcytaire chez 16% des patients de ce groupe, aucun cas d'anémie macrocytaire n'a été noté.

➤ Fer sérique et ferritinémie

Le fer sérique moyen de notre population sans Metformine est de 0.35 mg/l, le minimum étant de 0.33 mg/l et le maximum étant de 0,39 mg/l.

La ferritinémie moyenne de notre population sans Metformine est de 397±1ug/l, le minimum étant de 71ug/l et le maximum étant 471 ug/l.

➤ Créatinine:

La moyenne de la créatinine de notre population sous Metformine est de 11,04±11,22 mg/l, extrême allant de 5 mg/l à 82 mg/l.

➤ Bilan lipidique :

La moyenne de LDL de notre population sous Metformine est de 1,08±0,49g/l, extrême allant de 0,58 g/l à 1,83 g/l.

La moyenne de TG de notre population sous Metformine est de 1,05±0,45 g/l, extrême allant de 0,54 g/l à 2,8 g/l

3. Comparaison des paramètres cliniques et paracliniques des deux groupes :

	Groupe sous metformine (n=135)	Groupe sans metformine (n=50)	
Age (ans)	51,80 ± 17,51	42,60 ± 10,17	
Sex-ratio	1,72F/H.	1F/H.	
Habitudes toxiques :			
Tabac	- 8 % des cas	-5%	
alcool	- 6% des cas	-5%	
Durée évolution diabète (ans)	9,5 ± 5,2	10,07 ± 9,7	
IMC (kg/m ²)	27,8 ± 7,15	29,25 ± 7,1	
TT(cm)	de 97,4 ± 18,46	92,4 ± 15,46	
dyslipidémie	27%	20%	
HTA	41%	36%	
microangiopathies	34%	28%	
macroangiopathies	18%	12%	
GAJ (g/l)	1,86 ±0,17	3,50 ±0,94	
HBA1C	11,52±2,2 %	9,71±2,05 %	
Vitamine B12 (pg/ml)	366,36 ± 187,32	506,3 ± 193,59	P<0,0001
Hémoglobine	12,6 ±1,8	13,29 ±1,5	

(g/dl)		
Type d'anémie :		
Hypochrome microcytaire	5%	16%
Normo chrome normocytaire	18%	0%
macrocytaire	0,7%	0%
Fer sérique (mg/l)	0,58± 0.33	0.35
Ferritinémie (µg/l)	69.73±1	397±1

B. Etude analytique :

1. Corrélation entre le statut en vitamine B12 chez les patients DT2 sous Metformine et les paramètres cliniques :

Au cours de notre étude nous n'avons pas trouvé de corrélation statistiquement significative entre le taux de vitamine B12 et les paramètres cliniques notamment : le poids, l'IMC, le tour de taille (TT), l'âge, le sexe, la durée d'évolution du diabète et la dose de metformine.

	Vitamine B12 < 200pg/ml	Vitamine B12 200 et 300pg/ml	Vitamine B12 > 300pg/ml	(p)
Age (ans)	47,16+/-19,12	51,60+/-17,7	62+/-12,72	0,24
Sexe(F/H)	59,8%/40,2%	62,3%/37,7%	100%/0%	0,42
poids	68,67+/-7,6	67,69 +/-15,37	68,36+/-16,65	0,24
TT	95,23+/-20,16	95,76+/-15,08	100+/-5,65	0,92
IMC	26,23+/-6,81	25,76+/-4,68	26,10+/-6,28	0,92
Durée évolution DT2	9,16+/-7,41	12,4 +/-10	11,5+/-3,5	0,24
Dose metformine	1666,67+/-500	1821,43+/-316	1687,50+/-427,781	0,2

2. Corrélation entre le statut en vitamine B12 chez les patients DT2 sous Metformine et les paramètres paracliniques

On remarque que la glycémie à jeun, la ferritinémie ainsi que le type d'anémie ont une corrélation positive avec le taux de vitamine B12, tandis que l'HbA1c, la créatinine n'ont aucune corrélation avec le statut vitaminique.

	Vitamine B12 < 200pg/ml	Vitamine B12 200 et 300pg/ml	Vitamine B12 > 300pg/ml	(p)
GAJ	2,14+/-0,92	0,75+/-	2,07+/-0,94	0,01
HBA1C	10,36+/-10,94	10,94+/-2,05	11,5+/-2,12	0,59
Hémoglobine	12,91+/-1,8	12,35+/-2,12	12,9+/-1,9	0,27
Type d'anémie				
Normo normocytaire	88,9%	11,1%	0,0%	0,04
Hypo microcytaire	43,5%	53,2%	3,2%	
macrocytaire	42,9%	57,1%	0%	
Fer sérique	0,16+/-0,37	0,5+/-0,1	0,7+/-0,32	0,5
ferritine	83+/-28	376+/-228	234+/-123	0,01
créatinine	11,7+/-11,6	12,62+/-1,5	8,5+/-0,7	0,92
LDL	1,01+/-0,5	0,78+/-0,44	1,01+/-0,5	0,21

DISCUSSION

I. Discussion

1. Données épidémiologiques :

En 1969, Berchtold décrit pour la 1^{ère} fois une altération de l'absorption intestinale de la vitamine B12 induite par la metformine (60), et le premier cas de déficit en vitamine B12 due à une prise prolongée de metformine est rapporté en 1980 (61). Dans les décennies qui suivent, des études observationnelles et interventionnelles démontrent le lien de causalité entre la prise de metformine et le déficit en vitamine B12 (63,64,65), ces études rapportant une prévalence de 6 à 10 %. Dans certaines études, jusqu'à 30 % des patients traités par metformine présentent une altération de l'absorption de vitamine B12, et entre 14 et 30 % ont une baisse des taux sériques de vitamine B12 (66,67,68).

Dans une étude analytique réalisée à partir des résultats de l'enquête NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey) dans la population américaine, 1 621 sujets étaient diabétiques de type 2 et 575 d'entre eux (35,5 %) étaient sous metformine. La prévalence de la carence en vitamine B12 était de 5,8 % chez les diabétiques sous metformine contre 2,4 % chez ceux n'en recevant pas et 3,3 % chez les non diabétiques.

Sur le plan épidémiologique, plusieurs travaux rapportent un lien entre une baisse de la vitamine B12 sérique, compatible avec une carence avérée sur le plan biologique (vitamine B12 sérique < 200 pg/mL [ou 150 pmol/L]) et la prise de metformine au long cours les réserves de cobalamine B12 de l'organisme étant estimées entre cinq et dix ans selon les individus [69]. Dans le travail de Bauman et al. [70], la fréquence des déficits en cobalamine liés à la prise au long cours de metformine est évaluée à environ 6 % des patients traités par cette molécule.

Dans le cadre d'une cohorte strasbourgeoise de carences avérées en vitamine B12, on a noté une dizaine d'observations de ce type (sur plus de 200 patients suivis)

[71]. Dans un autre travail, Haeusler et al. Rapportent une prévalence de 18,7 % des carences en vitamine B12 [72].

Dans notre série la prévalence de la carence en vitamine B12 est de l'ordre de 14% dans le groupe sous metformine contre 2% dans le groupe sans metformine.

Une méta-analyse, publiée dans PLoS ONE, sur six études randomisées, montre que la concentration sérique de vitamine B12 est significativement plus basse dans le groupe metformine que dans les groupes placebo ou patients ayant des taux « limites » de vitamine B12, la dose de metformine est restée le facteur de risque indépendant le plus important : chaque accroissement d'un gramme de metformine par jour est associé à un OR de 2,88 (IC 95 % : 2,15 à 3,87) . L'effet dose-dépendant a été souligné dans une étude comparative japonaise ayant montré une relation inverse entre la dose de metformine et la concentration en vitamine B12 (P = 0,02)[73].

Cette méta-analyse montre également un lien direct entre la dose de metformine et la concentration sérique de vitamine B12, avec une baisse de la vitaminiémie B12 de :

- 37,99 pmol/L (95%CI : -57,44 à -18,54 pmol/L, p = 0,0001) par rapport au début du traitement dans le groupe recevant moins de 2 000 mg/j de metformine, - versus -78,62 pmol/L (95%CI : -106,37 à -50,86 pmol/L, p < 0,00001) dans le groupe prenant plus de 2 000 mg/j [73].

Dans notre étude nous n'avons pas noté de corrélation positive entre le taux de vitamine B12 et la dose de metformine, ni avec la durée d'évolution du diabète.

José María Calvo Romero [74] retrouve dans une population intéressant 114 patients DT2 (dont 81 sous Metformine, avec une durée moyenne de traitement de 43,5 mois et une dose moyenne de Metformine de 1779 mg/jour), des taux plasmatiques de vitamine B12 significativement bas chez les patients traités par Metformine ($393,5 \pm 184,2$ versus $509 \pm 176,4$ pg/ml, p = 0,0008). Sept patients

traités par la Metformine (8,6%) ont une carence en vitamine B12 (< 200 pg/ml), alors que dans l'autre groupe aucun patient ne présente de carence en vitamine B12(0%).

Pflipsen MC [75] note que les patients DT2 traités par Metformine ont des taux sériques de vitamine B12 plus bas que les patients DT2 sans Metformine (425,99 pg/ml vs 527,49 pg/ml; $p=0,012$). 79 patients DT2 traités par Metformine (40,5%) ont des taux sériques de vitamine B12 compris entre 99,79 et 349,05 pmol/l. Parmi eux, 43 patients ont de plus, une élévation de l'AMM ou de l'homocystéine.

a. Données physiopathologiques :

Sur le plan physiopathologique, le principal mécanisme impliqué dans la genèse des déficits et carences en vitamine B12 liée à la prise de metformine semble être une maldigestion des cobalamines alimentaires [76]. Néanmoins, il semble qu'en réalité une vraie malabsorption puisse également être incriminée, bien que plus rarement, dans la constitution de cette carence ; la metformine peut en effet provoquer des diarrhées [76]. Cette hypothèse nous semble toutefois à prendre avec prudence, car les troubles digestifs liés à la prise de metformine sont habituellement transitoires, et, s'ils persistent, conduisent à l'arrêt de cette molécule.

Le syndrome de maldigestion des cobalamines alimentaires a été individualisé dans les années quatre-vingt par plusieurs équipes [77, 78]. Ces dernières avaient observé, chez certains patients carencés en vitamine B12, une discordance entre les résultats de deux protocoles du test de Schilling :

- le test de Schilling modifié, utilisant la vitamine B12 radioactive liée à des protéines d'oeuf, de poulet, de saumon) était perturbé, le test de Schilling standard, utilisant de la vitamine B12 radioactive libre (non liée) était normal [8]. Il concerne tous les déficits ou carences en vitamine B12 liés aux étapes précédant l'absorption. À ce jour, c'est avant tout un diagnostic d'exclusion, les tests de Schilling étant indisponibles [77].

Plusieurs causes à cette maldigestion des cobalamines alimentaires ont été rapportées, dont les mieux étayées sont l'âge, l'atrophie gastrique, l'infection chronique à *Helicobacter pylori*, la prise d'inhibiteurs de la pompe à protons, et surtout celle de biguanides, notamment la metformine, qui nous intéresse tout particulièrement dans ce mémoire [77, 79, 80].

Ainsi, la metformine pourrait provoquer un déficit en vitamine B12 par le biais d'une pullulation microbienne intraluminaire intestinale ainsi qu'en interagissant avec les membranes cellulaires digestives, directement au niveau du récepteur du complexe facteur intrinsèque-vitamine B12 (cubiline), lors des mécanismes d'endocytose (calcium-dépendant) [76, 69].

Sur le plan théorique, notons que cette carence en vitamine B12 s'accompagne constamment d'une hyperhomocystéinémie, ce qui pourrait se révéler particulièrement délétère chez des sujets diabétiques et potentiellement athéromateux, et participer à la macroangiopathie via un dysfonctionnement des cellules endothéliales [76, 81].

2. Données cliniques :

✓ Diagnostic positif du déficit en vitamine B12

Auparavant et devant l'absence de consensus concernant l'indication de la surveillance du taux de vitamine B12 chez les diabétiques sous metformine, certains auteurs suggèrent de rechercher une carence en vitamine B12 chez tous les diabétiques sous metformine, présentant un des signes suivants (82) :

- *Présence d'anomalies morphologiques sur le frottis sanguin : macrocytose (VGM > 100 fL) avec ou sans anémie ; présence de polynucléaires neutrophiles de grande taille à noyaux polylobés (6 à 12 lobes) ;*
- *Manifestations neuropsychiatriques inexplicables, en particulier une démence, une ataxie sensorielle ou des paresthésies, et l'aggravation d'une neuropathie périphérique diabétique connue (83, 84) ;*

- Les sujets âgés sous metformine au long cours (3 à 4 ans), sous forte dose (2 g par jour), tout particulièrement en cas de présence d'une neuropathie périphérique, avec ou sans manifestations hématologiques de carence en vitamine B12, avec ou sans utilisation quotidienne de médicaments antiacides (antagonistes des récepteurs H2, inhibiteurs de la pompe à protons) (85, 86).

=> Mais actuellement et selon les recommandations de l'ADA 2017 le dosage de la vitamine B12 chez les patients DT2 traités par metformine est recommandé et spécialement chez les patients DT2 qui présentent une anémie ou une neuropathie périphérique (42).

✓ Dosage de la vitamine B12 et de ses métabolites

Le dosage de la vitamine B12 est l'examen de choix vu son faible coût. Cependant, la sensibilité et la spécificité de ce test sont limitées, et plusieurs dosages sont nécessaires pour confirmer le déficit. Par ailleurs, les intervalles de référence du taux de la vitamine B12 sont variables en fonction de la méthode de dosage utilisée (électro-chimiluminescence ou dosage radio-immunologique) (87, 88).

Pour certains auteurs, le diagnostic de déficit en vitamine B12 est peu probable lorsque le taux est > 300 pg/mL (> 221 pmol/L) et possible lorsque le taux se situe entre 200 et 300 pg/mL (entre 148 et 221 pmol/L) ; un taux < 200 pg/mL (< 148 pmol/L) est considéré comme un taux bas, compatible avec un déficit en vitamine B12 (88, 89, 90). D'autres auteurs considèrent qu'une carence en vitamine B12 ne peut être exclue chez les sujets ayant un taux de vitamine B12 à la limite inférieure, c'est-à-dire entre 156 et 400 pmol/L.

Les signes cliniques de la carence en vitamine B12 peuvent se voir chez des sujets ayant un taux de vitamine B12 dans l'intervalle de référence (> 156 pmol/L) (19). En outre, les sujets ayant des concentrations normales de vitamine B12 peuvent avoir des concentrations élevées d'acide méthylmalonique et d'homocystéine, et des concentrations basses d'holotranscobalamine, traduisant un déficit en vitamine B12

intracellulaire, qui est la forme métaboliquement active (19). La baisse de la concentration sérique d'holotranscobalamine est le marqueur le plus précoce d'une carence et traduit l'épuisement des réserves en vitamine B12 dans l'organisme (91).

Les auteurs suggèrent de réserver le dosage de l'homocystéine sérique et de l'acide méthylmalonique à des situations de forte suspicion de carence en vitamine B12 (en particulier si la concentration de vitamine B12 est dans les limites de la normale) : anémie inexpliquée, symptômes neuropsychiatriques inexpliqués, manifestations gastro-intestinales (stomatite, anorexie, diarrhée), ou troubles gastro-intestinaux plus sévères (maladie de Crohn, infection par *H. pylori*, résection de l'estomac), personnes âgées, végétariens (91).

Par ailleurs, d'autres facteurs peuvent influencer les niveaux de l'homocystéine sérique et de l'acide méthylmalonique.

L'élévation de la concentration sérique en homocystéine se voit en cas d'hyperhomocystéinémie génétique, de carence nutritionnelle ou d'insuffisance en cofacteurs de la vitamine B6 et des folates, en cas d'insuffisance rénale chronique, d'hypothyroïdie, de prise médicamenteuse (fibrates, acide nicotinique, méthotrexate, etc.) et de consommation de tabac, de café ou d'alcool (28). Les niveaux sériques d'acide méthylmalonique sont élevés en cas d'insuffisance rénale et d'hypovolémie. Enfin, une antibiothérapie entraînant des troubles de la flore intestinale peut diminuer le taux d'acide méthylmalonique sérique (93).

Le dosage de l'acide folique est souhaitable afin d'éliminer un déficit associé. Une concentration en folates sériques > 4 ng/mL permet d'exclure un déficit ; en l'absence d'anorexie ou de jeûne récent, un taux sérique < 2 ng/mL permet de poser le diagnostic de déficit en folates. Le dosage d'acide folique érythrocytaire doit être réservé aux patients ayant des valeurs limites (folates sériques entre 2 et 4 ng/mL), ou en cas de suspicion d'un déficit combiné en vitamine B12 et en folates, ou encore

lorsque le dosage sérique de folates est ininterprétable (anorexie récente ou jeûne) (88).

Dans notre série nous n'avons pas réalisé de dosage de l'acide folique.

✓ Interprétation des résultats des tests biologiques (Figure 10)

Lorsque les concentrations sériques de folates et de vitamine B12 sont, respectivement, > 4 ng/mL et > 300 pg/mL, une carence des deux vitamines est peu probable et aucun test biologique supplémentaire n'est nécessaire (88, 90).

Si les deux tests ne sont pas dans les normes ci-dessus, une évaluation des métabolites (acide méthylmalonique et homocystéine) devrait être réalisée :

- Si les résultats des deux tests sont normaux (acide méthylmalonique $< 0,28$ mmol/L et homocystéine < 15 mmol/L), une double carence est exclue.
- Si les concentrations des deux métabolites sont augmentées, la carence en vitamine B12 est confirmée, avec une sensibilité de 94 % et une spécificité de 99 % (29). Du fait des variabilités inter- et intra-individuelles, il est conseillé de refaire les dosages si les résultats sont peu élevés (82).

Un dosage d'acide folique érythrocytaire peut également être utile, car une augmentation des taux d'acide méthylmalonique et d'homocystéine ne permet pas d'exclure une carence concomitante en folates.

- Si le taux d'acide méthylmalonique est normal et l'homocystéinémie élevée, la carence en acide folique est probable, avec une sensibilité de 86 % et une spécificité et 99 % (94), alors que la carence en vitamine B 12 peut être exclue.

Au total, ces données montent l'intérêt du dosage de l'acide méthylmalonique et de l'homocystéine ; elles montrent également la plus grande sensibilité d'une élévation des concentrations sériques de ces métabolites dans le diagnostic du déficit en vitamine B12 par rapport à celui de la carence en folates.

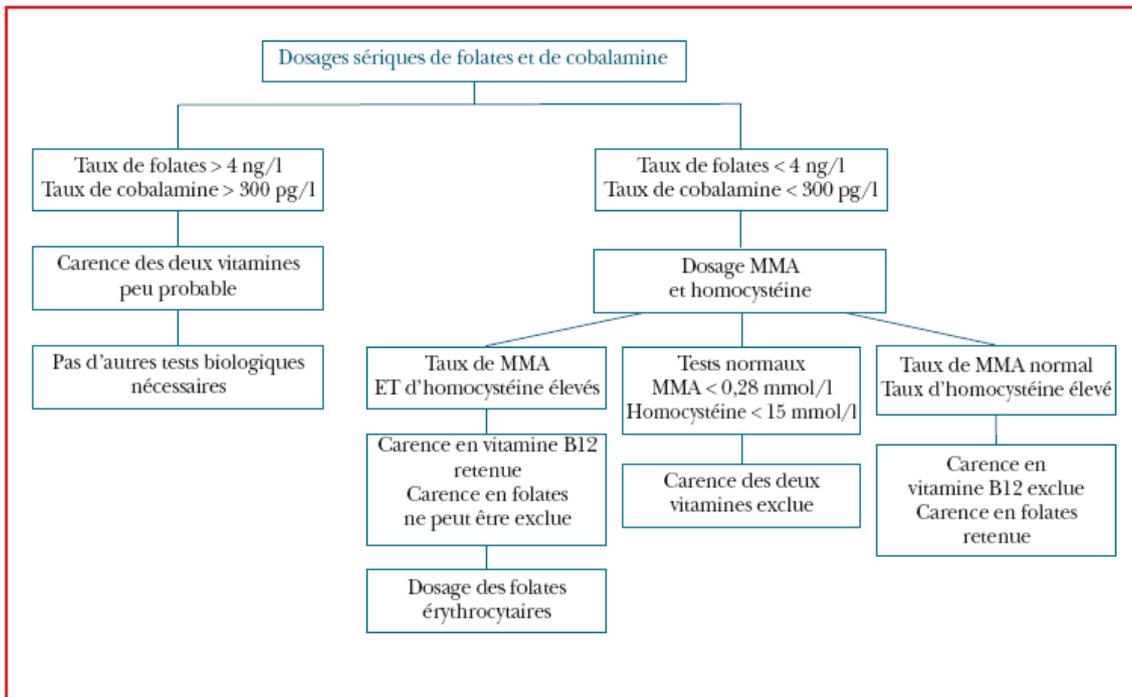


Fig. 10 : Interprétation des dosages de vitamine B12, de ses métabolites et des folates (90).

MMA : acide méthylmalonique ; Htc : homocystéine.

Aucun travail prospectif n'est à ce jour disponible dans la littérature sur le retentissement clinique de ces carences, sinon une étude portant sur dix patients présentant une carence avérée en vitamine B12 liée à la prise de metformine au long cours [76]. L'âge médian de ces patients était de 69 ans (52–84) et le rapport H/F de 0,68. Les patients étaient traitées par metformine à la posologie moyenne de $2\,000 \pm 450$ mg/j (1 400–2 550 mg/j), depuis en moyenne $9 \pm 3,4$ ans (3–10). Les principales manifestations cliniques incluaient : asthénie (n = 3), polynévrite sensitive (n = 3) et oedèmes des membres inférieurs (n = 2). Les concentrations sériques moyennes en vitamine B12 et homocystéine étaient respectivement de 148 ± 38 pg/mL (92–200) et de $15,5 \pm 6$ pmol/L (13–22). Des anomalies de l'hémogramme étaient notées chez tous les patients :

Anémie modérée (n = 9), thrombopénie (n = 2) et leucopénie (n = 1). Le taux moyen d'hémoglobine était de 113 ± 35 g/L (79–150) et le volume globulaire moyen de $92,2 \pm 14,6$ fL (76–116).

Dans notre série l'hémoglobine moyenne de notre population sous Metformine est de $12,6 \pm 1,8$ g/dl, le minimum étant de 6 g/dl et le maximum étant de 16 g/dl. On a noté une anémie normochrome normocytaire chez 5% des patients de ce groupe. Une anémie hypochrome microcytaire chez 18% des patients. Une anémie macrocytaire chez 0,7% des cas.

3. Prise en charge thérapeutique :

Il n'y a pas de recommandations claires concernant la prise en charge du déficit en vitamine B12 induit par la metformine. Plusieurs auteurs proposent l'arrêt de la metformine (remplacé par un autre antidiabétique) (95) et l'administration de vitamine B12 orale ou injectable afin de normaliser les éventuelles anomalies hématologiques et prévenir la progression des symptômes cliniques, en particulier neuropsychiatriques (60, 61, 65). La voie parentérale est à privilégier en cas d'atteinte neurologique du fait du risque d'une irréversibilité des lésions. La dose de vitamine B12 parentérale proposée est de 1 mg par jour pendant une semaine, puis de 1 mg par semaine pendant quatre semaines (96). La symptomatologie neurologique s'améliore lentement sur plusieurs mois. Le degré d'amélioration est inversement corrélé à l'étendue et la durée de l'atteinte. La durée de supplémentation dépend de l'éviction du facteur déclenchant et, de ce fait, si le traitement par metformine est maintenu, une substitution appropriée par vitamine B12 doit également être maintenue.

Dans une revue Cochrane, les patients ayant reçu des doses élevées de vitamine B12 par voie orale (1 à 2 mg par jour) pendant 90 à 120 jours, avaient une amélioration des taux sériques de vitamine B12 similaire aux patients ayant reçu un traitement par voie parentérale, et ce indépendamment de l'étiologie du déficit en

vitamine B12 (97). Compte tenu de son faible coût et de sa facilité, la voie orale pourrait être le traitement de choix en cas d'anémie mégalo-blastique : la réticulocytose se produit généralement au bout de quelques jours et le taux d'hématocrite se normalise généralement en quelques semaines ; en revanche, un traitement par voie parentérale est nécessaire dans les atteintes neurologiques avancées (98, 99).

Une étude menée aux États-Unis entre 1999 et 2006 a montré que l'administration orale de vitamine B12 chez des patients sous metformine au long cours ne permettait pas de corriger les niveaux sériques de cette vitamine (65). L'administration de vitamine B12 par voie orale n'a pas encore été entièrement validée en pratique clinique.

En cas de déficit infra-clinique en vitamine B12, il est suggéré, soit d'opter pour un traitement à la dose de 1 mg/j avec monitoring des marqueurs métaboliques (homocystéine et acide méthylmalonique), particulièrement chez les populations à risque élevé de carence clinique en vitamine B12, soit de proposer une surveillance clinique avec réévaluation périodique du taux de vitamine B12, d'homocystéine et d'acide méthylmalonique (97, 100).

En cas de déficit concomitant en acide folique, la supplémentation ne doit pas précéder celle de la vitamine B12. En effet, l'acide folique peut corriger partiellement les anomalies hématologiques de la carence en vitamine B12, mais aggrave les manifestations neurologiques par un mécanisme mal connu (101). La supplémentation en acide folique à la dose de 5 mg/j pendant huit semaines chez des hommes en surpoids et obèses, diabétiques de type 2 recevant de fortes doses de metformine (au moins 1,5 g par jour), a conduit à une augmentation significative des taux de folates sériques et de vitamine B12, et à une diminution de l'homocystéinémie, de la glycémie à jeun, de l'insulinémie et du HOMA (*HOMeostasis Model Assessment*) (102). Une autre étude a montré que le traitement par la

metformine augmentait l'homocystéinémie chez des diabétiques de type 2, en particulier chez les sujets de sexe masculin, et que l'administration concomitante d'acide folique empêchait ce processus (103). Ces résultats semblent prometteurs quant à l'effet préventif de la supplémentation en acide folique chez les diabétiques sous metformine, mais doivent être confirmés par des études de suivi au long cours.

En outre, la prescription d'acide folique doit se faire de manière prudente et en respectant les indications, du fait notamment d'une possible association au développement de certaines tumeurs comme le cancer de la prostate (103, 104).

Depuis 1995, tous les essais cliniques se sont accordés pour confirmer la non-infériorité de la voie orale par rapport à la voie parentérale au cours du syndrome de maldigestion des cobalamines alimentaires, avec une normalisation des différents désordres hématologiques et une régression des signes cliniques notamment neuropsychiatriques chez la majorité des patients [106]. Le *tableau 3* reprend les résultats des différents travaux strasbourgeois menés avec de la vitamine B12 administrée par voie orale sous forme de cyanocobalamine dans le cadre du syndrome de maldigestion des cobalamines alimentaires, ce dernier incluant des patients sous metformine au long cours [106]. Sur le plan pratique, les posologies utilisées actuellement sont de 125 à 1 000 µg/j de cyanocobalamine comme dose d'attaque et de 125 à 500 µg/j comme dose d'entretien [76, 106]. La durée du traitement substitutif correspondrait à la durée nécessaire pour traiter la cause de la maldigestion des cobalamines alimentaires quand celle-ci a pu être identifiée et traitée radicalement.

Dans les carences en vitamine B12 liées à la prise de metformine, Bauman *et al.* ont montré qu'on pouvait corriger la carence en vitamine B12 liée à la prise de metformine par un apport *per os* de calcium [69].

Tableau 4 : Études strasbourgeoises sur l'intérêt d'un traitement par vitamine B12 administré par voie orale dans le cadre du syndrome de maldigestion des cobalamines alimentaires.

Type d'étude/nombre de sujets/population concernée	Modalités thérapeutiques	Principaux résultats
<ul style="list-style-type: none"> • Étude prospective ouverte • n = 10 sujets • Carence en vitamine B12 documentée en rapport avec un syndrome de NDB12PP 	Cyanocobalamine administrée par voie orale à la posologie moyenne de 650 µg/j pendant 3 mois	<ul style="list-style-type: none"> • Normalisation de la vitamine B12 sérique chez 80 % des sujets • Élévation significative de l'Hb de 1,9 g/dL et diminution significative du VGM de 7,8 fL • Disparition des anomalies cliniques chez 20 % des sujets
<ul style="list-style-type: none"> • Étude prospective ouverte • n = 30 • Carence en vitamine B12 documentée en rapport avec un syndrome de NDB12PP 	Cyanocobalamine administrée par voie orale à la posologie de 250 à 1 000 µg/j pendant 1 mois	<ul style="list-style-type: none"> • Normalisation de la vitamine B12 sérique chez 87 % des sujets • Élévation significative de l'Hb de 0,6 g/dL et diminution significative du VGM de 3 fL ; correction de l'Hb et du VGM chez 54 % et 100 % des sujets, respectivement • Mise en évidence d'un effet dose (posologie > 500 µg/j plus efficace)
<ul style="list-style-type: none"> • Étude prospective ouverte • n = 30 • Carence en vitamine B12 en rapport avec un syndrome de NDB12PP 	Cyanocobalamine administrée par voie orale à la posologie de 125 à 1 000 µg/j pendant 1 semaine	<ul style="list-style-type: none"> • Normalisation de la vitamine B12 sérique chez les sujets traités à une posologie > 250 µg/j ; mise en évidence d'un effet dose (posologie > 500 µg/j plus efficace)

Nos patients présentant une carence en vitamine B12 sous metformine (tous asymptomatiques) ont été adressés en consultation de médecine interne pour mise en route d'une substitution en vitamine B12.

4. Prévention :

La prévention d'une carence en vitamine B12 chez les patients diabétiques recevant de la metformine à long terme, passe par un dépistage répété du déficit. Il est recommandé de réaliser les tests de base à l'initiation du traitement par la metformine et à des intervalles réguliers ne dépassant pas 1 à 2 ans ; la baisse du taux de vitamine B12 sérique peut se voir dès le 3^{ème} mois de traitement par la metformine (83, 82, 107). Cependant, une telle surveillance (taux sériques de vitamine B12, d'homocystéinémie et d'acide méthylmalonique) est difficile à réaliser en pratique courante chez tous les patients diabétiques et son rapport coût-efficacité doit également être pris en considération(108).

CONCLUSION

Les biguanides, dont la metformine, peuvent être associés à des déficits et à des carences en vitamine B12 – voire les générer – chez les patients diabétiques. Sur le plan épidémiologique, la fréquence rapportée de cette association est de 5 à 20 % ce qui rejoint la prévalence trouvée dans notre série (14%). Ce lien semble s'expliquer par un syndrome de maldigestion des cobalamines alimentaires.

Le diagnostic précoce se basant sur des arguments anamnestiques et cliniques associés à des dosages biologiques semble d'un grand intérêt, d'où la nécessité de l'élaboration d'une stratégie de prise en charge et de dépistage de ce déficit chez les diabétiques sous metformine.

RESUME

Introduction :

La metformine est le traitement de première ligne chez les patients diabétiques de type 2, du fait de son efficacité prouvée. Cependant, elle est responsable d'un déficit en vitamine B12 de mécanisme encore mal connu. L'objectif de notre étude est d'évaluer le statut en vitamine B12 chez les patients diabétiques traités par metformine comparativement à un groupe témoin.

Matériel et méthodes :

Nous avons réalisé une étude rétrospective comparative menée chez 185 patients diabétiques hospitalisés au service d'Endocrinologie -Diabétologie du CHU HASSAN de FES. On a identifié deux groupes : Un groupe sous metformine (135 patients) contre un groupe témoin (50 patients sans metformine).

Résultats :

L'âge moyen de la population sous metformine est de $51,80 \pm 17,51$ ans avec des extrêmes allant de 30 à 80 ans. On note une prédominance féminine avec un sex-ratio de 1,72F/H.

La durée moyenne du diabète dans notre population est de $9,5 \pm 5,2$ ans (Extrêmes 2mois à 20 ans).

La dose moyenne de Metformine dans notre population est 1660 ± 446 mg/j, le minimum étant 1000 mg/j et le maximum étant 2500 mg/j.

La GAJ moyenne de ce groupe est de $1,86 \pm 0,17$ g/l (extrêmes : 0,7-3g/l).

L'HBA1C moyenne est de $11,52 \pm 2,2$ % (extrêmes :7- 17 %)

Le taux moyen de la vitamine B12 des patients DT2 sans Metformine est de $506,3 \pm 193,59$ pg/ml, le minimum étant de 179 pg/ml et le maximum étant de 1447 pg/ml. Alors qu'il de $366,36 \pm 187,32$ pg/ml, chez les patients sous metformine (extremes107 et 750 pg/ml).avec un p statistiquement significatif ($p < 0,0001$).

1 seul patient de ce groupe sans metformine a une carence en vitamine B12, aucun patient n'a un taux de vitamine B12 compris entre 200 et 300 pg/ml et 49 patients ont un taux de vitamine B12 supérieure a 300 pg/ml.

Conclusion :

A l'issue de notre étude, le risque de déficit en vitamine B12 (< 200 pg/ml) est plus important dans le groupe de patients diabétiques sous metformine que dans le groupe témoin (sans metformine). D'ou la nécessité de l'élaboration d'une stratégie de prise en charge et de dépistage de ce déficit chez les diabétiques sous metformine.

RÉFÉRENCES

- [1] Ting RZ-W, et al. Risk factors of vitamin B12 deficiency in patients receiving metformin. *Arch Intern Med* 2006;166:1975-9.
- [2] Nygard O, et al. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1997;337:230-6.
- [3]. Zittoun J. Decouverte de la vitamine B12. *Rev Prat* 2000;50:473-5.
- [4] Andrès E, Perrin AE, Kraemer JP, Goichot B, Demengeat C, Ruellan A. Anémie par carence en vitamine B12 chez le sujet âgé de plus de 75 ans: nouveaux concepts. A propos de 20 observations. *Rev Med Interne* 2000;21:946-54.
- [5]. Zittoun J, Zittoun R. Modern clinical testing strategies in cobalamin and folate deficiency. *Semin Hematol* 1999;36:35-46.
- [6]. Klee GG. Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B12 and folate. *Clin Chem* 2000;46:1277-83.
- [7] Snow CF. Laboratory diagnosis of vitamin B12 and folate deficiency: a guide for the primary care physician. *Arch Intern Med* 1999;159:1289-98.
- [8] Andrès E, Affenberger S, Vinzio S, Noël E, Kaltenbach G, Schlienger JL. Carences en vitamine B12 chez l'adulte: étiologies, manifestations cliniques et traitement. *Rev Med Interne* 2005;26:938-46.
- [9] Rufenacht P, Mach-Pascual S, Iten A. Hypovitaminose B12: challenge diagnostique et thérapeutique. *Rev Med Suisse* 2008;4:2212-4, 16-7.
- [10] Andrès E, Loukili NH, Noël E, Kaltenbach G, Abdelgheni MB, Perrin AE. Vitamin B12 (cobalamin) deficiency in elderly patients. *CMAJ* 2004;171:251-9.
- [11] Nicolas JP, Guéant JL. Absorption, distribution et excrétion de la vitamine B12. *Ann Gastroenterol Hepatol* 1994;30:270-6.
- [12] Serraj K, Mecili M, Andrès E. Signes et symptômes de la carence en vitamine B12: revue critique de la littérature. *Med Thérap* 2010;16:13-20.

- [13] Federici L, Henoun Loukili N, Zimmer J, Affenberger S, Maloysel F, Andrès E. Manifestations hématologiques de la carence en vitamine B12: données personnelles et revue de la littérature. *Rev Med Interne* 2007;28:225–31.
- [14] Koury MJ, Ponka P. New insights into erythropoiesis: the role of folate, vitamin B12, and iron. *Annu Rev Nutr* 2004;24:105–31.
- [15] Scalabrino G, Peracchi M. New insights into the pathophysiology of cobalamin deficiency. *Trends Mol Med* 2006;12:247–54.
- [16] Serraj K, Mecili M, Andrès E. Signes et symptômes de la carence en vitamine B12: revue critique de la littérature. *Med Thérap* 2010;16:13–20.
- [17] Andrès E, Renaux V, Campos F, Oprea C, Sonntag-Fohrer C, Warter JM. Troubles neurologiques isolés révélant une maladie de Biermer chez le sujet jeune. *Rev Med Interne* 2001;22:389–93.
- [18] Scott JM, Weir DG. The methyl folate trap. A physiological response in man to prevent methyl group deficiency in kwashiorkor (methionine deficiency) and an explanation for folic-acid induced exacerbation of subacute combined degeneration in pernicious anaemia. *Lancet* 1981;2:337–40.
- [19] Scalabrino G, Veber D, Mutti E. Experimental and clinical evidence of the role of cytokines and growth factors in the pathogenesis of acquired cobalamin-deficient leukoneuropathy. *Brain Res Rev* 2008;59:42–54.
- [20] Solomon LR. Disorders of cobalamin (vitamin B12) metabolism: emerging concepts in pathophysiology, diagnosis and treatment. *Blood Rev* 2007;21:113–30.
- [21] Scalabrino G, Veber D, Mutti E. New pathogenesis of the cobalamin-deficient neuropathy. *Med Secoli* 2007;19:9–18.
- [22] Pautas E, Chérin P, De Jaeger C, Godeau P. Carence en vitamine B12 chez le sujet âgé. *Presse Med* 1999;28:1767–70.

- [23] Carmel R. Malabsorption of food cobalamin. *Baillière's Clin Haematol* 1995;8:639–55.
- [24] Andrès E, Perrin AE, Demangeat C, Kurtz JE, Vinzio S, Grunenberger F. The syndrome of food–cobalamin malabsorption revisited in a department of internal medicine. A monocentric cohort study of 80 patients. *Eur J Intern Med* 2003;14:221–26.
- [25] Carmel R, Aurangzeb I, Qian D. Associations of food–cobalamin malabsorption with ethnic origin, age, *Helicobacter pylori* infection, and serum markers of gastritis. *Am J Gastroenterol* 2001;96:63–70.
- [26] de Jager J, Kooy A, Lehert P. Long term treatment with metformin in patients with type 2 diabetes and risk of vitamin B12 deficiency: randomised placebo controlled trial. *Br Med J* 2010;340:c2181.
- [27] Andrès E, Noël E, Abdelghani MB. Vitamin B 12 deficiency associated with chronic acid suppression therapy. *Ann Pharmacother* 2003;37:1730.
- [28] Dali–Youcef N, Andrès E. An update on cobalamin deficiency in adults. *Q J Med* 2009;102:17–28.
- [29] Howden CW. Vitamin B12 levels during prolonged treatment with proton pump inhibitors. *J Clin Gastroenterol* 2000;30:29–33.
- [30] Wolters M, Strohle A, Hahn A. Cobalamin: a critical vitamin in the elderly. *Prev Med* 2004;39:1256–66.
- [31] Carmel R, Aurangzeb I, Qian D. Associations of food–cobalamin malabsorption with ethnic origin, age, *Helicobacter pylori* infection, and serum markers of gastritis. *Am J Gastroenterol* 2001;96:63–70.
- [32] Andrès E, Goichot B, Perrin AE, Vinzio S, Demangeat C, Schlienger JL. Sjogren's syndrome: a potential new aetiology of mild cobalamin deficiency. *Rheumatology* 2001;40:1196–7.

- [33] Andrès E, Goichot B, Schlienger JL. Food cobalamin malabsorption: a usual cause of vitamin B12 deficiency. *Arch Intern Med* 2000;160:2061–2.
- [34] Dharmarajan TS, Adiga GU, Norkus EP. Vitamin B12 deficiency. Recognizing subtle symptoms in older adults. *Geriatrics* 2003;58:30–4, 37–8.
- [35] Markle HV. Cobalamin. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1996;33:247–356.
- [36] Ting RZ, Szeto CC, Chan MH, Ma KK, Chow KM. Risk factors of vitamin B12 deficiency in patients receiving metformin. *Arch Intern Med* 2006;166:1975–9.
- [37] Bauman WA, Shaw S, Jayatilleke E, Spungen AM, Herbert V. Increased intake of calcium reverses vitamin B12 malabsorption induced by metformin. *Diabetes Care* 2000;23:1227–31.
- [38] Herbert V. Staging vitamin B-12 (cobalamin) status in vegetarians. *Am J Clin Nutr* 1994;59:1213S–22S.
- [39] Guillaume Le Guenno Conduite à tenir devant une carence en vitamine B12 (cobalamine), EMC, *Nutrition clinique et métabolisme*, NUTCLI–2503;fev2014
- [40] Stabler SP. Vitamin B12 deficiency. *N Engl J Med* 2013;368:2041–2.
- [41] UK prospective diabetes study (UKPDS) group. Intensive bloodglucose control with sulfonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998;352:837–53.
- [42] American diabète association (ADA) STANDARDS OF MEDICAL CARE IN DIABETES 2017. ISSN 0149–599
- [43] Bailey CJ, Turner RC. Metformin. *N Engl J Med* 1996;334:574–9.
- [44] Kirpichnikov D, McFarlane SI, Sowers JR. Metformin: an update. *Ann Intern Med* 2002;137:25–33.

- [45] Hawley SA, Gadalla AE, Olsen GS, Hardie DG. The antidiabetic drug metformin activates the AMP-activated protein kinase cascade via an adenine nucleotide-independent mechanism. *Diabetes* 2002;51: 2420-5.
- [46] Musi N, Hirshman MF, Nygren J, Svanfeldt M, Bavenholm P, Rooyackers O, et al. Metformin increases AMP-activated protein kinase activity in skeletal muscle of subjects with type 2 diabetes. *Diabetes* 2002;51:2074-81.
- [47] Zhou G, Myers R, Li Y, Chen Y, Shen X, Fenyk-Melody, et al. Role of AMP-activated protein kinase in mechanism of metformin action. *J Clin Invest* 2001;108:1167-74.
- [48] Goodarzi MO, Bryer-Ash M. Metformin revisited: re-evaluation of its properties and role in the pharmacopoeia of modern antidiabetic agents. *Diabetes Obes Metab* 2005;7:654-65.
- [49] Uwaifo GI, Ratner RE. Differential effects of oral hypoglycemic agents on glucose control and cardiovascular risk. *Am J Cardiol* 2007; 99(suppl):51B-67B.
- [50] Bodmer M, Meier C, Krähenbühl S, Jick SS, Meier CR. Metformin, sulfonylureas, or other antidiabetes drugs and the risk of lactic acidosis or hypoglycemia. A nested case-control analysis. *Diabetes Care* 2008; 31:2986-91.
- [51] Salpeter S, Greyber E, Pasternak G, Salpeter E. Risk of fatal and nonfatal lactic acidosis with metformin use in type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2006;(1):CD002967.
- [52] Scale T, Harvey JN. Wrexham Academic Unit. Diabetes, metformin and lactic acidosis. *Clin Endocrinol* 2010 doi: 10.1111/j.1365- 2265.2010.03891.x.
- [53] Traitement médicamenteux du diabète de type 2 (actualisation). Recommandation de bonne pratique. *Diabetes Metab* 2007;33(suppl1): 1S1-1S6.

- [54] Lalau JD, Race JM. Lactic acidosis in metformin therapy: searching for a link with metformin in reports of “metformin associated lactic acidosis”. *Diabetes Obes Metab* 2001;3:195–201.
- [55] TahraniAA,Varughese GI, Scarpello JH, HannaFW. Metformin, heart failure, and lactic acidosis: is metformin absolutely contraindicated? *BMJ* 2007;335:508–12.
- [56] Paglia MJ, Coustan DR. The use of oral antidiabetic medications in gestational diabetes mellitus. *Curr Diab Rep* 2009;9:287–90.
- [57] The Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med* 2002;346:393–403.
- [58] Desilets AR, Dhakal–Karki S, Dunican KC. Role of metformin for weight management in patients without type 2 diabetes. *Ann Pharmacother* 2008;42:817–26.
- [59] *L. Duranteau et al. Consensus hyperandrogénies, Annales d’Endocrinologie 71 (2010) e27-e32*
- [60] Berchtold P, Bolli P, Arbenz U, Keiser G. Disturbance of intestinal absorption following metformin therapy (observations on the mode of action of biguanides). *Diabetologia* 1969 ; 5 (6) : 405–12.
- [61] Callaghan TS, Hadden DR, Tomkin GH. Megaloblastic anaemia due to vitamin B12 malabsorption associated with long–term metformin treatment. *Br Med J* 1980 ; 280 (6225) : 1214–5.
- [62] Tomkin GH, Hadden DR, Weaver JA, Montgomery DA. Vitamin–B12 status of patients on long–term metformin therapy. *Br Med J* 1971 ; 2 (5763) : 685–7.

- [63] de Jager J, Kooy A, Lehert P, Wulffelé MG, van der Kolk J, Bets D, Verburg J, Donker AJ, Stehouwer CD. Long term treatment with metformin in patients with type 2 diabetes and risk of vitamin B-12 deficiency: randomised placebo controlled trial. *BMJ* 2010 ; 340 : c2181.
- [64] Sahin M, Tutuncu NB, Ertugrul D, Tanaci N, Guvener ND. Effects of metformin or rosiglitazone on serum concentrations of homocysteine, folate, and vitamin B12 in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 2007 ; 21 (2) : 118-23.
- [65] Reinstatler L, Qi YP, Williamson RS, Garn JV, Oakley Jr GP. Association of biochemical B12 deficiency with metformin therapy and vitamin B12 supplements: the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2006. *Diabetes Care* 2012 ; 35 (2) : 327-33.
- [66] Adams JF, Clark JS, Ireland JT, Kesson CM, Watson WS. Malabsorption of vitamin B12 and intrinsic factor secretion during biguanide therapy. *Diabetologia* 1983 ; 24 (1) : 16-8.
- [67] Wulffelé MG, Kooy A, Lehert P, Bets D, Ogterop JC, Borger van der Burg B, Donker AJ, Stehouwer CD. Effects of short-term treatment with metformin on serum concentrations of homocysteine, folate and vitamin B12 in type 2 diabetes mellitus: a randomized, placebo-controlled trial. *J Intern Med* 2003 ; 254 (5) : 455-63.
- [68] DeFronzo RA, Goodman AM. Efficacy of metformin in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. The Multicenter Metformin Study Group. *N Engl J Med* 1995 ; 333 (9) : 541-9.
- [69] Andrès E, Noel E, Goichot B. Metformin-associated vitamin B12 deficiency. *Arch Intern Med* 2002 ; 162 : 2251-2.

- [70] Bauman WA, Shaw S, Javatileke E, Spungen AM, Herbert V. Increased intake of calcium reverses vitamin B12 malabsorption induced by metformin. *Diabetes Care* 2000 ; 23 : 1227–31.
- [71] Andrès E, Loukili NH, Noel E, *et al.* Vitamin B12 (cobalamin) deficiency in elderly patients. *CMAJ* 2004 ; 171 : 251–9.
- [72] Haeusler S, Parry–Strong A, Krebs JD. The prevalence of low vitamin B12 status in people with type 2 diabetes receiving metformin therapy in New Zealand—a clinical audit. *NZ Med J* 2014 ; 127 : 8–16.
- [73] Liu Q, Li S, Quan H, Li J. Vitamin B12 Status in Metformin Treated Patients: Systematic Review. *PLoS ONE* 2014 ; 9 : e100379. doi: 10.1371/journal.pone.0100379.
- [74] José María Calvo Romero *, José Manuel Ramiro Lozano Servicio de Medicina Interna, Hospital Ciudad de Coria, Coria, Cáceres; Vitamin B12 in type 2 diabetic patients treated with metformin, Spain *ENDOCRINOLOGÍA Y NUTRICIÓN* 2012;59(8):487---490
- [75] Pflipsen MC, Oh RC, Saguil A, Seehusen DA, Topolski R; The prevalence of vitamin B(12) deficiency in patients with type 2 diabetes: a cross–sectional study. *J Am Board Fam Med.* 2009; 22(5):528–34
- [76] Gilligan MA. Metformin and vitamin B12 deficiency. *Arch Intern Med* 2002 ; 162 : 484–5.
- [77] Serraj K, Vogel T, Federici L, *et al.* Le syndrome de nondissociation de la vitamine B12 de ses protéines porteuses ou de mal digestion des cobalamines alimentaires. *Presse Med* 2008 ; 38 : 55–62.
- [78] Doscherholmen A, Swain WR. Impaired assimilation of egg Co57 vitamin B12 in patients with hypochlorhydria and after gastric resection. *Gastroenterology* 1973 ; 64 : 913–9.

- [79] Andrès E, Affenberger S, Vinzio S, *et al.* Food–cobalamin malabsorption in elderly patients: clinical manifestations and treatment. *Am J Med* 2005 ; 118 : 1154–9.
- [80] Carmel R. Malabsorption of food cobalamin. *Baillieres Clin Haematol* 1995 ; 8 : 639–55.
- [81] Sato Y, Ouchi K, Funase Y, Yamauchi K, Aizawa T. Relationship between metformin use, vitamin B12 deficiency, hyperhomocysteinemia and vascular complications in patients with type 2 diabetes. *Endocr J* 2013 ; 60 : 1275–80.
- [82] Mazokopakis EE, Starakis IK. Recommendations for diagnosis and management of metformin–induced vitamin B12 (Cbl) deficiency. *Diabetes Res Clin Pract* 2012 ; 97 (3) : 359–67.
- [83] Wile DJ, Toth C. Association of metformin, elevated homocysteine, and methylmalonic acid levels and clinically worsened diabetic peripheral neuropathy. *Diabetes Care* 2010 ; 33 (1) : 156–61.
- [84] Bell DS. Metformin–induced vitamin B12 deficiency presenting as a peripheral neuropathy. *South Med J* 2010 ; 103 (3) : 265–7.
- [85] Qureshi S, Ainsworth A, Winocour P. Metformin therapy and assessment for vitamin B12 deficiency: is it necessary? *Practical Diabetes* 2011 ; 28 : 302–4.
- [86] Ruscin JM, Page RL 2nd, Valuck RJ. Vitamin B(12) deficiency associated with histamine(2)–receptor antagonists and a proton–pump inhibitor. *Ann Pharmacother* 2002 ; 36 (5) : 812–6.
- [87] Carmel R. How I treat cobalamin (vitamin B12) deficiency. *Blood* 2008 ; 112 (6) : 2214–21.
- [88] Antony AC. Megaloblastic anemias. *In: Hematology: Basic principles and practice*, 4th ed, Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, *et al.* (Eds), Churchill Livingstone, New York 2005, p. 519.

- [89] Matchar DB, McCrory DC, Millington DS, Feussner JR. Performance of the serum cobalamin assay for diagnosis of cobalamin deficiency. *Am J Med Sci* 1994 ; 308 (5) : 276–83.
- [90] Snow CF. Laboratory diagnosis of vitamin B12 and folate deficiency: a guide for the primary care physician. *Arch Intern Med* 1999 ; 159 (12) : 1289–98.
- [91] Herrmann W, Obeid R. Causes and early diagnosis of vitamin B12 deficiency. *Dtsch Arztebl Int* 2008 ; 105 (40) : 680–5.
- [92] Rosenson RS, Kang DS. Overview of homocysteine. Mise à jour Septembre 2014. Disponible sur internet : <http://www.uptodate.com/contents/overview-of-homocysteine>.
- [93] Savage DG, Lindenbaum J, Stabler SP, Allen RH. Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinations for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. *Am J Med* 1994 ; 96 (3) : 239–46.
- [94] Schrier SL. Diagnosis and treatment of vitamin B12 and folic acid deficiency. Mise à jour Octobre 2014. Disponible sur internet : <http://www.uptodate.com/contents/etiology-and-clinical-manifestations-of-vitamin-b12-and-folate-deficiency>.
- [95] Liu KW1, Dai LK, Jean W. Metformin-related vitamin B12 deficiency. *Age Ageing* 2006 ; 35 (2) : 200–1.
- [96] Schrier SL. Diagnosis and treatment of vitamin B12 and folic acid deficiency. Mise à jour Octobre 2014. Disponible sur internet : <http://www.uptodate.com/contents/etiology-and-clinical-manifestations-of-vitamin-b12-and-folate-deficiency>
- [97] Vidal-Alaball J, Butler CC, Cannings-John R, Goringe A, Hood K, McCaddon A, McDowell I, Papaioannou A. Oral vitamin B12 versus intramuscular vitamin B12 for vitamin B12 deficiency. *Cochrane Database Syst Rev* 2005 ; 3 : CD004655.

- [98] Institute of Medicine. Dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin, and choline. Washington, DC: National Academy Press; 1998.
- [99] Evatt ML, Mersereau PW, Bobo JK, Kimmons J, Williams J. Centers for Disease Control and Prevention. Why vitamin B12 deficiency should be on your radar screen. Mise à jour Avril 2011. Disponible sur internet : <http://www.cdc.gov/ncbddd/b12/index.html>
- [100] Toh BH, Van Driel IR, Gleeson PA. Pernicious anemia. *N Engl J Med* 1997 ; 337 (20) : 1441–8.
- [101] Langan RC, Zawistoski KJ. Update on vitamin B12 deficiency. *Am Fam Physician* 2011 ; 83 (12) : 1425–30.
- [102] Gargari BP, Aghamohammadi V, Aliasgharzadeh A. Effect of folic acid supplementation on biochemical indices in overweight and obese men with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2011 ; 94 (1) : 33–8.
- [103] Mohammadi M, Amini M, Aminiorroay A, Rezvanian H, Kachuei A, Siyavash M. Effect of metformin and folic acid on plasma homocysteine level in type 2 diabetic patients. *Int J Med Sci* 2009 ; 1 : 88–90.
- [104] Hultdin J, Van Guelpen B, Bergh A, Hallmans G, Stattin P. Plasma folate, vitamin B12, and homocysteine and prostate cancer risk: a prospective study. *Int J Cancer* 2005 ; 113 (5) : 819–24.
- [105] Stevens VL, Rodriguez C, Pavluck AL, McCullough ML, Thun MJ, Calle EE. Folate nutrition and prostate cancer incidence in a large cohort of US men. *Am J Epidemiol* 2006 ; 163 (11) : 989–96.
- [106] Andrès E, Fothergill H, Mecili M. Efficacy of oral cobalamin (vitamin B12) therapy. *Expert Opinion Pharmacotherapy* 2010 ; 11 : 249–56.
- [107] Buvat DR. Use of metformin is a cause of vitamin B12 deficiency. *Am Fam Physician* 2004 ; 69 (2) : 264–6.

[108] Mahajan R, Gupta K. Revisiting metformin: annual vitamin B12 supplementation may become mandatory with long term metformin use. *J Young Pharm* 2010 ; 2 (4) : 428-9.