



**HAL**  
open science

# Étude prospective de la valeur de l'auto fluorescence cutanée comme marqueur prédictif de l'apparition ou d'aggravation des complications chez les patients diabétiques de type 1

Blandine Farges

► **To cite this version:**

Blandine Farges. Étude prospective de la valeur de l'auto fluorescence cutanée comme marqueur prédictif de l'apparition ou d'aggravation des complications chez les patients diabétiques de type 1. Médecine humaine et pathologie. 2015. dumas-01199470

**HAL Id: dumas-01199470**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01199470>**

Submitted on 15 Sep 2015

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**Université de Bordeaux II – Victor Ségalen  
UFR DES SCIENCES MEDICALES**

**Année 2015**

**Thèse n°3010**

**THESE pour l'obtention du DIPLOME d'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE**

**Présentée et soutenue publiquement le 1<sup>er</sup> avril 2015**

**Par FARGES Blandine**

**Née le 25 mars 1987 à Aix en Provence**

**Etude prospective de la valeur de l'autofluorescence  
cutanée comme marqueur prédictif de l'apparition ou  
d'aggravation des complications chez les patients  
diabétiques de type 1**

**Directeur de Thèse :**

**Monsieur le Professeur V. RIGALLEAU**

**Membres du Jury :**

**Monsieur le Professeur H. GIN**

**Président**

**Madame le Professeur B. GATTA-CHERIFI**

**Rapporteur**

**Monsieur le Professeur A. TABARIN**

**Monsieur le Professeur J-C. MAIZA**

# Remerciements

## *Au directeur de thèse*

Monsieur le Professeur Vincent Rigalleau

Je vous remercie de m'avoir proposé ce travail, et d'avoir été disponible pour m'apporter votre aide tout au long de sa réalisation.

## *Au président de thèse*

Monsieur le Professeur Henri GIN

Je vous suis reconnaissante de l'honneur que vous me faites en présidant cette thèse. Je vous remercie de l'enseignement et de la rigueur que vous m'avez apportés pendant mes stages hospitaliers.

## *Aux juges*

Monsieur le Professeur Antoine TABARIN

Madame le Professeur Blandine GATTA-CHERIFI

Monsieur le Professeur Jean-Christophe MAIZA

Je vous remercie d'avoir accepté de siéger dans le jury. Soyez assurés de toute ma reconnaissance.

Je remercie également Sovannpany Nov, stagiaire en master 2 dans le service de diabétologie de Bordeaux, qui a effectué le recueil initial de données et m'a permis de réaliser la suite du travail, ainsi que Kalina Rajaobelina pour le travail de rédaction d'un article.

Ensuite je souhaite remercier toute l'équipe médicale, paramédicale, les secrétaires ainsi que mes co-internes du service de diabétologie de l'hôpital de Haut Lévêque pour leur aide, collaboration et soutien pour la réalisation de ce travail.

Je tiens à remercier tous les médecins avec qui j'ai eu la chance de travailler et qui m'ont formée au cours de mes différents stages, à Saint Pierre, Bordeaux et Périgueux.

Enfin je remercie mes amis, ma famille et mon ami pour leur soutien dans ce travail.

## Abréviations

AF : autofluorescence  
AGE : advanced glycation end product advanced (produits de glycation avancée)  
AGE-R1 : advanced glycation end products – receptor 1  
ALE : advanced lipoxidation end product (produits de lipoxidation avancée)  
AOMI : artériopathie oblitérante des membres inférieurs  
AVC : accident vasculaire cérébral  
CEL : N-epsilon-(Carboxyethyl)-Lysine  
CKD-EPI : Chronic Kidney Disease Epidemiology  
CLF : collagen linked fluorescence  
CML : N-epsilon-(Carboxymethyl)-Lysine  
CREB : cAMP response element-binding protein  
DFG : débit de filtration glomérulaire  
FL : fructolysine  
GFR : glomerular filtration rate (debit de filtration glomerulaire)  
GLO1 : glyoxalase1  
HbA1c : hémoglobine glyquée  
HDL : high-density lipoprotein  
HLA : human leukocyte antigen  
IC : intervalle de confiance  
IgG : immunoglobuline G  
IL6, IL8 : interleukine  
IMC : indice de masse corporelle  
KD : kilo dalton  
LDL : Low-density lipoprotein  
MAP Kinase : mitogen-activated protein kinases  
MOP1 : monocyte chiotactic protéine 1  
NADPH : nicotinamide adenine dinucleotide phosphate  
NF-KB : nuclear factor kappa beta  
NS : non significatif  
NO : monoxyde d'azote  
PI3 kinase : phosphatidylinositide 3-kinases  
PTG : produit terminaux de glycation  
RAGE : Receptor for Advanced Glycation Endproducts  
ROS : especes réactives de l'oxygène  
SRAA : système rénine angiotensine aldostérone  
TG : triglycéride  
TNF : tumor necrosis factor  
UA : unité arbitraire  
VCAM1 : vascular cell adhesion molecule 1  
VEGF : Vascular endothelial growth factor

# Sommaire

<b>Remerciements</b> .....	2
<b>Abréviations</b> .....	3
<b>Introduction</b> .....	6
<b>Rappels bibliographiques</b> .....	8
A) Les produits de glycation avancés (AGE).....	8
1) Formation endogène des AGE.....	8
a) Glycation ou réaction de Maillard.....	8
b) Glycoxydation.....	9
c) Voie des polyols.....	9
d) Peroxydation des lipides.....	9
2) AGE exogènes.....	10
a) Alimentation.....	10
b) Tabac.....	10
3) Les différents AGE.....	10
4) Physiopathologie du rôle pathogène des AGE.....	11
a) Modification des protéines.....	11
b) Interaction avec les récepteurs.....	11
c) Stress oxydatif.....	12
5) Mémoire glycémique.....	13
6) Régulation du taux d'AGE.....	13
B) Complications du diabète.....	15
1) Complications microvasculaires.....	15
a) Rétinopathie.....	15
b) Néphropathie.....	17
c) Neuropathie.....	19
2) Complications macrovasculaires.....	21
C) Techniques de mesure des AGE.....	23
1) Biopsie cutanée.....	23
2) Dosages sanguins.....	23
3) Autofluorescence cutanée par l'AGE reader.....	24
a) Principes de l'AGE reader.....	24
b) Validité de l'autofluorescence reader.....	25
D) Valeur d'autofluorescence cutanée.....	26
1) Valeur de référence chez le sujet sain.....	26
2) Facteurs influençant la valeur.....	27
a) Tabagisme.....	27
b) Période post prandiale.....	27
c) Fonction rénale.....	27
d) Maladie hépatique.....	28

e) Facteur génétique et environnemental.....	28
f) Diabète.....	28
g) Hémoglobine glyquée.....	28
h) Complications du diabète.....	29
<b>Objectif.....</b>	<b>30</b>
<b>Sujets et méthode.....</b>	<b>31</b>
A) Type d'étude.....	31
B) Analyse statistique.....	33
<b>Résultats.....</b>	<b>34</b>
A) Description de la population .....	34
B) Devenir des patients.....	35
1) Complications microvasculaires.....	35
a) Neuropathie.....	35
b) Rétinopathie.....	36
c) Néphropathie.....	36
d) Complications microvasculaires toutes confondues.....	37
2) Complications macrovasculaires.....	37
3) Complications micro et macrovasculaires.....	38
4) Mortalité.....	38
<b>Discussion.....</b>	<b>39</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>47</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>48</b>
<b>Bibliographie.....</b>	<b>50</b>

# Introduction

Le diabète de type 1 représente 10 à 15% des cas de diabète, son incidence ayant fortement augmentée en Europe ces dernières décennies (1). Il est caractérisé par une atteinte pancréatique auto-immune conduisant à une carence insulinique faisant le lit à une hyperglycémie qui au long cours est délétère pour l'organisme. Un patient avec un diabète déséquilibré présentant des glycémies élevées de façon chronique est en effet à risque de développer des complications vasculaires (2,3). La susceptibilité génétique rentre en compte, mais les études recherchant par quels mécanismes physiopathologiques l'hyperglycémie était liée au développement des complications du diabète ont permis d'évoquer plusieurs hypothèses dont celle des produits de glycation avancée ou AGE pour « advanced glycation end products » (AGE) (4). Ces AGE sont le résultat de la glycation non enzymatique des protéines, processus de « brunissement des protéines », mis en évidence initialement dans le domaine alimentaire. Les AGE ont ensuite été explorés par des nombreuses études chez l'animal et in vivo chez l'homme (5), et leur rôle est maintenant bien connu dans plusieurs processus physiologiques comme le vieillissement ou pathologiques comme la maladie d'Alzheimer, les atteintes rhumatologiques, l'athérosclérose et le diabète (6). L'accumulation tissulaire des AGE est le reflet des taux de glycémies des années précédentes (7), ce qui a été désigné sous le terme de « mémoire glycémique », et est corrélé à la prévalence des complications liées au diabète (4,8).

Le diabète a un impact sur la morbi-mortalité et économique important par le biais des complications qu'il peut induire (1), qui sont classées en complications microvasculaires lorsque les organes atteints sont irrigués par des artères de petit calibre, et en complications macrovasculaires, lorsqu'il s'agit d'une atteinte des gros vaisseaux et qui correspondent aux complications liés à ce que l'on nomme les facteurs de risque cardio vasculaire. L'enjeu dans la prise en charge du patient diabétique est donc de prévenir l'apparition ou l'aggravation de ces complications. Pour cela il semble intéressant d'avoir un marqueur capable de prédire le risque individuel de complications vasculaires. Le meilleur marqueur du contrôle métabolique pouvant prédire le développement des complications du diabète n'est pas encore clairement défini. L'hémoglobine glyquée prédit ce risque (9,10), mais les AGE ont l'avantage par rapport aux mesures d'hémoglobines glyquées d'estimer l'équilibre glycémique plus ancien (11). La mesure des AGE apparaît alors comme un paramètre informatif sur la survenue ultérieure des complications diabétiques en se basant sur le phénomène de mémoire glycémique, où les AGE seraient le reflet du cumul des hyperglycémies des années précédentes dont il a été démontré qu'elles sont responsables de l'apparition des complications.

Se pose alors la question de la méthode de mesure de ces AGE qui doit être fiable et pouvoir être intégrée facilement dans la pratique courante pour la prise en charge du patient diabétique. Les biopsies cutanées sont le premier examen ayant permis l'évaluation de l'accumulation

tissulaire des AGE, mais elles ne sont pas réalisables en dehors des études cliniques du fait de leur complexité technique et de leur caractère invasif. Les dosages sanguins quant à eux n'ont pas fait la preuve de leur fiabilité pour estimer le niveau tissulaire d'AGE (12).

L'apparition d'une nouvelle technique, l'AGE Reader, permettant la mesure des AGE de façon non invasive et rapide, par autofluorescence cutanée en utilisant les propriétés fluorescentes des AGE (13), a alors permis de mieux évaluer le rôle des AGE dans la physiopathologie du diabète. Ce nouvel outil pourrait donc être une alternative aux biopsies cutanées pour évaluer le risque de complication.

Chez le diabétique de type 2, l'autofluorescence cutanée a été retrouvée comme un prédicteur de l'apparition des complications micro et macro vasculaires et de la mortalité (14,15), mais il n'existe pas à l'heure actuelle d'étude similaire prospective concernant les sujets diabétiques de type 1.

Le but de notre étude était donc d'évaluer la valeur pronostique de l'autofluorescence cutanée dans l'apparition ou l'aggravation des complications vasculaires chez les sujets diabétiques de type 1, afin de pouvoir introduire l'autofluorescence cutanée, en cas de résultats positifs se confirmant par d'autres études, parmi les examens de dépistage réalisés chez les patients pour individualiser et cibler leur prise en charge de la maladie chronique.



# Rappels bibliographiques

## A) Les produits de glycation avancée (AGE)

Les AGE pour « Advanced Glycation End-products » ont été décrits pour la première fois par un chimiste français Louis-Camille Maillard en 1912, comme les produits finaux de la réaction de glycation dite de brunissement (5). Trois autres voies ont ensuite été décrites pouvant être à l'origine des AGE : la glycoxydation par auto-oxydation du glucose, la voie des polyols et la peroxydation des lipides. Les AGE peuvent en outre être apportés par l'environnement extérieur. Quelque soit leur origine, les AGE ont fait l'objet de plusieurs études démontrant leur effet délétère cellulaire et tissulaire, on parle ainsi de glycotoxines.

### 1) Formation endogène des AGE (16,17)

Les AGE sont le résultat d'une modification post traductionnelle des protéines

#### a) Glycation ou réaction de Maillard

Contrairement à la glycosylation qui est un processus physiologique où intervient une enzyme la glycosyl-transferase et qui donne une glycoprotéine, la glycation est une réaction non enzymatique pathologique aboutissant à une protéine glyquée.

La glycation est une succession d'étapes réversibles ou non, cumulative, dépendant de la glycémie et du temps, aboutissant à la liaison covalente entre la fonction aldéhyde d'un ose (glucose, fructose ou galactose) sur une fonction amine libre (lysine, arginine) d'une protéine ou d'une apolipoprotéine.

La première étape est réversible et se fait en quelques heures seulement pour donner une base de Schiff par condensation d'un groupement aminé d'une protéine et d'un groupement carbonyle d'un sucre.

En quelques jours, cette base de Schiff peut subir des réarrangements intramoléculaires dit d'amadori qui stabilisent la condensation du résidu osidique sur la chaîne protéique pour former des composés dicarbonylés, les produits d'Amadori.

Lorsque la demi de vie des produits d'amadori est supérieure à 8 ou 10 semaines ils subissent de nombreuses réactions oxydatives formant des intermédiaires réactifs (notamment des aldéhydes comme le méthylglyoxal) et aboutissant à la formation de composés de structure complexe dénommés de plusieurs façons : produits de glycation avancée ou produits terminaux de glycation ou produits de Maillard, ou en anglais advanced glycation end-product (AGE).

### b) Glycoxydation

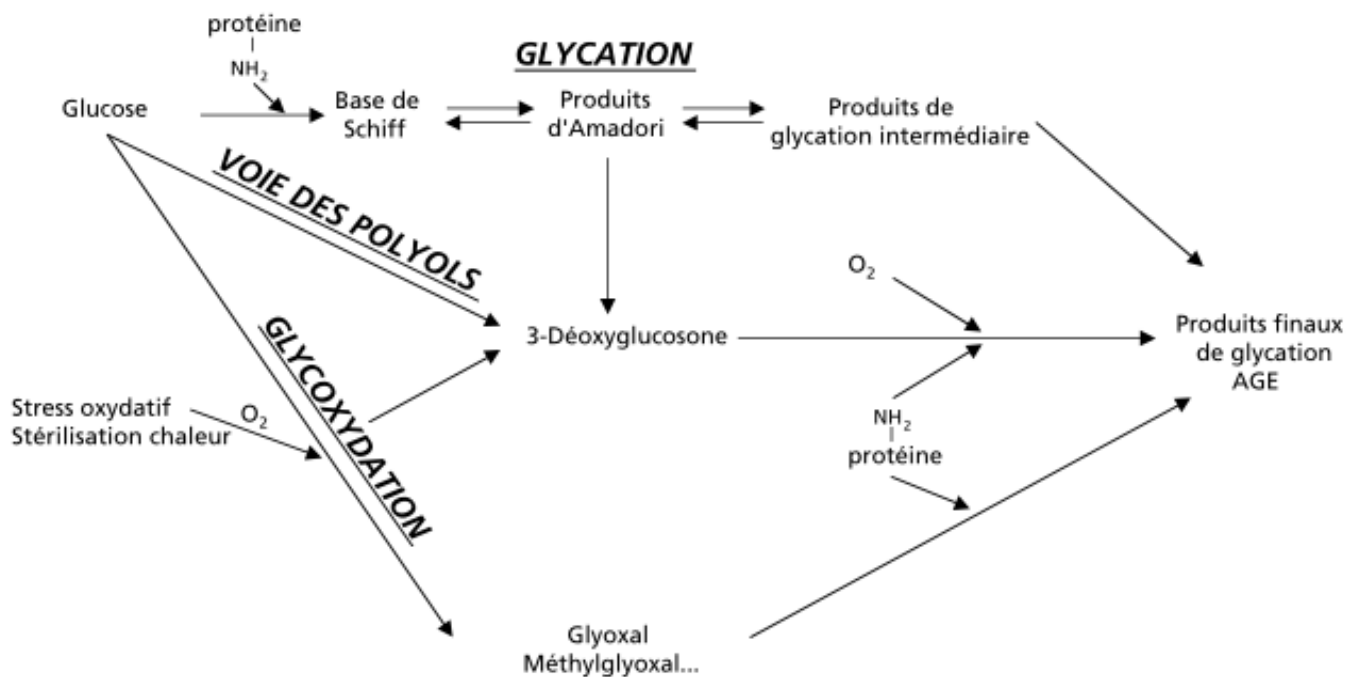
Il s'agit d'un phénomène d'auto-oxydation du glucose ou de dérivés glycolipidique donnant le glyoxal et le méthylglyoxal qui en réagissant avec les groupements aminés libres des protéines forment des AGE, comme le N-(carboxyméthyl/lysine) (CML), le glyoxal lysine dimère (gold) ou le méthylglyoxal lysine dimère (mold).

### c) Voie des polyols

Elle conduit à la formation de produits intermédiaires comme le 3-deoxyglucosone (3-DG), grâce à l'action d'enzymes comme l'aldose-réductase et la sorbitol-deshydrogénase.

### d) Peroxydation des lipides

L'oxydation des acides gras poly insaturés conduit elle aussi aux produits d'Amadori. Certains AGE comme la CML sont aussi des produits de lipoxydation avancée (ALE) pouvant se former uniquement par oxydation au cours de la peroxydation lipidique sans glycation préalable.



**Fig. 1:** Les trois voies conduisant à la formation des AGE.

*d'après Boulanger E, 2002 (16)*

## 2) AGE exogènes

### a) Alimentation

La réaction de Maillard a un rôle primordial dans la qualité des aliments transformés, aussi bien bénéfique que délétère. D'un côté, le brunissement des protéines sous l'effet de la chaleur permet une amélioration gustative par la formation d'arôme et une sécurité sanitaire dans la consommation des aliments ; d'un autre côté, ils induisent l'apparition de composés indésirables tels que les AGE (18).

La biodisponibilité des produits de la réaction de Maillard dans les aliments a été estimée à 10% de la quantité ingérée, le pic sérique est observé quatre à six heures après l'ingestion et un tiers sera éliminé par voie urinaire.

Les AGE apportés par l'alimentation représentent 10 % des AGE retrouvés dans le plasma.

Les aliments et boissons contenant une quantité importante de sucre et subissant une étape de cuisson sont ceux apportant le plus d'AGE (gâteau, cola, sauce soja) (4,16,17).

Il est démontré que ces AGE alimentaires ont des effets pathogènes comparables à ceux des AGE endogènes (19).

### b) Tabac

Le tabac est également une source de précurseurs des AGEs et de radicaux libres, qui augmentent la formation et l'accumulation des AGEs (20-22).

## 3) Les différents AGE

Il n'existe pas de classification chimique définitive pour les AGE.

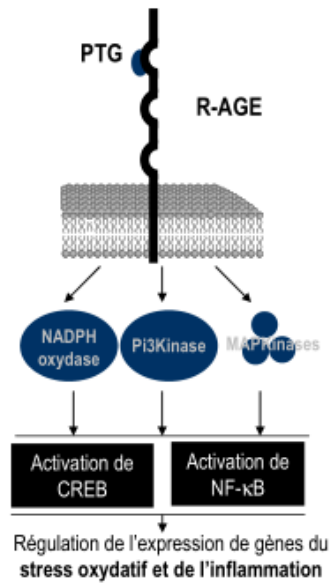
Les protéines pouvant subir une glycation sont nombreuses ; elles peuvent être plasmatiques, tissulaires, intra ou extra cellulaires. Les plus touchées sont celles directement en contact avec le glucose sanguin, ou à longue durée de vie comme l'hémoglobine, l'albumine, les immunoglobulines, la fibrine, le fibrinogène, les apolipoprotéines, ou le collagène.

Les AGE ont des caractéristiques différentes selon la protéine qui a été glyquée.

Parmi les AGE les plus étudiés, on citera la pentosidine, la furosine et la N-carboxyméthyl-lysine (CML).

L'hémoglobine glyquée et la fructosamine sont des exemples de produit d'amadori, qui sont largement utilisés en pratique clinique car elles permettent d'évaluer l'équilibre glycémique des semaines précédentes (16).





? : Voies d'activation du récepteur RAGE  
d'après Langlois C (17)

La fixation des AGE sur le RAGE induit une transduction du signal via le domaine intracellulaire et une cascade de réactions faisant notamment intervenir la NADPH-oxydase, les MAPKinases, et la PI3Kinase. Ceci aboutit à l'activation des facteurs de transcription NFκB et CREB, et conduit à la production d'espèces réactives de l'oxygène et des voies de l'inflammation.

Parmi les conséquences cellulaires de l'interaction AGE-RAGE, on note une augmentation de la perméabilité endothéliale, une augmentation de la transcription de gènes pour la synthèse d'interleukine 6 (IL-6), de facteur de croissance comme le vascular endothelial cell grow factor (VEGF), une augmentation de l'expression du facteur tissulaire et de la molécule d'adhérence vasculaire (VCAM-1) favorisant la survenue de conditions proinflammatoires et profibrosantes, et un stress oxydatif.

Les AGE sont donc des agents pro oxydants et pro inflammatoires.

Les produits de glycation plus précoces de type amadori peuvent également générer des processus cellulaires inflammatoires ainsi l'albumine glyquée induit la production d'interleukine IL8 (chimio-attractante et activatrice des neutrophiles et des éosinophiles), et de MOP-1 (monocyte chimiotactic protéine 1) (chimio-attractante pour les monocytes et les lymphocytes).

### c) Stress oxydatif (16,26)

La cascade de réactions induites par la fixation des AGE sur les RAGE conduit entre autres à un stress oxydatif, caractérisé par un déséquilibre des agents pro-oxydants et anti oxydants au profil des premiers, mais ce n'est pas le seul mécanisme en cause. La glycation des protéines favorisant leur oxydabilité, toutes les étapes de la glycation génèrent des radicaux libres

oxygénés, conduisant à la formation d'aldéhydes réactifs dont l'un des plus abondants est le méthylglyoxal. Les produits d'amadori comme les protéines glyquées plasmatiques réagissent avec l'oxygène moléculaire pour former de l'ion superoxyde à pH physiologique.

### 5) Mémoire glycémique

La glycation des protéines est un phénomène lent qui affecte principalement les protéines avec un turn over lent comme celles des matrices tissulaires. Les AGE vont donc avoir une accumulation tissulaire préférentiellement sur les protéines à longue durée de vie comme le collagène ayant une durée de vie estimée à 15-20 ans. Le taux de glycation de collagène cutané est proportionnel à l'ancienneté du diabète et au déséquilibre du diabète; l'accumulation tissulaire des AGE reflète donc le phénomène de mémoire glycémique. La furosine renseigne ainsi sur le cumul des glycémies d'au moins un an, tandis que la pentosidine et la CML reflètent l'équilibre glycémique d'il y a plusieurs années (8,13).

### 6) Régulation du taux d'AGE (4,17)

L'accumulation des AGE est un phénomène temps-dépendant qui augmente avec l'âge, l'hyperglycémie chronique, le taux de lipides (27), et la réduction des fonctions rénale et hépatique.

Deux mécanismes permettent l'élimination des AGE, d'une part le catabolisme des protéines glyquées, rendu possible par l'action de protéases telles que la collagénase, la trypsine, la pepsine et la papaïne, et d'autre part l'élimination rénale, avec une clairance des AGE dépendante de la fonction rénale et de la clairance de la protéine qui a été glyquée (28,29).

Il existe aussi des enzymes, les amadoriases (comme la fructose lysine phosphokinase), capables de reconnaître les produits d'Amadori et de les décomposer en catalysant une réaction de déglycation. En phosphorylant les produits d'Amadori, l'enzyme les rend instables, provoquant leur détachement des protéines.

Ce système de « déglycation » est notamment présent dans les érythrocytes où il limite l'accumulation d'hémoglobine glyquée. Un tel mécanisme pourrait aussi agir sur les bases de Schiff.

La glyoxalase1 (GLO1) est considérée comme l'enzyme clé de défense contre la glycation (30). Il existe probablement des différences génétiques pour GLO1, qui seraient responsables d'une susceptibilité individuelle différente aux complications du diabète, voire d'une protection selon les allèles présents (31).

Mais les systèmes homéostatiques permettant de réguler le taux d'AGE peuvent se retrouver dépassés dans certaines conditions et notamment lors de diabète, d'apport alimentaire élevé en AGE et d'insuffisance rénale.

Le meilleur moyen de limiter la formation des AGE est donc d'obtenir un équilibre glycémique et lipidique optimal, ce qui a été mis en évidence dans plusieurs populations de

diabétiques. En effet, V. Monnier a montré qu'un traitement intensif à long terme par rapport à un traitement conventionnel du diabète conduit à des taux moindres de furosine, pentosidine et CML de 9 à 32% dans les biopsies témoignant d'une glycation inférieure (7).

Dans l'étude de Lyons, le traitement intensif de l'équilibre glycémique chez le diabétique de type 1 pendant 4 mois est suivi d'une diminution de la glycation du collagène cutané mais n'a pas d'effet sur la glycoxydation (32). Et chez les diabétiques de type 2, Salmela a montré également qu'une thérapie intensive de 1 à 5 ans diminuait la glycation des protéines plasmatiques et du collagène cutané (33).

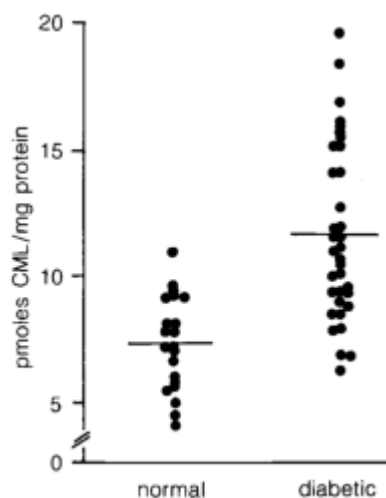
L'identification d'agents inhibiteurs de la formation des AGE ou de molécules anti-oxydantes, représente une perspective thérapeutique prometteuse dans la prévention des complications du diabète. Des molécules ont été testées chez l'animal pour inhiber la formation des AGE, comme l'aminoguanidine, mais les essais thérapeutiques chez l'homme ont été interrompus en raison d'effets indésirables importants. Un autre niveau d'intervention se situe à la liaison ligand-recepteur : les anticorps antiRAGE ont montré une efficacité chez l'animal mais il n'existe pas encore d'étude chez l'homme (16).

## B) Complications du diabète

Il est connu depuis les études UKPDS et DCCT (2,3) qu'un traitement intensif comparé à un traitement conventionnel chez le diabétique améliore le contrôle glycémique et retarde l'apparition des complications microvasculaires, mais le processus physiopathologique n'était pas clair. Il est maintenant démontré que l'ensemble des perturbations engendrées par les AGE peut jouer un rôle dans le dysfonctionnement vasculaire et les complications micro et macrovasculaire observées dans le diabète, notamment en accélérant le mécanisme d'athérosclérose, par les effets pro-oxydant et pro-inflammatoire des AGE (17, 34).

Le DCCT skin collagen ancillary study group retrouve en effet une association entre le traitement intensif à long terme de l'hyperglycémie avec des taux plus faibles d'AGE dans le collagène cutané par rapport au traitement conventionnel, et que les niveaux d'AGE dans les biopsies cutanées prédisent le risque de développer ou de voir progresser une complication microvasculaire chez le diabétique de type 1, même après ajustement sur l'hémoglobine glyquée (7).

De plus dans différentes études, les AGE sont retrouvés en excès précocement dans le plasma et les matrices extracellulaires des patients diabétiques (34,35). Par exemple, l'accumulation tissulaire de CML, de pentosidine et de furosine est augmentée en fonction de l'âge dans différentes localisations mais ce processus est accéléré dans le diabète (6).



*d'après Schleicher ED, 1997 (35)*

### 1) Complications microvasculaires

#### a) Rétinopathie

La rétinopathie diabétique représente la première cause de cécité en France.

On estime qu'environ 30% des diabétiques sont porteurs d'une rétinopathie, soit environ un



million de patients en France. Dans le diabète de type 1, la rétinopathie diabétique ne survient en général pas avant 7 ans d'évolution. Elle est présente chez les trois quarts des diabétiques après 15 ans, et chez 90-95% après 20 ans d'évolution de la maladie.

Plusieurs stades de sévérité sont possibles, de la rétinopathie non proliférante minime avec quelques microanévrismes ou hémorragies rétinienne isolées, au stade de rétinopathie proliférative compliquée, voire jusqu'à la cécité (4,36).

La rétinopathie diabétique est caractérisée par plusieurs lésions : une altération de la membrane basale des vaisseaux rétinienne, une diminution du nombre de péricyte, et une augmentation de la perméabilité endothéliale, entraînant une fuite de macromolécules et un œdème de la macula, et un rétrécissement de la lumière des capillaires rétinienne favorisant l'ischémie et les microthromboses. En réaction à l'hypoxie, une néovascularisation se crée, par la sécrétion locale de facteurs de croissance angiogéniques comme le VEGF (37, 38).

Les études DCCT et UKPDS (2,3) ont établi le lien entre l'hyperglycémie et la rétinopathie. Ainsi dans l'étude post DCCT, la rétinopathie avait progressée dans 49% des cas dans le groupe traitement conventionnel ayant une hémoglobine glyquée moyenne à 9,3%, contre 27% dans le groupe traitement intensif ayant une hémoglobine glyquée moyenne de 7,1% au cours d'un suivi de 10 ans (8).

Les autres principaux facteurs de risque de rétinopathie diabétique sont l'ancienneté du diabète et l'hypertension artérielle.

Les AGE sont impliqués dans la pathologie en stimulant directement l'expression du VEGF par les cellules épithéliales rétinienne, par la production de cytokines et la genèse d'un stress oxydatif. La glycation des protéines entraîne un épaississement des membranes basales. Ils altèrent ainsi l'intégrité et la structure des parois vasculaires et une apoptose des péricytes peut se produire (39).

Des études ont permis de mettre en évidence un lien entre l'accumulation d'AGE et la présence d'une rétinopathie. C'est le cas de l'étude post DCCT où les niveaux moyens de CML, pentosidine, et furosine étaient significativement plus élevés dans les biopsies cutanées chez les diabétiques de type 1 ayant une rétinopathie qui a progressée au cours du suivi de 10 ans, après ajustement sur l'âge et la durée du diabète comparé à ceux n'ayant pas développés de rétinopathie. La furosine et la CML sont les 2 AGE qui prédisent le plus fortement le risque de progression de la rétinopathie à 10 ans, indépendamment de la moyenne des hémoglobines glyquées. La furosine a d'ailleurs une meilleure valeur prédictive de la progression de la rétinopathie que les hémoglobines glyquées antérieures (8).

Une autre étude a retrouvé de la même façon que le niveau de fructoselysine (FL) et de CML cutané est indépendamment associé à la rétinopathie (40).

Il a également été retrouvé par l'équipe de Murata une corrélation entre l'accumulation de CML au niveau rétinien (41), et par celle de Beisswenger entre le taux de pentosidine cutané et la sévérité de la rétinopathie (42).

### b) Néphropathie

Au moins 30% des diabétiques de type 2 ont une maladie rénale chronique versus 10% en population générale adulte. L'insuffisance rénale terminale a une incidence d'environ 150 par million d'habitants par an en France et la néphropathie diabétique représente une cause majeure d'insuffisance rénale avec en 2008, 40% des nouveaux malades en dialyse qui présentaient un diabète (dont 91% un diabète de type 2) (43). Le risque de néphropathie est fortement déterminé par des facteurs génétiques, de sorte que seuls 40 à 50% des diabétiques développeront une néphropathie (4).

Les mécanismes physiopathologiques conduisant à la néphropathie diabétique sont similaires dans le diabète de type 1 et de type 2. Les lésions histologiques retrouvées dans la néphropathie diabétique sont l'augmentation de l'épaisseur de la membrane basale glomérulaire, l'hypertrophie mésangiale avec expansion matricielle, les lésions tubulo-interstitielles, notamment l'atrophie tubulaire, la perte des capillaires péri-tubulaires, la fibrose interstitielle, des anomalies fonctionnelles et structurelles des podocytes. Il existe également des modifications hémodynamiques avec une hyperfiltration et une hyperperfusion, très tôt dans le processus pathologique, qui jouent un rôle essentiel dans le développement de la néphropathie diabétique.

Outre les facteurs génétiques, la néphropathie diabétique va être induite par l'hyperglycémie présente dans le diabète déséquilibré et la présence des AGE (4).

L'hyperglycémie stimule l'expression de la rénine et de l'angiotensinogène dans les cellules mésangiales et tubulaires, d'où une augmentation d'angiotensine II, qui pourrait ensuite stimuler la formation d'AGE. L'angiotensine induit la production par les cellules rénales de nombreuses cytokines pro-inflammatoires et profibrogéniques, des chimiokines et des facteurs de croissance, elle a donc des effets hémodynamiques, mais aussi trophiques, inflammatoires et profibrogéniques sur les cellules rénales.

En plus de l'hyperglycémie, le système rénine angiotensine peut être activé par le stress mécanique et la protéinurie (44).

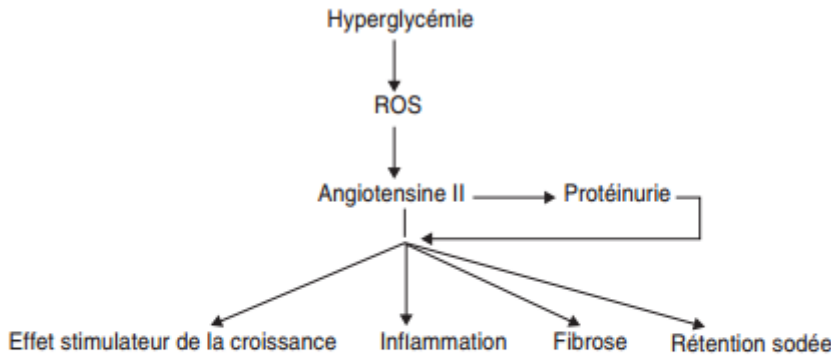


FIG. 3. — Rôle central de l'angiotensine II dans la néphropathie diabétique. L'hyperglycémie, les AGE et la protéinurie entraînent une augmentation de la production locale d'ANG II. L'ANG II accentue elle-même davantage la protéinurie et exerce également des effets stimulateurs de la croissance, inflammatoires et profibrogéniques et stimule la réabsorption du sodium avec le développement d'une hypertension artérielle. L'inhibition de l'ANG II est un concept important dans la prévention et le traitement de la néphropathie diabétique.

*d'après WOLF G, 2005 (44)*

L'hyperglycémie entraîne aussi une augmentation de la production des formes réactives de l'oxygène mitochondriale. Ce stress oxydatif active à son tour la formation d'AGE, ce qui induit la production de cytokines (comme le TNF- $\beta$  qui pourraient induire une hyperfiltration par dilatation de l'artériole afférente), de molécules d'adhésion, du facteur de transcription NF- $\kappa$ B, et de facteurs de croissance (VEGF). Le rôle du VEGF dans la néphropathie diabétique a été mis en évidence par l'observation selon laquelle des anticorps monoclonaux anti-VEGF administrés à des rats diabétiques ont diminué l'hyperfiltration, l'albuminurie et l'hypertrophie glomérulaire chez ces animaux (44).

Les infiltrats pro-inflammatoires ainsi formés par les différents mécanismes contribuent à la destruction irréversible des néphrons observée dans la néphropathie diabétique.

Des dépôts d'AGE ont été retrouvés dans les matrices extracellulaires rénales mais également au niveau des protéines cellulaires, dans les membranes basales glomérulaires, le mésangium et les tubules rénaux, avec une augmentation avec l'âge et accélérée lors de diabète chez le rat, et présent précocement en cas d'hyperglycémie (45). L'accumulation de collagène glyqué sur les matrices extra-vasculaires des glomérules pourrait favoriser l'occlusion des capillaires, et la glycation de l'albumine inhibe la synthèse de néphron (46).

De plus, le degré de glycoxydation et peroxydation lipidique des macrophages glomérulaires est corrélé avec le stade de la néphropathie diabétique (47).

Les effets pathogènes des AGE peuvent également intervenir par le biais du RAGE, qui est largement exprimé à la surface de divers types de cellules rénales. L'hyperexpression de RAGE chez le rat diabétique conduit à une augmentation de l'albuminurie, une augmentation de la créatininémie, une hypertrophie rénale, une expansion mésengiale et une

glomérulosclérose (48).

Dans les cellules tubulaires, l'activation du RAGE conduit à la transformation de ces cellules en myofibroblastes, ce qui intervient dans l'atrophie tubulaire et la fibrose interstitielle (44).

Chez l'humain, on retrouve une augmentation des dépôts de CML, pentosidine et pyralline dans les tissus rénaux diabétiques, la CML est présente au niveau du mésangium, des membranes basales glomérulaires, et tubulaires, et des capillaires, alors que la pentosidine est préférentiellement retrouvée dans l'interstitium. Le taux de CML mais pas celui de pentosidine, est même augmenté de façon parallèle avec la sévérité de la néphropathie, de la réduction néphronique, et de l'uprégulation des RAGE dans les podocytes lors de néphropathie (49). D'autres études retrouvent en revanche que le taux de pentosidine cutané est significativement élevé en cas d'albuminurie ou de protéinurie ( $p = 0.025$ ) (41), et les niveaux de fructoselysine (FL) et de CML cutanés sont également indépendamment associés à la néphropathie (42).

L'étude post DCCT est la première étude prospective qui démontre que le taux cutané d'AGE mesuré par biopsie cutanée peut prédire la progression à 10 ans de complications microvasculaires et notamment de la néphropathie. Il n'y avait pas de différence significative de l'incidence de la progression de la néphropathie entre les groupes traitement conventionnel versus intensif. Mais chez ceux qui ont eu une progression de la néphropathie au cours du suivi sur 10 ans, les taux de CML, pentosidine, et furosine étaient significativement plus élevés dans les biopsies initiales. En analyse multivariée, la combinaison du CML et de la furosine ou chacun de ces AGE séparément était un marqueur prédictif de la progression de la néphropathie indépendamment de la moyenne des hémoglobines glyquées (8).

### c) Neuropathie

La neuropathie diabétique est la plus fréquente des neuropathies dans les pays industrialisés, et la complication microangiopathique la plus fréquente puisqu'elle atteint 30 à 50 % des diabétiques. Elle est associée à une plus grande morbi-mortalité et a un impact important sur la qualité de vie des patients (50,51).

Les patients avec une neuropathie sont plus à risque de développer des ulcères, des infections plantaires récidivantes, ou des pieds de Charcot (ou ostéoarthropathie neurogène) : des destructions et déformations osseuses par lésions traumatiques répétitives associée à une diminution de sensibilité. La neuropathie diabétique est également la cause de 50 à 70% d'amputation non traumatique (52).

La neuropathie peut toucher les neurones périphériques sensitif et moteur et le système nerveux autonome, mais le syndrome le plus fréquent est la polyneuropathie sensitivomotrice distale et symétrique, dont la progression est proximale, par dégénérescence des petites fibres nerveuses cutanées.

Dans les biopsies nerveuses on peut retrouver une perte des petites fibres démyélinisées C et avec l'évolution du diabète des petites fibres myélinisées A delta, conduisant à une altération de la sensation thermo-algique. L'atteinte des larges fibres nerveuses myélinisées A beta conduit à un déficit de la proprioception et du sens vibratoire (pallesthésie) (52-54).

Les symptômes sensoriels sont généralement prédominant mais avec la progression de la maladie l'atteinte motrice peut être présente (55).

Les symptômes sont variables selon les patients, la majorité rapporte des signes négatifs comme des engourdissements, une diminution ou une abolition de la sensibilité à la vibration, au toucher ou à la douleur, alors que d'autres vont avoir des signes positifs avec des douleurs neuropathiques paroxystiques ou chroniques, une hyperalgie, une allodynie, des paresthésies, ou des sensations anormales à la température, avec des symptômes exacerbés la nuit. Le spectre de sévérité est variable avec des symptômes pouvant altérer gravement la qualité de vie et être responsable d'une perte d'emploi et d'une dépression (56).

La prévalence de la neuropathie douloureuse varie selon les études de 7 à 20% , cette variation reflétant les différents critères retenus pour définir la neuropathie douloureuse, et près de 25% des patients diabétiques de type 1 suivi dans l'étude prospective EURODIAB sur 7 ans ont développé une neuropathie douloureuse (57). Cependant les mécanismes physiopathologiques responsables plutôt de signes positifs ou négatifs ne sont pas connus, et les constatations histologiques sont similaires entre ces patients (58)

Il existe un phénomène de régénération axonale mais dans le diabète ces mécanismes sont détériorés et insuffisants pour compenser la dégénération neuronale (59).

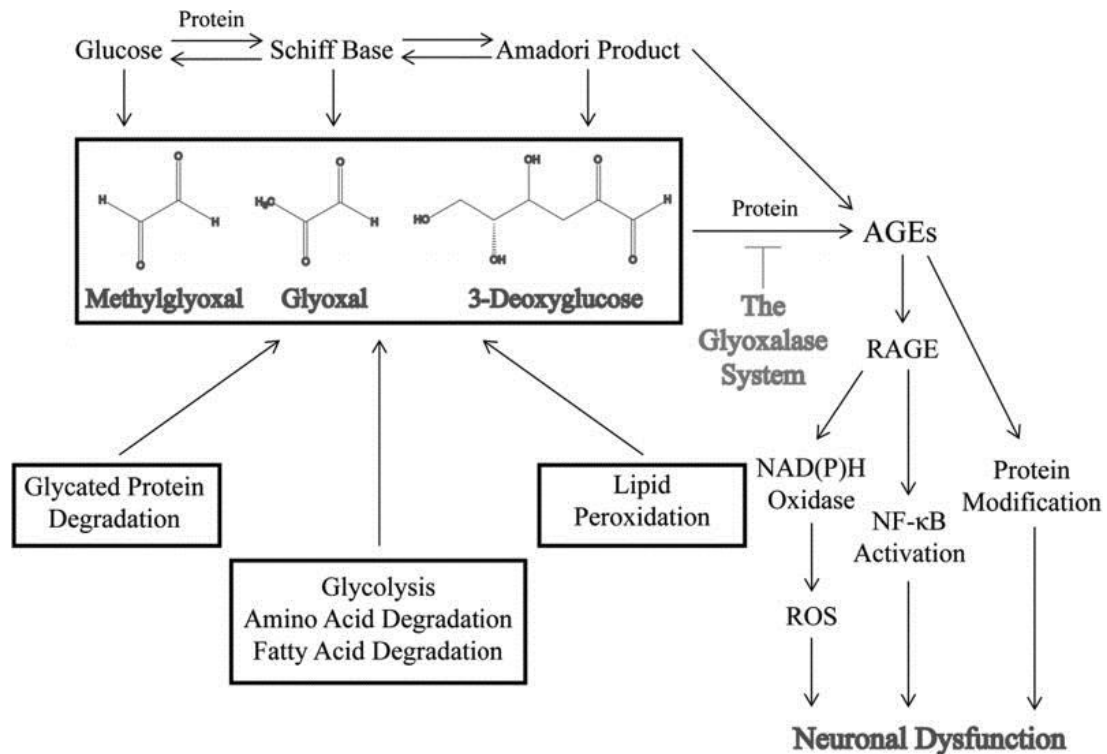
Parmi les facteurs de risque indépendants de poly-neuropathie sensorielle, on retrouve l'HTA, l'obésité, la dyslipidémie, le tabagisme et le diabète (60). L'hyperglycémie est impliquée dans la physiopathologie de la neuropathie diabétique puisqu'un traitement intensif du diabète réduit le risque de développer une neuropathie clinique de 64% par rapport au traitement conventionnel lors d'un suivi moyen de 6 ans et demi. La durée du diabète et le mauvais contrôle glycémique sont considérés comme des facteurs de risque pour le développement d'une neuropathie (3,61,62), et cela peut être expliqué par les AGE, dont il a été démontré un rôle dans la genèse de la neuropathie (63).

En effet dans les études animales, la concentration d'AGE telle que la fructolysine dans le nerf sciatique de rats diabétiques est plus élevée que chez les non diabétiques (64), et le RAGE est présent sur les cellules de Schwann, les nerfs périphériques, et les fibres épidermiques des rongeurs (65).

Chez l'humain également, une accumulation d'AGE a été retrouvée dans les nerfs périphériques des patients diabétiques, notamment dans les axones, les neurones myélinisés et non myélinisés, les cellules de Schwann, les microvaisseaux endo et périneuronaux, et la lamine basale périneurale (66), et une augmentation des AGE et des RAGE chez les

diabétiques a été mise en évidence dans les biopsies de nerf sural, suggérant que les AGE ont un rôle dans le développement et/ou la progression de la neuropathie, par l'intermédiaire de la cascade de réaction induite par la fixation des AGE sur les RAGE comme décrit précédemment (67).

Le mécanisme physiopathologie s'explique en partie par une glycation des protéines mitochondriales, entraînant des modifications de la respiration mitochondriale, d'où une dysfonction mitochondriale conduisant à la neuropathie (68).



*d'après Jack M, 2012 (63)*

## 2) Complications macrovasculaires

La pathologie cardiovasculaire est la première cause de mortalité dans le monde. Le diabète fait partie des facteurs de risque indépendants de morbidité et mortalité cardio-vasculaire, tout comme l'âge, le sexe masculin, le tabagisme, l'hypertension artérielle ou la dyslipidémie.

Les patients diabétiques sont ainsi plus à risque de développer de l'athérosclérose, une coronaropathie, des artérites des membres inférieurs, ou des AVC. La coronaropathie représente même la première cause de décès prématuré chez la personne diabétique (69).

La prévalence de l'artériopathie oblitérante des membres inférieure (AOMI) est de 20 à 29% chez les diabétiques de type 2 et 8% chez les diabétiques de type 1 (70,71).

L'incidence de l'AOMI est 3,8 fois plus élevée chez les hommes et 6 fois plus élevée chez les femmes diabétiques par rapport aux sujets non diabétiques (72).

Les AGE sont impliqués dans la progression rapide de l'athérosclérose chez les sujets diabétiques puisque leur accumulation dans les parois artérielles et leur interaction avec les récepteurs endothéliaux participe à la rigidité artérielle, augmente la perméabilité vasculaire, entraîne une migration des macrophages et lymphocytes T dans l'intima, et inhibe l'expression de la NO synthase endothéliale. L'inactivation du monoxyde d'azote (NO) par le collagène glyqué inhibe ses effets antiprolifératifs et de relaxation vasculaire. Les conséquences sont une augmentation de l'activité pro coagulante, et une altération de la relaxation endothéliale (16,73-75).

Les AGE ont été retrouvés en excès au niveau des artères coronaires et notamment au niveau des plaques d'athérome des patients diabétiques (34).

Dans la première étude prospective chez une large population de 339 diabétique de type 1 avec un suivi médian de 12 ans, l'incidence des atteintes cardiovasculaires fatales ou non fatales augmentait avec les taux plasmatiques élevés d'AGE (CML, CEL, pentosidine) mesurés au début du suivi avec un hazard ratio à 1,3 (IC: 1.03-1.66), de même que la mortalité toute cause, indépendamment des facteurs de risques cardiovasculaires connus et des marqueurs de dysfonctions rénale, endothéliale, d'inflammation et de rigidité artérielle (76).

## C) Techniques de mesure des AGE

Il n'existe pas actuellement de gold standard pour la mesure des AGE.

### 1) Biopsie cutanée

La méthode d'évaluation du taux d'AGE reposait dans les études antérieures et notamment dans la cohorte du DCCT sur une technique invasive et longue, la biopsie cutanée après anesthésie locale. Un prélèvement de 4mm au niveau des fesses, 1 cm en dessous des crêtes iliaques était réalisé puis immédiatement rincé et congelé. Par technique de chromatographie, les taux de furosine, pentosidine et CML ou d'autres AGE étaient ainsi mesurés (8). Cette technique permet de mesurer précisément la teneur tissulaire en AGE mais est difficilement applicable en pratique clinique.

### 2) Dosages sanguins

Il est possible de mesurer le taux sanguin de certains produits de glycation avancé, à l'aide d'un prélèvement sanguin veineux à jeun mis dans un tube EDTA et conservé à -80°C, par la technique de chromatographie ou par la méthode ELISA.

Cependant, les résultats des études ayant cherché à établir un lien entre le taux plasmatique et le taux tissulaire ainsi qu'un lien entre le taux plasmatique d'AGE et le statut métabolique glycémique ou avec les événements cardiovasculaires ou les complications microangiopathiques sont discordants.

Certaines études ont des résultats positifs comme l'équipe de Nin qui constate que des taux élevés de CML, de N(epsilon)-(carboxyethyl)lysine (CEL) et de pentosidine dans le sang sont associés à la survenue à 12 ans d'événements cardiovasculaires et de décès de cause cardiaque ou non, chez des diabétiques de type 1, indépendamment des facteurs de risques connus et persistant après ajustement sur les marqueurs d'atteinte rénale, d'atteinte endothéliale, d'inflammation de bas grade et de rigidité artérielle. De plus ces AGE sont fortement corrélés entre eux, aucun n'étant indépendamment associé aux événements cardiovasculaires ou à la mortalité (76). Dans le même sens, Sugiyama relève des taux de pentosidine plasmatique significativement plus haut chez les diabétiques de type 2 ayant une hypertension artérielle ou une cardiopathie ischémique par rapport à ceux qui en sont indemnes (77).

En revanche, pour Sell il n'y a pas de corrélation entre le taux de pentosidine au niveau sanguin et dans les biopsies cutanées des mêmes patients, bien que le taux de pentosidine dans les biopsies cutanées et dans le plasma étaient significativement plus élevés chez les patients diabétiques 1 par rapport aux sujets contrôles (78).

Hanssen retrouve également des résultats négatifs concernant les AGE plasmatiques puisqu'il note que le taux plasmatique de CEL augmente chez les personnes avec une intolérance au



glucose ou chez les diabétiques par rapport à ceux avec un statut glycémique normal alors qu'à l'inverse celui de CML diminue, et que ces différences disparaissent après ajustement sur les facteurs de confusion. De même aucun AGE n'est retrouvé dans son étude significativement corrélé de façon indépendante aux événements cardiovasculaires (79).

Il en est de même dans la cohorte de patients diabétiques de type 2 étudiée par Sugiyama, où aucune différence n'est retrouvée concernant le niveau plasmatique de pentosidine entre les diabétiques de type 2 et les sujets contrôles, ni dans les taux de pentosidine chez les diabétiques selon le niveau d'excrétion urinaire d'albumine ou la présence de rétinopathie (77).

Ces résultats contradictoires selon les études peuvent s'expliquer de plusieurs façons. Premièrement, des échantillons de populations réduits dans les études ont pu ne pas mettre en évidence une différence existante par manque de puissance. A l'inverse, les résultats positifs des premières études peuvent être biaisés par l'absence d'ajustement sur des facteurs de confusion potentiels. Enfin, les examens sanguins, de même que les examens urinaires, ne permettent pas de refléter correctement le niveau tissulaire en AGE, du fait que l'accumulation tissulaire et la concentration intracellulaire en AGE est plus élevée que le taux sanguin d'AGE, puisque la glycation intracellulaire est probablement la principale source d'AGE (80,81).

Des facteurs sériques interfèrent avec les dosages des AGE (82). Le taux plasmatique d'AGE sous forme libre ou liées aux protéines plasmatiques n'est alors sûrement pas un reflet adéquat du niveau d'AGE lié aux protéines à longue durée de vie des matrices tissulaires. De plus, les AGE mesurés au niveau plasmatique ne sont peut être pas représentatifs de tous les AGE.

### 3) Autofluorescence cutanée par l'AGE reader

L'autofluorescence cutanée apparaît donc comme une alternative intéressante à la biopsie et aux mesures plasmatiques pour évaluer la teneur en AGE des tissus cutanés.

#### a) Principes de l'AGE Reader (13)(28)(83)

Le principe de l'AGE Reader repose sur le brunissement des protéines et la formation de pigments qu'entraîne la glycation des protéines, rendant certains AGE fluorescents.

L'AGE Reader est le premier dispositif de mesure non invasive des AGE par fluorescence cutanée. L'intérêt de cette méthode est qu'elle est non invasive, automatisée, reproductible, non opérateur dépendant, simple d'utilisation, rapide, délivrant un résultat en moins de 30 secondes.

Il permet d'estimer l'accumulation des AGE chez les patients en utilisant l'autofluorescence (AF) de la peau sous l'action d'une lumière ultraviolette qui illumine 4cm<sup>2</sup> de peau au niveau de la face ventrale de l'avant bras.

La lumière émise par l'AGE Reader excite des groupements fonctionnels fluorescents au niveau de la peau qui à leur tour émettent un spectre lumineux à des longueurs d'ondes entre 300 et 420nm. Une fibre optique détecte l'émission de la lumière et reflète l'excitation lumineuse à un angle de 45°. Un spectromètre et un logiciel informatique sont ensuite utilisés pour analyser l'intensité du spectre.

L'autofluorescence cutanée est calculée comme le ratio entre l'intensité d'émission totale (420-600nm) et l'intensité d'excitation totale (300-420nm) multiplié par 100 et exprimé en unité arbitraire (UA).

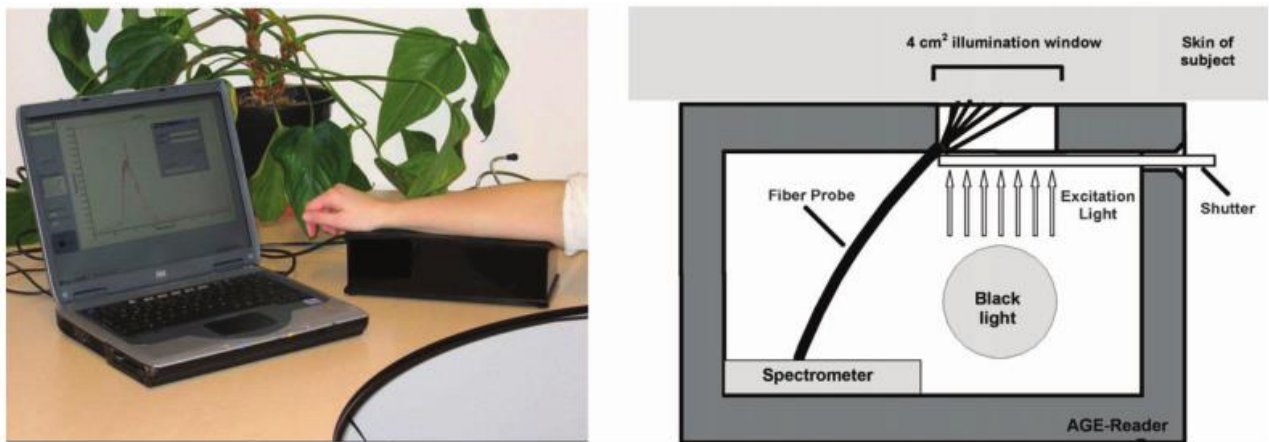


Fig. 1. Autofluorescence reader in a clinical setting (a). Schematic view of the autofluorescence reader (b).

*d'après Dyer, 1993 (6)*

#### b) Validité de l'AGE Reader (28,84,85)

L'AGE Reader a été évalué par de nombreuses études cliniques comprenant plus de 1000 patients. Les résultats de Meerwaldt démontrent ainsi que la comparaison des valeurs obtenues avec l'AGE Reader avec les valeurs d'AGE contenues dans les biopsies cutanées réalisées au même endroit chez des diabétiques de type 1 et 2 et chez des sujets contrôles caucasiens avec une peau non pigmentée retrouve une bonne corrélation, validant l'autofluorescence cutanée comme alternative non invasive pour évaluer l'accumulation tissulaire en AGE. En effet, l'autofluorescence cutanée est corrélée au niveau de certains AGE cutanés : collagen linked fluorescence (CLF) ( $r=0,62$ ,  $p<0,001$ ), pentosidine ( $r=0,55$ ,  $p<0,001$ ), CML ( $r=0,55$ ,  $p<0,001$ ), et CEL ( $r=0,47$ ,  $p=0,002$ ) (13).

Le site de la mesure n'influence pas les résultats, il n'y a pas de différence entre les 2 avant-bras ( $r= 0,93$ ,  $p<0,001$ ), et les mesures à l'avant bras et aux mollets sont corrélées entre-elles. L'autofluorescence cutanée est reproductible, puisque des mesures répétées chez un même sujet au cours de la même journée ou lors d'une autre saison, ou des mesures réalisées par un autre opérateur ou un autre AGE Reader, ont mis en évidence un pourcentage d'erreur d'environ 5%, non dépendant du taux d'autofluorescence cutanée.

Cependant, tous les AGE ne sont pas fluorescents, comme le CML, et certains composants tissulaires autres que les AGE peuvent être fluorescents et fausser la valeur de l'AF.

Mais des études ont montrés que les niveau d'AGE cutanés fluorescents ou non sont corrélés entre eux, comme par exemple le CML et la pentosidine ( $r= 0,46$ ,  $p<0,001$ ), et que l'autofluorescence cutanée est corrélée avec le niveau cutanée d'AGE non fluorescents, suggérant que les AGE se comportent de la même manière et que l'autofluorescence cutanée peut être le marqueur du pool total d'AGE et de ses effets délétères.

L'AF a pour limite en revanche de ne pouvoir être utilisée chez les personnes ayant une peau pigmentée, de phototype V ou VI, à cause de la forte absorption de l'excitation lumineuse.

## D ) Valeur de l'autofluorescence cutanée

### 1) Valeur de référence chez le sujet sain (86)

Koetsier a recherché à établir des valeurs de référence de l'AF chez le sujet caucasien en bonne santé, non diabétique sans insuffisance rénale (créatinine : 70-110 $\mu$ mol/L) et sans évènement cardiovasculaire. Il a été mis en évidence une augmentation linéaire avec l'âge d'environ 0,023 UA par an jusqu'à 70 ans.

Il en découle une formule permettant d'estimer l'AF moyenne normale avec un écart type de 20%, valable dans les deux sexes :  $AF = 0,024 \times \text{âge} + 0,83$ .

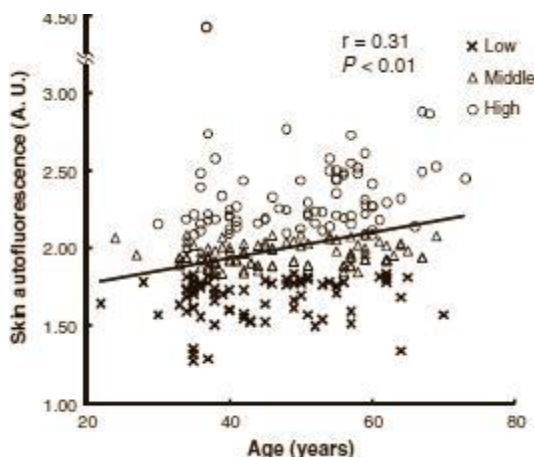


TABLE 1. MEAN SKIN AF VALUES AND GROUP SIZE PER AGE GROUP FOR THE ENTIRE DATASET

Age group (years)	AF	Number	P
0-10	0.97 ± 0.17	45	<0.01
10-20	1.11 ± 0.20	50	<0.01
20-30	1.53 ± 0.30	62	<0.01
30-40	1.73 ± 0.42	86	0.21
40-50	1.81 ± 0.36	72	<0.01
50-60	2.09 ± 0.36	64	<0.01
60-70	2.46 ± 0.57	45	0.12
70-80	2.73 ± 0.55	27	0.51
80+	2.71 ± 0.44	5	

Data are mean ± 1 SD values, in AU. Significance between subsequent age groups is indicated as P values from Student's *t* test.

d'après Koetsier M, 2010 (86)

## 2) Facteurs influençant la mesure

### a) Tabagisme

Le tabac étant connu pour augmenter l'accumulation d'AGE, Koetsier a enregistré chez les sujets tabagiques une valeur d'AF significativement plus élevée de 0,16 UA ( $p < 0,01$ ), conduisant à des formules plus précises selon le statut tabagique :

Non fumeur :  $AF = 0,023 \times \text{âge} + 0,83$  (écart type 18%)

Fumeur :  $AF = 0,029 \times \text{âge} + 0,78$  (écart type 23%)

De plus, les femmes tabagiques ont une AF supérieure de 0,2 UA ( $p = 0,02$ ) par rapport aux hommes tabagiques, et supérieure de 0,24 par rapport aux non fumeurs ( $p < 0,01$ ).

Le genre n'a pas d'influence par contre chez les non fumeurs (86).

En revanche, d'après Meerwaldt, le tabac n'était pas relié à l'autofluorescence cutanée chez les diabétiques (13), de même la différence d'AF n'était pas significative selon le statut tabagique dans l'étude de Genevieve (87).

### b) Période post prandiale

La valeur de l'AF pourrait être conditionnée par l'horaire du dernier repas, puisqu'elle s'élève en post prandial avec une différence significative dès la 2ème heure et maximale à la 4ème heure. Cette élévation est discrète, de 2 à 11% selon les études, chez les diabétiques et chez les sujets sains, sans lien avec le contenu en AGE du repas (88,89).

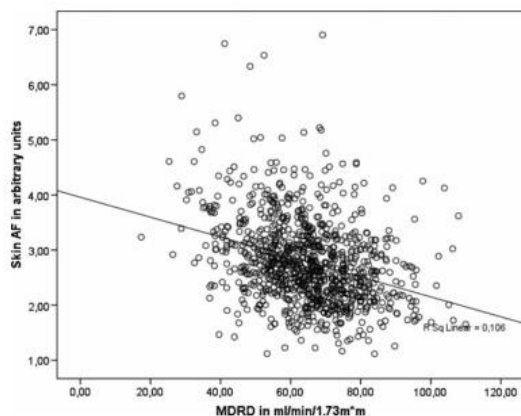
### c) Fonction rénale

L'insuffisance rénale, par diminution de la clairance des AGE est une source d'augmentation de l'AF (28). Dans la population de diabétique de type 2 de la cohorte de l'étude ZODIAC, l'autofluorescence cutanée est corrélée au débit de filtration glomérulaire mais n'est pas un facteur fortement associé à la fonction rénale ( $r = 0,106$ ,  $p < 0,001$ ) (15).

**Table 1.** Skin AF and MDRD

MDRD category (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	N	Skin AF (mean ± SD) (arbitrary units)	Age (mean ± SD) (years)
1. eGFR ≥ 90	38	2.41 ± 0.66	56 ± 11
2. 60 < eGFR ≤ 90	578	2.64 ± 0.70	63 ± 11
3. 30 < eGFR ≤ 60	351	3.05 ± 0.81	73 ± 9
4. 15 < eGFR ≤ 30	6	4.02 ± 1.07	76 ± 6

Compare means of skin AF by one-way ANOVA: MDRD category 1 versus 2:  $P = 0.39$ ; 1 versus 3 and 4:  $P < 0.001$ ; 2 versus 3 and 4:  $P < 0.001$ ; 3 versus 4:  $P = 0.009$ .



**Fig. 2.** Scatterplot MDRD versus skin AF.

*d'après Esther G, 2009 (28)*

#### d) Maladie hépatique

Il a été également noté que l'AF était perturbée en cas d'hépatopathie, avec une augmentation en cas de cirrhose et une diminution en cas d'ictère, en lien probablement aux propriétés optiques de la bilirubine (90).

#### e) Facteur génétique et environnemental

L'existence de facteurs génétiques ou environnementaux influençant les mesures d'AF a pu être évoquée devant une corrélation des valeurs au sein des fratries (binôme diabétique de type 1- témoins apparenté) ( $r = 0,56$ ,  $p < 0,01$ ) (91).

#### f) Diabète

L'accumulation d'AGE étant un processus glucose-dépendant lié au taux et à la durée d'hyperglycémie, il est logique que Meerwaldt ait constaté que la moyenne des autofluorescences cutanées était 25% plus élevée de façon significative dans le groupe des patients diabétiques (type 1 et 2) que dans le groupe contrôle. De plus, l'augmentation de l'autofluorescence liée à l'âge était 2,1 fois plus importante chez les diabétiques que chez les contrôles (13).

Dans une étude pédiatrique, les résultats sont similaires avec une AF augmentée chez les diabétiques de type 1 par rapport aux témoins (Z score  $1,37 \pm 1,1$  vs  $0,38 \pm 0,2$ ,  $p < 0,001$ ), mais sans corrélation significative avec la durée d'évolution du diabète, contrairement à ce qui est retrouvé dans les populations adultes de diabétiques (91).

#### g) Hémoglobine glyquée

L'AF et l'hémoglobine glyquée sont des marqueurs du contrôle glycémique, cependant ces deux paramètres ne sont pas fortement corrélés dans les différentes études. Pour Gerrits, l'AF au cours d'un suivi de 3,3 ans, ajustée sur la première, chez des diabétiques de type 2 est liée à différentes mesures d'hémoglobines glyquées (initiale, moyenne, maximale, variance) mais de façon faible, avec des coefficients de corrélation inférieur à 0,1, La valeur de l'AF à la fin du suivi est par contre plus influencée par l'âge et la première AF (92).

D'après Genevieve, l'AF de patients diabétiques de type 1 est associée à la moyenne des hémoglobines glyquées des 2 et 5 dernières années mais pas à celle faite au moment de l'AF(87), et de même chez les enfants il n'existait pas de corrélation significative entre l'AF et la glycémie capillaire ou l'HbA1c faites au moment de la mesure d'AF(91).

Dans une population de patients japonais diabétiques de type 1, Sugisawa a montré que l'AF reflète le contrôle glycémique passé puisqu'elle est significativement corrélée aux hémoglobines glyquées des 5 à 15 dernières années (5 dernières années:  $r = 0.35$ ,  $p < 0.0001$ ; 10 dernières années:  $r = 0.36$ ,  $p < 0.0001$ ; 15 dernières années:  $r = 0.55$ ,  $p < 0.0001$ ) mais pas aux 20 dernières années ( $r = 0.22$ ,  $p = 0.13$ ) (11).

Le taux d'AF est donc partiellement déterminé par le contrôle glycémique défini par différentes mesures d'hémoglobines glyquées mais ces résultats suggèrent que le contrôle glycémique à moyen terme influence peu la variation de sa valeur. L'AF estimant l'accumulation tissulaire des AGE, notamment au niveau de collagène ayant une longue durée de vie, elle reflète plus le phénomène de mémoire glycémique que l'équilibre récent du diabète, estimé par les valeurs d'hémoglobines glyquées.

#### h) Complications du diabète

Plusieurs études transversales ont établi un lien entre la valeur de l'AF et la présence voire même la sévérité de certaines complications micro ou macrovasculaires à la fois chez le diabétique de type 1 et de type 2 (11,14,87,92). Nous le reverrons de façon détaillée plus loin dans la discussion.

## Objectif

L'AGE Reader est une nouvelle technologie qui a fait ses preuves dans plusieurs études pour mesurer l'accumulation tissulaire chronique en AGE de façon rapide, non invasive et fiable, grâce à leur propriété fluorescente. La valeur d'autofluorescence obtenue par cette méthode reflète le phénomène de mémoire glycémique qui est à l'origine des complications du diabète. Les études ont retrouvés une bonne corrélation entre l'AF et l'âge, la moyenne des hémoglobines glyquées des années précédentes, le tabagisme et l'atteinte rénale, qui sont connus pour être des facteurs de risque des complications du diabète (93). Il était donc possible que l'AF soit également associée aux complications diabétiques ; des études transversales ont en effet mis en évidence que la prévalence des complications était liée à la valeur de l'AF.

La valeur pronostique de l'AF commence à être démontrée dans des études longitudinales comme marqueur de risque de mortalité ou de complications diabétiques, mais les études prospectives jusqu'à présent réalisées sont peu nombreuses et concernent principalement les sujets diabétiques de type 2. (14,15,94).

A notre connaissance, il n'existe pas d'étude concernant la valeur prédictive de l'AF sur l'apparition des complications micro et macrovasculaires et sur la mortalité chez le sujet diabétique de type 1.

L'objectif de l'étude était ainsi de déterminer si la mesure de l'autofluorescence cutanée est prédictive des différentes complications vasculaires à venir liées au diabète au cours d'une période de suivi de 4 ans chez des patients diabétiques de type 1 suivi à l'hôpital de Haut Lévêque.

# Sujets et méthode

## A) Type d'étude

Nous avons mené une étude observationnelle longitudinale prospective auprès de 243 patients diabétiques de type 1 volontaires suivis en consultation par les Professeurs RIGALLEAU et GIN ou hospitalisés dans le service de diabétologie de l'hôpital de Haut Lévêque à Pessac.

Au cours de l'année 2009, une mesure d'autofluorescence cutanée a été effectuée chez ces patients (87), à l'aide de l'AGE-Reader (DiagnOptics BV, Gronigen, The Netherlands).

Les paramètres recueillis à cette période étaient l'âge, la durée du diabète, le sexe, le poids, la taille, l'IMC, le statut tabagique, l'hémoglobine glyquée, le bilan lipidique, la créatinine, le débit de filtration glomérulaire (DFG), la présence ou non d'une pompe à insuline, la prise ou non de traitement du système rénine angiotensine (inhibiteur de l'enzyme de conversion ou antagoniste du récepteur de l'angiotensine), et la présence de complications micro ou macrovasculaire. La rétinopathie était classée en quatre stades (absente, non proliférative minime, oedème maculaire, et préproliférative ou proliférative).

Mon travail a consisté à reconvoquer ces patients à 4 ans, entre 2013 et 2014 pour rechercher l'apparition ou l'aggravation de complication microvasculaire et macrovasculaire liées au diabète dans l'intervalle. Parmi les 243 patients vus en 2009, 118 ont été réévalués par Sovannpany Nov, stagiaire en master 2 durant l'année 2013. Pour les 125 autres patients, ceux dont le suivi en consultation était régulier ont été interrogés au décours de leur consultation, ceux qui étaient perdus de vue ont été contactés par téléphone afin d'être vu à l'hôpital et en cas de refus ou d'impossibilité, un questionnaire téléphonique leur était proposé. Pour les patients injoignables, le recours au médecin traitant par téléphone a été nécessaire. Certains patients ont en revanche été perdus de vue, ou les données les concernant étaient incomplètes.

La recherche de l'apparition ou de l'aggravation d'une rétinopathie a consisté à demander les derniers résultats des examens de fond d'oeil, en recherchant l'apparition de nouvelle lésion, ou le recours à du laser, des injections ou une chirurgie ophtalmologique.

L'apparition ou l'aggravation d'une néphropathie était définie par une augmentation du taux sanguin de créatinine responsable d'une diminution du DFG inférieure à 60 mL/min/1,73m<sup>2</sup>, l'apparition d'une microalbuminurie pathologique, ou la mise en dialyse.

L'albuminurie était définie comme physiologique en dessous de 30mg/24h, il s'agissait d'une microalbuminurie entre 30 et 300mg/24h et d'une macroalbuminurie au delà de 300mg/24h. Le débit de filtration glomérulaire était estimé à partir de la formule CKD-EPI (95) comme suit :



Femme : créatinine $\leq 62$ $\mu\text{mol/L}$ :	$\text{DFG} = 144 \times (\text{créat}/0,7)^{-0,329} \times (0,993)^{\text{âge}}$
créatinine $> 62$ $\mu\text{mol/L}$ :	$\text{DFG} = 144 \times (\text{créat}/0,7)^{-1,209} \times (0,993)^{\text{âge}}$
Homme : créatinine $\leq 80$ $\mu\text{mol/L}$ :	$\text{DFG} = 141 \times (\text{créat}/0,9)^{-0,411} \times (0,993)^{\text{âge}}$
créatinine $> 80$ $\mu\text{mol/L}$ :	$\text{DFG} = 141 \times (\text{créat}/0,9)^{-1,209} \times (0,993)^{\text{âge}}$

Une maladie rénale chronique était définie par une diminution du DFG en dessous de 60mL/min/1,73m<sup>2</sup> et/ou l'apparition d'une microalbuminurie pathologique.

Un patient était retenu comme ayant développé ou aggravé une neuropathie en cas de nouvelle plainte évoquant une douleur neurogène, évaluée à l'aide du score DN4 (96) (annexe), de l'apparition d'un déficit sensitif (évalué par le monofilament, le diapason ou la neuroesthésiométrie (NES)) (97) ou d'une plaie plantaire (mal perforant plantaire).

Le score DN4 est un outil clinique d'interrogatoire et d'examen développé par le Centre d'Etude et Traitement de la Douleur neuropathique français, permettant d'aider au diagnostic d'une douleur neuropathique avec une bonne sensibilité en cas de score supérieur ou égal à 4 parmi les 10 items.

La neuroesthésiométrie permet quant à elle de quantifier le seuil de perception vibratoire évaluant la sensibilité profonde. Il s'agit d'un test de dépistage de la neuropathie non invasif, de réalisation facile et rapide qui a l'avantage de donner une valeur chiffrée en micro-volt ce qui permet de réaliser des comparaisons et de suivre l'évolution de la neuropathie. A titre informatif, la gamme de réponses étudiées par cet appareil est large puisque les patients indemnes ont des seuils de perception vibratoire à 4 ou 5 micro-volts, alors que d'autres patients peuvent toujours ne rien sentir pour des seuils vibratoires de 50 micro-volts.

Pour compléter l'évaluation neurologique, il a également été réalisé pour un groupe de patients, l'étude de la sensibilité à l'aide de la neuroesthésiométrie, de la force musculaire de la main par dynamomètre ( ou hand grip) (98 annexe) et de la fonction sudorale au niveau des mains et des pieds à l'aide d'un Sudoscan (99)(annexe).

Le dynamomètre permet la mesure de la force de préhension, par contraction isocinétique des muscles du membre supérieur en donnant une valeur chiffrée en kilogrammes. Plusieurs mesures sont réalisées successivement avec la main droite puis gauche, en position debout, le bras tendu, et la valeur la plus élevée était retenue.

Le sudoscan est une technique non invasive et rapide qui permet de dépister une neuropathie autonome en évaluant la fonction sudorale au niveau des mains et des pieds. Le principe repose sur la mesure de conductances au niveau de la peau résultant de la réaction électrochimique entre les ions chlorures de la sueur et des électrodes en contact avec la paume des mains et la plante des pieds.

Une nouvelle complication macrovasculaire comprenait l'apparition d'un AVC (déficit moteur et/ou verbal, éventuellement revascularisation cérébrale), un syndrome coronarien aigu (précordialgie, infarctus, pose de stent ou pontage coronarien), une artérite des membres inférieurs (claudication intermittente, revascularisation des membres inférieurs par stent ou pontage), ou une gangrène.

Les décès ont également été répertoriés.

Les données ont été recueillies dans un tableur excel.

## B) Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel IBM SPSS .

Les variables sont exprimées en moyenne +/- écart type

Les études de corrélation ont été réalisées par régression.

La significativité est définie par un  $p < 0,05$ .

## Résultats

Nous verrons dans un premier temps les caractéristiques des patients de notre étude, puis nous comparerons les valeurs d'AF des patients ayant développé ou aggravé une complication diabétiques par rapport à ceux qui en sont indemnes en fin d'étude en considérant de façon séparée chaque complication puis en les regroupant.

### A) Description de la population

243 patients, dont 100 femmes et 143 hommes ont bénéficié d'une autofluorescence en 2009. Leur moyenne d'âge était de 51 ans +/- 16 (14-85) avec une durée de diabète de 21 ans +/- 13 (0-62), et un IMC moyen de 24,9 +/- 4,1 (12,7-40,4).

Les patients étaient majoritairement non fumeurs à 75%, ou tabagiques sevrés à 18%, et seul 8% étaient des fumeurs actifs.

Sur le plan thérapeutique, 20,1% étaient traités par pompe à insuline et 44,7% avaient un traitement du SRAA.

Au niveau biologique, leur hémoglobine glyquée était en moyenne à 7,6% +/- 1,1 (5,3-16,3), leur bilan lipidique était bien équilibré avec : TG: 0,92g/L +/- 0,63 (0,2-6,4), LDL: 1,03g/L +/- 0,29 (0,38-1,99), HDL: 0,63g/L +/- 0,19 (0,29-1,35), l'albuminurie moyenne était à 55mg/24h +/- 222 (1-2150) et le DFG moyen à 87 mL/min/1,73m<sup>2</sup> +/- 25 (6-146).

L'AF moyenne réalisée en 2009 était à 2,13 UA +/- 0,57 (1-4,2).

Concernant les complications présentes au début de l'étude, la rétinopathie était absente chez 153 patients (63%), non proliférante pour 52 patients (21%), préproliférante ou proliférante chez 33 sujets (14%), et un oedème maculaire était présent chez 5 sujets (2%).

La néphropathie concernait en 2009 49 sujets (20%), avec une albuminurie pathologique supérieure à 30mg/24h dans 14,3% des cas et un DFG <60mL/min/1,73m<sup>2</sup> dans 12,3% des cas.

Une macroangiopathie était retrouvée en début d'étude chez 27 patients (11,1%).

## B) Devenir des patients

### 1) Complications microvasculaires

#### a) Neuropathie

Analyse univariée :

	Nouvelle neuropathie	autres	Valeur de p
	n= 28	n=215	
AF (UA)	2,48 +/- 0,69	2,08 +/- 0,54	0,000
Age (ans)	61 +/- 13	49 +/- 16	0,000
Sexe (%femme)	33%	43%	NS
Durée du diabète (ans)	29 +/- 17	20 +/- 12	0,002
Taille (cm)	172 +/- 8	168 +/-8	0,069
Albuminurie (mg/24h)	133 +/- 370	44 +/- 192	0,048
DFG (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	72 +/- 23	89 +/- 24	0,001
Maladie rénale chronique	54%	18%	0,000
Pompe	14%	20%	NS

La neuropathie était liée significativement à l'AF, l'âge, la durée du diabète, à l'albuminurie et au DFG.

Mais en analyse multivariée, l'apparition ou l'aggravation d'une neuropathie était indépendamment associée à l'AF ( $p=0,03$ ) ; à l'âge ( $p=0,02$ ) et à la taille ( $p=0,006$ ), mais pas à la durée du diabète, ou aux paramètres rénaux.

L'AF prédit donc l'apparition d'une neuropathie à 4 ans, même en l'ajustant à l'âge et à la taille.

Notre définition de la neuropathie étant clinique et imprécise, nous avons voulu la consolider avec des explorations réalisées en fin d'étude dont les résultats caractéristiques sont présentés dans le tableau suivant.

Caractéristiques en 2014	Nouvelle neuropathie	autres	Valeur de p
NES pied droit	17 +/- 12	8 +/- 7	0,000
NES pied gauche	19 +/- 11	9 +/- 8	0,000
NES main	4,9 +/- 5,5	2,3 +/- 2,5	0,000
DN4	1,5 +/- 1,9	0,7 +/- 1,3	0,036
Force musculaire par hand grip (en kg)	25 +/- 9	31 +/- 12	0,034
Conductance électrique aux pieds (en microSiemens)	64	73	0,046
Conductance électrique aux mains (en microSiemens)	57	61	NS

Ainsi, en analyse univariée, les patients ayant développé ou aggravé une neuropathie, ont en fin d'étude de façon significative, une neuroesthésiométrie supérieure témoignant d'une diminution de la sensibilité, un score DN4 plus élevé, une force musculaire moindre et une fonction sudorale altérée au niveau des pieds comme en témoigne une conductance électrique diminuée.

La régression linéaire multivariée entre l'AF et les variables reliées à la neuropathie retrouve que les valeurs de neuroesthésiométrie au niveau des pieds réalisées à 4 ans, ne sont pas corrélées à l'AF initiale, mais sont liées à l'âge et à la taille ( $p < 0,001$ ). En revanche, le score DN4 et la force musculaire sont significativement associés à l'AF réalisée 4 ans auparavant, et sont indépendantes de l'âge et de la taille.

#### b) Rétinopathie

Il n'y avait pas de différence significative entre les AF des 27 patients ayant développé ou aggravé une rétinopathie et les 178 autres sujets, avec respectivement 2,29 UA +/- 0,69 et 2,12 UA +/- 0,55, ( $p = 0,15$ ).

#### c) Néphropathie

Il n'a pas été retrouvé dans l'étude de différence significative entre les AF des patients selon leur niveau d'excrétion urinaire d'albumine ou niveau de filtration glomérulaire à 4 ans. Cependant ces résultats ont été effectués sur un effectif de patient plus réduit pour lesquels les données biologiques de créatinine et d'albuminurie n'ont pu être collectées en 2013, respectivement  $n = 138$  et  $n = 118$ .

#### d) Complications microvasculaires toutes confondues

Parmi les 243 patients, la recherche de la présence ou de l'absence de toutes les complications microvasculaires a été possible chez 115 sujets. Chez ces patients, 79 n'ont développé aucune complication microangiopathique, 30 en ont développé une (leur AF moyenne était à 2,4), 5 en ont développé 2 et 1 sujet a développé les 3 atteintes microvasculaires (son AF était à 1,7). Sur cet effectif limité, l'apparition d'une ou plusieurs complications microvasculaires n'est pas significativement corrélée à l'AF antérieure, après ajustement sur l'âge (p=0,095).

#### 2) Complications macrovasculaires

En analyse univariée, l'apparition d'une complication macrovasculaire est liée à l'AF, l'âge, le sexe, la durée du diabète, l'albuminurie, la filtration glomérulaire et la prise de traitement du SRAA.

	Nouvelle macroangiopathie n= 14	Autres n= 199 (perdu de vu=30)	Valeur de p
AF (UA)	2,54 +/-0,73	2,10 +/-0,55	0,005
Age (ans)	64 +/-12	50 +/-15	0,002
Sexe (%femme)	21%	42%	0,09
Tabagique (%)	14,3	23,6	NS
Durée du diabète (ans)	28 +/-17	21 +/- 13	0,042
HbA1c en 2009 (%)	7,5 +/-0,6	7,5 +/-1,8	NS
Pompe (%)	21	19	NS
LDL (g/L)	0,97 +/- 0,33	1,04 +/- 0,27	NS
HDL (g/L)	0,61 +/- 0,16	0,64 +/- 0,19	NS
TG (g/L)	0,95 +/- 0,48	0,90 +/- 0,66	NS
Albuminurie (mg/24h)	247 +/- 533	43 +/- 191	0,002
DFG en 2009 (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	68 +/- 28	88 +/- 23	0,003
Maladie rénale chronique en 2009(%)	42,9	20,8	0,064
Trt du SRAA (%)	93	42	0,000

Mais en analyse multivariée, après ajustement sur les facteurs de confusion et notamment sur l'âge, le lien entre AF et macroangiopathie est à la limite de la significativité (p= 0,054).

L'AF n'apparaît donc pas comme un marqueur indépendant de macroangiopathie.

### 3) Complications micro et macrovasculaires

En analyse univariée, l'apparition d'une complication liée au diabète est significativement corrélée à la valeur d'AF, avec une AF moyenne à  $2,04 \pm 0,5$  chez les 79 patients indemnes de nouvelles complications contre  $2,41 \pm 0,59$  chez les 45 patients ayant développé une ou plusieurs complications. Cette relation entre l'AF et l'apparition d'une complication vasculaire persiste de façon significative ( $p=0,03$ ) après ajustement sur l'âge.

En conclusion l'AF a une valeur prédictive de l'apparition des complications vasculaires du diabète indépendamment de l'âge.

### 4) Mortalité

Au cours du suivi, 6 patients (2,8%) sont décédés. Leur AF était à  $2,23 \pm 0,80$ , non significativement différente des 208 patients survivants ( $2,12 \pm 0,56$ ) ( $p=0,63$ ).

Les causes de décès étaient pour la moitié néoplasique (cancer métastatique de l'oesophage ou pulmonaire, glioblastome), et supposées cardiaques pour l'autre moitié.

## Discussion

Notre étude est la première à avoir recherché la valeur prédictive de l'autofluorescence cutanée dans l'apparition des complications micro et macrovasculaires chez des sujets diabétiques de type 1 avec un échantillon de patients important compte tenu de la prévalence de la maladie. Nous avons mis en évidence une relation significative entre l'autofluorescence cutanée et le développement des complications micro et macrovasculaires liées au diabète au cours d'un suivi de 4 ans, indépendamment de l'âge. En revanche, en distinguant les différentes complications, les résultats ne sont pas tous significatifs. L'apparition d'une neuropathie était significativement corrélée à la valeur de l'AF, mais ce n'était pas le cas pour la rétinopathie, la néphropathie, ou lorsque que les trois complications microvasculaires étaient étudiées ensemble. De même, il n'a pas été retrouvé de lien avec l'AF pour les complications macrovasculaires et la mortalité, avec toutefois des résultats à la limite de la significativité pour les complications macro vasculaires. Cette étude préliminaire ne peut cependant pas permettre de tirer des conclusions définitives concernant l'absence de résultats pour les autres complications que la neuropathie, où d'autres études devront être réalisées sur des échantillons plus importants ou des périodes de suivi plus longues.

L'intérêt de notre travail est qu'il s'agit de la première étude longitudinale réalisée chez des sujets diabétiques de type 1, avec un résultat positif pour la valeur prédictive de l'AF dans l'apparition ou l'aggravation d'une neuropathie. En effet, la lecture de la littérature concernant l'association entre l'AF et les complications diabétiques comprend majoritairement des études transversales et portant sur les sujets diabétiques de type 2. Nous rapporterons successivement les principaux résultats de ces études dont les résultats significatifs sont résumés dans le tableau suivant, et nous les comparerons à nos résultats. Nous discuterons enfin des limites de notre étude.



Auteur de l'étude	Référence	Année	Type d'étude	Population étudiée	Lien trouvé avec l'AF
Yasuda	100	2014	transversale	DT2	Rétinopathie
Hirano	101	2014	transversale	DT2	Rétinopathie
Rigalleau	102	2014	transversale	DT2	Insuffisance rénale, Macroangiopathie
Gerrits	92	2008	transversale	DT2	Macroangiopathie
Noordzjj	103	2012	transversale	DT2	Macroangiopathie
Gerrits	15	2008	longitudinale	DT2	Neuropathie, Néphropathie, toutes complications Microvasculaire
Meerwaldt	104		transversale	DT1 DT2	Rétinopathie Neuropathie sensitivomotrice et dysautonomique
Meerwaldt	14		transversale	DT1 DT2	Coronaropathie
Meerwaldt	14		longitudinale	DT1 DT2	Mortalité
Chabroux	105	2010	transversale	DT1	Neuropathie, Néphropathie
Sugisawa	11	2013	transversale	DT1	Rétinopathie, Néphropathie
Genevieve	87	2013	transversale	DT1	Rétinopathie, Néphropathie
Araszkiewicz	106	2011	transversale	DT1	Neuropathie
Araszkiewicz	107	2015	transversale	DT1	Rétinopathie, Néphropathie, Neuropathie, toutes Microangiopathie, Macroangiopathie
Tanaka	110	2014	longitudinale	Insuffisants rénaux chronique, stade préterminal	Doublement de la créatinine, Mise en dialyse
Meerwaldt	111	2005	longitudinale	dialysés	Mortalité
De Vos	112	2014	longitudinale	artériopathes	Mortalité

Chez les sujets diabétiques de type 2, deux études ont retrouvés des résultats significatifs concernant l'association entre l'AF et la rétinopathie diabétique. Yasuda note en effet que l'AF était plus élevée chez les diabétiques que chez les sujets contrôles (2.5 écart interquartile 2.3-2.7 contre 1.8 écart interquartile 1.6-2.3,  $p < 0.001$ ) et il y avait une augmentation significative de l'AF avec la sévérité de la rétinopathie ( $p = 0.034$ ) entre le groupe indemne et le groupe rétinopathie non proliférante, et entre les groupes rétinopathie non proliférante et proliférante ( $p < 0.01$ ). L'AF était un facteur indépendant indiquant la présence d'une rétinopathie proliférante chez le diabétique de type 2 avec un odd ratio (OR) à 17.2 ( $p < 0.05$ ) (100). Des résultats similaires pour la rétinopathie ont été retrouvés dans l'étude de Hirano. (101)

L'insuffisance rénale est également une complication microangiopathique dont il a été mis en évidence une association de façon indépendante avec l'AF parmi des diabétiques de type 2 suivi dans notre service (102).

Une étude a concerné toutes les complications microvasculaires réunies chez les sujets diabétiques de type 2 de la cohorte ZODIAC, et contrairement à nos résultats, l'AF était significativement plus haute chez les patients qui présentaient une ou plusieurs complications microangiopathique par rapport à ceux indemnes ( $p = 0,005$ ) (92). Cette étude de Gerrits retrouve également une AF plus élevée de façon significative ( $p < 0,001$ ), chez les patients ayant une complication macrovasculaire (92), ce qui est aussi retrouvé dans l'étude de Noordzjj où l'AF moyenne est à 2.85 (2.41-3.41) en présence de complications macrovasculaires versus 2.56 (2.26-2.90), avec une AF qui est associée aux complications macrovasculaires indépendamment des facteurs de risque classiques tels que l'âge, la durée du diabète, le genre, ou le tabagisme (103). Parmi les sujets de notre service, des résultats significatifs ont également été retrouvés pour l'association entre la macroangiopathie et l'AF. (102).

La première et seule étude de la valeur prédictive de l'AF sur le risque de développer une microangiopathie a été menée par l'équipe de Gerrits chez des sujets diabétiques de type 2 (15). Elle a concerné 973 patients de la cohorte ZODIAC chez qui une mesure d'AF était réalisée en début d'étude puis une complication microvasculaire (rétinopathie, neuropathie, microalbuminurie) a été recherchée annuellement de façon clinique (monofilament, fond d'oeil) ou biologiquement (albuminurie) au cours d'un suivi médian de 3,1 ans. Tout comme dans notre étude, aucune différence significative entre les AF initiales des 7% de patients développant une rétinopathie et les autres n'a été mise en évidence. Par contre chez les 10,1%

de personnes ayant développé une micro ou macro albuminurie, l'AF initiale était significativement plus élevée, tout comme chez les 7,5% ayant développé une neuropathie. Les résultats concernant la neuropathie sont concordants avec les nôtres mais pas ceux concernant la néphropathie. Lorsque l'on considère toutes les complications microvasculaires confondues, l'AF était significativement plus élevée dans l'étude de Gerrits chez les 12,5% personnes ayant développé une complication microangiopathique ( $p < 0,001$ ), ce que nous n'avons pas retrouvé non plus dans notre étude. L'AF apparaît ainsi dans cette étude fortement prédictive du développement ou de l'aggravation d'une complication microvasculaire, avec un OR à 2,02 (intervalle de confiance : 1,51-2,81,  $p < 0,001$ ). Après ajustement sur les facteurs de confusion que sont l'âge, le sexe, la durée du diabète, l'HbA1c, le bilan lipidique, l'IMC et la pression artérielle, l'AF restait significativement associée au risque de développer une neuropathie et une néphropathie mais pas une rétinopathie ( $p = 0,32$ ), qui est seulement en lien avec la durée du diabète. En divisant en 3 sous groupes les patients selon leur AF initiale, le sous groupe avec l'AF la plus élevée, supérieure à 3UA, était le plus à risque de développer une complication microvasculaire, 43%, contre 14% pour ceux dont l'AF initiale était inférieure à 2,35. Au total chez les patients diabétiques de type 2, l'AF était indépendamment prédictive des complications microvasculaires et avec une plus forte valeur que les autres facteurs de risque connus.

Meerwaldt a mené des études sur une population regroupant à la fois des diabétiques de type 1 et de type 2. Dans une étude transversale dont le but était d'évaluer la relation entre l'AF et la sévérité de la neuropathie, il retrouve une association entre l'AF et toutes les complications microvasculaires. Concernant la neuropathie, son équipe a noté que l'AF est augmentée chez les diabétiques sans neuropathie comparé aux sujets contrôles, et encore plus augmentée chez les diabétiques avec antécédent d'ulcération par neuropathie ( $p < 0,001$ ). Elle est corrélée aux échelles DNS (dutch diabetic neuropathy symptoms) ( $r = 0,34$ ,  $p = 0,02$ ) et DNE (dutch diabetic neuropathy examination) ( $r = 0,50$ ,  $p = 0,001$ ). L'AF est corrélée négativement à la vitesse et à l'amplitude de la conduction nerveuse sensorielle et motrice chez les diabétiques au niveau des nerfs médian, sural et péroné, ainsi qu'à la sensibilité baroreflexe et la variabilité de la fréquence cardiaque. L'AF est également reliée de façon indépendante au score de Wagner chez les patients diabétiques avec neuropathie (score utilisé pour quantifier la sévérité des ulcères chez les diabétiques, de 1 à 4). Au total, l'AF était augmentée dans l'étude de Meerwaldt chez les diabétiques en relation avec la sévérité de la neuropathie diabétique, aussi bien sensitivomotrice que dysautonomique, elle est reliée à la conduction nerveuse et aux

marqueurs de la fonction nerveuse autonome avant même qu'apparaissent les signes cliniques. Ces résultats suggèrent que l'AF est augmentée au stade précoce de la neuropathie diabétique et est corrélée à la sévérité de l'atteinte nerveuse et des ulcérations de pieds. Cette étude retrouve de plus que l'AF était liée à la fonction rénale ( $p < 0,01$ ), à l'excrétion urinaire d'albumine ( $p < 0,01$ ) et à la sévérité de la rétinopathie ( $p < 0,01$ ) (104).

Ce même auteur s'est également intéressé aux complications macrovasculaires et leur lien avec l'AF et constate que chez les diabétiques de type 1 et 2, la présence d'une atteinte coronarienne est fortement associée à une valeur plus élevée d'AF (OR : 7,9), indépendamment de l'hypertension artérielle et de la microalbuminurie (14).

C'est dans cette même et seule étude longitudinale que Meerwaldt a recherché pour la première fois la valeur prédictive de l'AF sur la mortalité parmi une population regroupant 48 sujets diabétiques de type 1 et 69 diabétiques de type 2, comparé à 43 sujets contrôles, suivi pendant 5 ans et qu'il a été retrouvé que l'AF prédit la mortalité avec un odd ratio à 3, avec une meilleure valeur prédictive que les facteurs de risque connus (14).

Concernant les sujets diabétiques de type 1, seules des études transversales ont été conduites. La première étude évaluant l'association entre l'AF et les complications microangiopathiques chez le diabétique de type 1 est celle de l'équipe de Chabroux, retrouvant que la néphropathie et la neuropathie étaient indépendamment associées au niveau d'AF en analyse multivariée, avec une AF qui augmentait avec la sévérité de la néphropathie. En revanche, il n'y avait pas de relation entre la rétinopathie et l'AF, probablement par manque de puissance ou par sous-estimation de l'accumulation des AGE dans la rétine par l'AF (105).

Des études ultérieures ont retrouvé un lien entre l'AF et la rétinopathie et la néphropathie : Sugisawa constate des valeurs d'AF qui augmentent avec la sévérité de la rétinopathie et de la néphropathie (11), et l'association de l'AF avec la rétinopathie et l'albuminurie a aussi été retrouvée chez les patients diabétiques de type 1 caucasiens de la cohorte de Genevieve (87).

Une étude polonaise menée par Araszkievicz sur 140 patients diabétiques de type 1 a mis en évidence que l'AF est associée à la neuropathie diabétique de façon significative en analyse multivariée, avec un odd ratio à 2.98 (intervalle de confiance: 0.99-8.90,  $p = 0.05$ ), mais il n'y avait pas de corrélation entre l'AF et la rétinopathie ou la néphropathie, alors qu'il y en avait en analyse univariée (106).

La même équipe retrouve dans une étude plus récente des résultats positifs en analyse multivariée chez 77 patients diabétiques de type 1, avec une AF associée à la rétinopathie diabétique (OR : 3,49), à la néphropathie diabétique (OR : 3,62), à la neuropathie diabétique

(OR :5), à toutes les complications microvasculaires réunies (OR : 3,13), et également associé à la macroangiopathie (107).

Notre étude est donc la première étude longitudinale menée chez des patients diabétiques de type 1 ayant recherché la valeur prédictive de l'AF sur l'apparition ou l'aggravation des complications diabétiques et ayant retrouvé un résultat significatif pour la neuropathie.

L'originalité de notre travail tient également dans le fait que l'on ne s'est pas limité à une définition clinique et subjective de la neuropathie, mais nous avons eu recours à plusieurs examens permettant de quantifier l'atteinte neurologique et d'évaluer plusieurs type de neuropathie. Nous avons en effet mesurer la force musculaire à certains patient et retrouvé que les patients ayant développé une neuropathie avaient de façon significative une force musculaire plus faible en fin d'étude. Ce résultat est d'ailleurs en accord avec l'étude de Momma, qui retrouvait une relation inverse entre la valeur d'AF et la force musculaire chez des sujets japonais en bonne santé (98).

Nos résultats significatifs sur la neuropathie peuvent être en partie appuyer par les constatations faites concernant le methylglyoxal, un métabolite réactif produit par l'hyperglycémie et responsable de la formation des AGE dont il a été retrouvé que la concentration plasmatique était plus élevée chez les patients souffrant d'une neuropathie diabétique douloureuse par rapport à ceux n'ayant pas de douleur. Le methylglyoxal dépolarise les neurones sensitifs et induit des modifications des canaux sodiques qui sont associés à une augmentation de l'excitabilité électrique, expliquant les douleurs nociceptives. (108-109)

Nous n'avons par contre pas mis en évidence de façon significative la valeur pronostique de l'AF pour prédire une rétinopathie ou une néphropathie diabétique, probablement par un manque de puissance, alors que le lien entre ces complications et l'AF avait été retrouvé dans des études transversales chez les diabétique de type 1 ou de type 2. Une étude longitudinale sur la valeur pronostique de l'AF parmi une populations de patients non diabétiques a retrouvé des résultats significatifs pour la progression de la néphropathie. L'accumulation tissulaire d'AGE mesurée par l'AF a été considérée de façon importante et indépendante comme prédictive de la progression de la néphropathie chez des patients présentant une insuffisance rénale chronique préterminale, puisque leur risque de doubler le taux sanguin de créatinine ou d'avoir recours à la dialyse au cours du suivi (médiane de suivi de 39 mois) était significativement plus élevé chez les patients ayant une AF supérieure à 2,31 UA. L'AF était prédictive de façon indépendante du doublement de la créatinine ou de la mise en dialyse,

même après ajustement sur l'âge, le genre, la durée du diabète, le statut tabagique, le DFG et la protéinurie avec un hazard ratio ajusté à 2,58 ( $p=0,004$ ) (110).

Concernant les complications macrovasculaires, selon nos résultats, l'AF n'est pas prédictive de l'apparition ou l'aggravation d'une macroangiopathie, alors que des études transversales avaient noté une association significative entre la valeur de l'AF et la présence d'une complication macrovasculaire chez les sujets diabétiques de type 2.

Dans notre étude, le nombre de décès était peu important (6 sujets), ce qui n'a pas permis de retrouver une différence significative d'AF. De plus il est intéressant de noter, que dans 50% des cas des décès, la cause était néoplasique, et non pas en lien avec une complication du diabète. Il existe des études qui ont trouvé un lien entre la valeur de l'AF et la mortalité chez différentes populations.

On retrouve dans la littérature des résultats discordants concernant la valeur de l'AF et le risque de mortalité. Pour Meerwaldt, l'AF prédit la mortalité ( $OR= 3$ ) chez les diabétiques de type 1 et 2, avec même une meilleure valeur prédictive que les facteurs de risque connus (14). D'autres études longitudinales se sont également intéressées à la valeur prédictive de l'AF chez des populations de patients non diabétiques avec des résultats positifs pour certains. Par exemple, chez des patients dialysés l'AF était prédictive de la mortalité toute cause ( $OR:3,9$ ) et cardiovasculaire à 3 ans, de façon importante et indépendante (111). De même, chez une population de patients avec une atteinte artérielle périphérique, l'AF était associée à la mortalité toute cause et cardiovasculaire, après ajustement sur les facteurs de risque cardiovasculaire (112). En revanche, dans une population de patients avec une insuffisance rénale au stade 3, l'association entre l'AF et la mortalité disparaissait après ajustement sur les facteurs de risque cardiovasculaire et notamment le diabète (113).

Une limite de notre étude peut être le manque de puissance à cause d'un échantillon de patient insuffisant ou par la durée de suivi trop courte, n'ayant pas permis de mettre en évidence de résultats significatifs pour certaines complications. La rétinopathie est en effet moins fréquente que la neuropathie, pour mettre en évidence une relation avec l'AF il aurait certainement nécessité un panel de patient plus important ou une période de suivi plus longue, puisque la corrélation entre les taux cutanés d'AGE par biopsie cutanée et les complications microvasculaires telles que la rétinopathie et la néphropathie existe d'après l'étude post DCCT prospective sur 10 ans chez 211 sujets diabétiques (8). Ce manque de puissance dans notre étude est lié aux sujets perdus de vue et à ceux dont le recueil de données concernant la

présence ou l'absence de complication n'a pu être réalisé de façon exhaustive. Cependant, le nombre de sujets inclus dans l'étude et sur lequel porte les résultats est relativement important compte tenu de la fréquence du diabète de type 1, et par rapport aux autres études menées jusqu'à présents chez les diabétiques de type 1.

Une autre limite de notre étude concerne les résultats positifs pour la neuropathie, qui ont pu être majorés par l'apparition d'une neuropathie d'étiologie non diabétique. Nous avons considéré dans cette étude que l'apparition d'un symptôme évocateur de neuropathie suffisait à classer le patient comme ayant développé cette complication, sans avoir écarté les autres causes de neuropathie par des examens complémentaires.

De plus, il est à noter que ces résultats ne peuvent pas être extrapolés à toute la population de sujets diabétiques, puisque les mesures d'autofluorescence réalisées avec l'AGE Reader n'ont été faites que chez des sujets caucasiens, les appareils ne permettant pas actuellement d'obtenir des valeurs fiables chez les personnes avec un phototype foncé, qui ont donc été exclues de l'étude.

## Conclusion

L'AF prédit l'apparition ou l'aggravation à 4 ans des complications vasculaires chez les sujets diabétiques de type 1, indépendamment de l'âge. Mais lorsque l'on considère les complications microvasculaires et macrovasculaires séparément, les résultats ne sont pas significatifs. Il n'a pas été retrouvé non plus de corrélation entre l'AF et la rétinopathie, la néphropathie ou la mortalité, probablement par manque de puissance. La valeur prédictive de l'AF est par contre significative pour la neuropathie. Nous ne pouvons pas tirer de conclusion définitive pour les autres complications, ces premiers résultats sur les diabétiques de type 1 seront à compléter par d'autres études.

La technique de mesure des AGE par l'autofluorescence cutanée permettrait d'identifier parmi les sujets diabétiques dont le risque individuel de développer des complications est hétérogène, ceux qui sont le plus à risque de développer des complications micro ou macrovasculaires liées au diabète et de cibler leur prise en charge. En effet, il n'existe à l'heure actuelle, aucune méthode utilisée en pratique clinique permettant de prédire les complications diabétiques, imposant aux patients un suivi régulier systématique. L'apport pratique de l'AGE Reader serait donc important.

Le potentiel rôle et le bénéfice en clinique de l'AF, ainsi que sa valeur prédictive positive ou négative a besoin pour être démontré de plus d'études prospectives, sur de longues périodes, avec de grands échantillons de patients et une stricte définition des complications avec des critères objectifs, notamment pour la neuropathie, avant que l'on puisse recommander l'utilisation de l'AGE reader de façon généralisée.



## Annexes

### Questionnaire DN4 :

#### QUESTIONNAIRE DN4 : un outil simple pour rechercher les douleurs neuropathiques

Pour estimer la probabilité d'une douleur neuropathique, le patient doit répondre à chaque item des 4 questions ci dessous par « oui » ou « non ».

QUESTION 1 : la douleur présente-t-elle une ou plusieurs des caractéristiques suivantes ?

	Oui	Non
1. Brûlure	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Sensation de froid douloureux	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Décharges électriques	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

QUESTION 2 : la douleur est-elle associée dans la même région à un ou plusieurs des symptômes suivants ?

	Oui	Non
4. Fourmillements	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Picotements	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Engourdissements	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7. Démangeaisons	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

QUESTION 3 : la douleur est-elle localisée dans un territoire où l'examen met en évidence :

	Oui	Non
8. Hypoesthésie au tact	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9. Hypoesthésie à la piqûre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Dynamomètre pour mesure de la force des mains :



Sudoscan pour mesure de la fonction sudorale:



# Bibliographie

1. Carine Franc  
Epidemiology of diabetes: frightening predictions  
Med Sci (Paris). 2013 Aug-Sep;29(8-9):711-4.
2. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group.  
Lancet. 1998 Sep 12;352(9131):854-65.
3. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group:  
The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus.  
N Engl J Med 329:977–986, 1993
4. Peppas M, Vlassara H.  
Advanced glycation end products and diabetic complications: a general overview.  
Hormones (Athens). 2005 Jan-Mar;4(1):28-37
5. Robert L, Robert AM.  
The Maillard reaction: physiopathological role and pharmacological approach.  
J Soc Biol. 2007;201(2):167-74
6. D G Dyer, J A Dunn, S R Thorpe, K E Bailie, T J Lyons, D R McCance, and J W Baynes  
Accumulation of Maillard reaction products in skin collagen in diabetes and aging.  
J Clin Invest. Jun 1993; 91(6): 2463–2469.
7. Monnier VM, Bautista O, Kenny D, Sell DR, Fogarty J, Dahms W, Cleary PA, Lachin J, Genuth S, the DCCT Skin Collagen Ancillary Study Group:  
Skin collagen glycation, glycooxidation, and crosslinking are lower in subjects with long-term intensive versus conventional therapy of type 1 diabetes: relevance of glycated collagen products versus A1C as markers of diabetic complications.  
Diabetes 48:870–880, 1999
8. Saul Genuth, Wanjie Sun, Patricia Cleary, David R. Sell, William Dahms, John Malone, William Sivitz, and Vincent M. Monnier, for the DCCT Skin Collagen Ancillary Study Group  
Glycation and Carboxymethyllysine Levels in Skin Collagen Predict the Risk of Future 10-Year Progression of Diabetic Retinopathy and Nephropathy in the Diabetes Control and Complications Trial and Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Participants With Type 1 Diabetes  
Diabetes. 2005 November ; 54(11): 3103–3111)
9. Klein WR, Klein BEK, Moss SE, Davis MD, DeMets DL.  
Glycosylated hemoglobin predicts the incidence and progression of diabetic retinopathy.  
JAMA 1988;260:2864–2871. [PubMed: 3184351
10. The DCCT Research Group.  
The relationship of glycemic exposure (HbA1c) to the risk of development and progression in the Diabetes Control and Complications Trial.  
Diabetes 1995;44:978–983

11. Sugisawa E1, Miura J, Iwamoto Y, Uchigata Y.  
Skin autofluorescence reflects integration of past long-term glycemic control in patients with type 1 diabetes.  
*Diabetes Care*. 2013 Aug;36(8):2339-45. doi: 10.2337/dc12-1077. Epub 2013 Apr 11.
12. Sell DR1, Lapolla A, Odetti P, Fogarty J, Monnier VM.)  
Pentosidine formation in skin correlates with severity of complications in individuals with long-standing IDDM.  
*Diabetes*. 1992 Oct;41(10):1286-92
13. Meerwaldt R, Graaff P, H. N. Oomen1, T. P. Links1, J. J. Jager, N. L. Alderson, S. R. Thorpe, J. W. Baynes, R. O. B. Gans, A. J. Smit  
Simple non-invasive assessment of advanced glycation endproduct accumulation  
*Diabetologia* (2004) 47:1324–1330
14. Meerwaldt R1, Lutgers HL, Links TP, Graaff R, Baynes JW, Gans RO, Smit AJ.  
Skin autofluorescence is a strong predictor of cardiac mortality in diabetes.  
*Diabetes Care*. 2007 Jan;30(1):107-12.
15. Gerrits EG1, Lutgers HL, Kleefstra N, Graaff R, Groenier KH, Smit AJ, Gans RO, Bilo HJ.  
Skin autofluorescence: tool to identify type 2 diabetic patients at risk for developing microvascular complication.  
*Diabetes Care*. 2008 Mar;31(3):517-21. Epub 2007 Nov 26.
16. Boulanger E 1,2, Ph. Dequiedt2 et J.-L. Wautier1.  
Les produits de glycation avancée (AGE):de nouvelles toxines?  
*Néphrologie* Vol. 23 n° 7 2002, pp. 349-357  
1Laboratoire de recherche en biologie vasculaire et cellulaire, INTS, Paris;  
2Clinique néphrologique, Hôpital A. Calmette, CHRU, Lille
17. Langlois C. Glycation et reaction de Maillard  
Chef de projet recherche Laboratoire PiLeJe  
[http://www.banque-pdf.fr/fr\\_reaction-chimique-complexe.html#ici](http://www.banque-pdf.fr/fr_reaction-chimique-complexe.html#ici)
18. Lee TC, Kimiagar M, Pintauro SJ, Chichester CO.  
Physiological and safety aspects of Maillard browning of foods.  
*Prog Food Nutr Sci*. 1981;5(1-6):243-56.
19. Koschinsky T1, He CJ, Mitsuhashi T, Bucala R, Liu C, Buenting C, Heitmann K, Vlassara H.  
Orally absorbed reactive glycation products (glycotoxins): an environmental risk factor in diabetic nephropathy.  
*Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Jun 10;94(12):6474-9.
20. Vlassara H, Palace MR.  
Diabetes and advanced glycation endproducts.  
*J Intern Med*. 2002 Feb;251(2):87-101.
21. Cerami C, Founds H, Nicholl I, Mitsuhashi T, Giordano D, Vanpatten S, Lee A, Al-Abed Y, Vlassara H, Bucala R, Cerami A.  
Tobacco smoke is a source of toxic reactive glycation products.  
*Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Dec 9;94(25):13915-20.
22. Nicholl ID, Bucala R.  
Advanced glycation endproducts and cigarette smoking.  
*Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 1998 Nov;44(7):1025-33.

23. Yan SF, Ramasamy R, Schmidt AM.  
Mechanisms of disease: advanced glycation end-products and their receptor in inflammation and diabetes complications.  
Nat Clin Pract Endocrinol Metab. 2008 May;4(5):285-93
24. Jean-Luc Wautier  
Récepteurs des produits de glycation avancée et diabète sucré  
Sang Thrombose Vaisseaux. Volume 9, Numéro 10, 637-41, Décembre 1997, Mini-revues
25. Schmidt AM, Hori O, Yan S, et al.  
RAGE : a novel cellular receptor for advanced glycation end products.  
Diabetes 1996 ; 3 : S77-80
26. Sasaki S1, Inoguchi T.  
The role of oxidative stress in the pathogenesis of diabetic vascular complications.  
Diabetes Metab J. 2012 Aug;36(4):255-61.
27. Galler A1, Müller G, Schinzel R, Kratzsch J, Kiess W, Münch G.  
Impact of metabolic control and serum lipids on the concentration of advanced glycation end products in the serum of children and adolescents with type 1 diabetes, as determined by fluorescence spectroscopy and nepsilon-(carboxymethyl)lysine ELISA.  
Diabetes Care. 2003 Sep;26(9):2609-15
28. Esther G. Gerrits, Andries J. Smit and Henk J. G. Bilo.  
AGEs, autofluorescence and renal function  
Nephrol Dial Transplant (2009) 24: 710–713
29. Makita Z, Radoff S, Rayfield EJ, et al,  
Advanced glycosylation end products in patients with diabetic nephropathy.  
N Engl J Med 1991 ; 325: 836-842.
30. Thornalley PJ.  
The glyoxalase system: new developments towards functional characterization of a metabolic pathway fundamental to biological life.  
Biochem J. 1990 Jul 1;269(1):1-11.
31. Sun JK, Keenan HA, Cavallerano JD, Asztalos BF, Schaefer EJ, Sell DR, Strauch CM, Monnier VM, Doria A, Aiello LP, King GL.  
Protection from retinopathy and other complications in patients with type 1 diabetes of extreme duration: the joslin 50-year medalist study.  
Diabetes Care. 2011 Apr;34(4):968-74. doi: 10.2337/dc10-1675.
32. Lyons TJ, Bailie KE, Dyer DG, Dunn JA, Baynes JW.  
Decrease in skin collagen glycation with improved glycemic control in patients with insulin-dependent diabetes mellitus.  
J Clin Invest 1991;87:1910–1915
33. Salmela PI, Oikarinen AI, Ukkola O, Karjalainen A, Linnaluoto M, Puukka R, Ryhanen L.  
Improved metabolic control in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus is associated with a slower accumulation of glycation products in collagen.  
Eur J Clin Invest 1995;25:494–500

34. Nakamura Y1, Horii Y, Nishino T, Shiiki H, Sakaguchi Y, Kagoshima T, Dohi K, Makita Z, Vlassara H, Bucala R.  
Immunohistochemical localization of advanced glycosylation end products in coronary atheroma and cardiac tissue in diabetes mellitus.  
Am J pathol. 1993 Dec;143(6):1649-56.
35. Schleicher ED1, Wagner E, Nerlich AG.  
Increased accumulation of the glycoxidation product N(epsilon)-(carboxymethyl)lysine in human tissues in diabetes and aging.  
J Clin Invest. 1997 Feb 1;99(3):457-68.
36. Rétinopathie diabétique, support de cours 2011  
Université médicale virtuelle francophone
37. Lobo CL, Bernardes RC, Cunha-Vaz JG.  
Alterations of the blood-retinal barrier and retinal thickness in preclinical retinopathy in subjects with type 2 diabetes.  
Arch Ophthalmol. 2000 Oct;118(10):1364-9.
38. Boeri D, Maiello M, Lorenzi M.  
Increased prevalence of microthromboses in retinal capillaries of diabetic individuals.  
Diabetes. 2001 Jun;50(6):1432-9.
39. Treins C, Giorgetti-Peraldi S, Murdaca J, Van Obberghen E.  
Regulation of vascular endothelial growth factor expression by advanced glycation end products.  
J Biol Chem. 2001 Nov 23;276(47):43836-41. Epub 2001 Sep 24.
40. Murata T, Nagai R, Ishibashi T, Inomuta H, Ikeda K, Horiuchi S.  
The relationship between accumulation of advanced glycation end products and expression of vascular endothelial growth factor in human diabetic retinas.  
Diabetologia. 1997 Jul;40(7):764-9.
41. Beisswenger PJ, Moore LL, Brinck-Johnsen T, Curphey TJ.  
Increased collagen-linked pentosidine levels and advanced glycosylation end products in early diabetic nephropathy.
42. McCance DR, Dyer DG, Dunn IA, Dunn IA, Bailie KE, Thorpe SR, Baynes IW, Lyons T  
Maillard reaction products and their relation to complications in insulin-dependent diabetes mellitus.  
J C/in invest 91 : 2470-2478, 1993
43. Cécile Couchoud  
Epidémiologie de la néphropathie diabétique  
Registre REIN (Réseau Epidémiologie et Information en Néphrologie) Agence de la Biomédecine  
2008
44. G. WOLF  
Mécanismes moléculaires de l'atteinte rénale d'origine diabétique  
[http://www.soc-nephrologie.org/PDF/enephro/publications/actualites/2005/2005\\_16.pdf](http://www.soc-nephrologie.org/PDF/enephro/publications/actualites/2005/2005_16.pdf)
45. Bendayan M  
Immunocytochemical detection of advanced glycated end products in rat renal tissue as a function of age and diabetes.  
Kidney Int. 1998 Aug;54(2):438-47.

46. Doublier S, Salvidio G, Lupia E, Ruotsalainen V, Verzola D, Deferrari G, Camussi G. Nephlin expression is reduced in human diabetic nephropathy: evidence for a distinct role for glycosylated albumin and angiotensin II. *Diabetes*. 2003 Apr;52(4):1023-30
47. Uesugi N, Sakata N, Horiuchi S, Nagai R, Takeya M, Meng J, Saito T, Takebayashi S. Glycoxidation-modified macrophages and lipid peroxidation products are associated with the progression of human diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis*. 2001 Nov;38(5):1016-25.
48. Yamamoto Y, Kato I, Doi T, Yonekura H, Ohashi S, Takeuchi M, Watanabe T, Yamagishi S, Sakurai S, Takasawa S, Okamoto H, Yamamoto H. Development and prevention of advanced diabetic nephropathy in RAGE-overexpressing mice. *J Clin Invest*. 2001 Jul;108(2):261-8.
49. Tanji N1, Markowitz GS, Fu C, Kislinger T, Taguchi A, Pischetsrieder M, Stern D, Schmidt AM, D'Agati VD. Expression of advanced glycation end products and their cellular receptor RAGE in diabetic nephropathy and nondiabetic renal disease. *J Am Soc Nephrol*. 2000 Sep;11(9):1656-66.
50. Said G. Diabetic neuropathy--a review. *Nat Clin Pract Neurol*. 2007 Jun;3(6):331-40.
51. Shaw JE, Zimmet PZ. The epidemiology of diabetic neuropathy. *Diabetes Rev* 1999 7:245-252
52. Vinik AI, Park TS, Stansberry KB, Pittenger GL. Diabetic neuropathies. *Diabetologia*. 2000 Aug;43(8):957-73.
53. Yagihashi S, Yamagishi S, Wada R. Pathology and pathogenetic mechanisms of diabetic neuropathy: correlation with clinical signs and symptoms. *Diabetes Res Clin Pract*. 2007 Sep;77 Suppl 1:S184-9. Epub 2007 Apr 26.
54. Said G, Slama G, Selva J. Progressive centripetal degeneration of axons in small fibre diabetic polyneuropathy. *Brain*. 1983 Dec;106 ( Pt 4):791-807.
55. Sinnreich M1, Taylor BV, Dyck PJ. Diabetic neuropathies. Classification, clinical features, and pathophysiological basis. *Neurologist*. 2005 Mar;11(2):63-79.
56. Obrosova IG. Diabetic painful and insensate neuropathy: pathogenesis and potential treatments. *Neurotherapeutics*. 2009 Oct;6(4):638-47. doi: 10.1016/j.nurt.2009.07.004.
57. Tesfaye S, Kempler P. Painful diabetic neuropathy. *Diabetologia*. 2005 May;48(5):805-7.

58. Malik RA, Veves A, Walker D, Siddique I, Lye RH, Schady W, Boulton AJ. Sural nerve fibre pathology in diabetic patients with mild neuropathy: relationship to pain, quantitative sensory testing and peripheral nerve electrophysiology. *Acta Neuropathol.* 2001 Apr;101(4):367-74.
59. Kennedy JM, Zochodne DW. Impaired peripheral nerve regeneration in diabetes mellitus. *J Peripher Nerv Syst.* 2005 Jun;10(2):144-57.
60. Tesfaye S, Chaturvedi N, Eaton SEM, Witte D, Ward JD, Fuller J. Vascular risk factors and diabetic neuropathy. *N Engl J Med.* 2005;352:341-350
61. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive diabetes therapy on the development and progression of neuropathy. *Ann Intern Med.* 1995 Apr 15;122(8):561-8.
62. Tesfaye S, Stevens LK, Stephenson JM, Fuller JH, Plater M, Ionescu-Tirgoviste C, Nuber A, Pozza G, Ward JD. Prevalence of diabetic peripheral neuropathy and its relation to glycaemic control and potential risk factors: the EURODIAB IDDM Complications Study. *Diabetologia.* 1996 Nov;39(11):1377-84.
63. Jack M, Wright D. Role of advanced glycation endproducts and glyoxalase I in diabetic peripheral sensory neuropathy. *Transl Res.* 2012 May;159(5):355-65. doi: 10.1016/j.trsl.2011.12.004. Epub 2012 Jan 10.
64. Karachalias N, Babaei-Jadidi R, Ahmed N, Thornalley PJ. Accumulation of fructosyl-lysine and advanced glycation end products in the kidney, retina and peripheral nerve of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochem Soc Trans.* 2003 Dec;31(Pt 6):1423-5.
65. Toth C, Rong LL, Yang C, Martinez J, Song F, Ramji N, Brussee V, Liu W, Durand J, Nguyen MD, Schmidt AM, Zochodne DW. Receptor for advanced glycation end products (RAGEs) and experimental diabetic neuropathy. *Diabetes.* 2008 Apr;57(4):1002-17. Epub 2007 Nov 26.
66. Haslbeck KM, Schleicher ED, Friess U, Kirchner A, Neundörfer B, Heuss D. N(epsilon)-Carboxymethyllysine in diabetic and non-diabetic polyneuropathies. *Acta Neuropathol.* 2002 Jul;104(1):45-52. Epub 2002 Apr 16.
67. Bierhaus A, Haslbeck KM, Humpert PM, Liliensiek B, Dehmer T, Morcos M, Sayed AA, Andrassy M, Schiekofer S, Schneider JG, Schulz JB, Heuss D, Neundörfer B, Dierl S, Huber J, Tritschler H, Schmidt AM, Schwaninger M, Haering HU, Schleicher E, Kasper M, Stern DM, Arnold B, Nawroth PP. Loss of pain perception in diabetes is dependent on a receptor of the immunoglobulin superfamily. *J Clin Invest.* 2004 Dec;114(12):1741-51
68. Fernyhough P, Roy Chowdhury SK, Schmidt RE. Mitochondrial stress and the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Expert Rev Endocrinol Metab.* 2010 Jan 1;5(1):39-49.
69. Gabriel Perlemuter, Endocrinologie, diabétologie, nutrition collection Med Line, 4eme édition



70. Hirsch AT, Criqui MH, Treat-Jacobson D, Regensteiner JG, Creager MA, Olin JW, Krook SH, Hunninghake DB, Comerota AJ, Walsh ME, McDermott MM, Hiatt WR. Peripheral arterial disease detection, awareness, and treatment in primary care. *JAMA*. 2001 Sep 19;286(11):1317-24.
71. Walters DP, Gatling W, Mullee MA, Hill RD. The prevalence, detection, and epidemiological correlates of peripheral vascular disease: a comparison of diabetic and non-diabetic subjects in an English community. *Diabet Med*. 1992 Oct;9(8):710-5.
72. Kannel WB, McGee DL. Diabetes Care. 1979 Mar-Apr;2(2):120-6. Diabetes and glucose tolerance as risk factors for cardiovascular disease: the Framingham study.
73. Rojas A, Romay S, González D, Herrera B, Delgado R, Otero K. Regulation of endothelial nitric oxide synthase expression by albumin-derived advanced glycosylation end products. *Circ Res*. 2000 Feb 18;86(3):E50-4.
74. Peppas M, Uribarri J, Vlassara H. The role of advanced glycation end products in the development of atherosclerosis. *Curr Diab Rep*. 2004 Feb;4(1):31-6.
75. Bucala R, Tracey KJ, Cerami A. Advanced glycosylation products quench nitric oxide and mediate defective endothelium-dependent vasodilatation in experimental diabetes. *J Clin Invest*. 1991 Feb;87(2):432-8.
76. Nin JW, Jorsal A, Ferreira I, Schalkwijk CG, Prins MH, Parving HH, Tarnow L, Rossing P, Stehouwer CD. Higher plasma levels of advanced glycation end products are associated with incident cardiovascular disease and all-cause mortality in type 1 diabetes: a 12-year follow-up study. *Diabetes Care*. 2011 Feb;34(2):442-7. doi: 10.2337/dc10-1087.
77. Sugiyama S, Miyata T, Ueda Y, Tanaka H, Maeda K, Kawashima S, Van Ypersele de Strihou C, Kurokawa K. Plasma levels of pentosidine in diabetic patients: an advanced glycation end product. *J Am Soc Nephrol*. 1998 Sep;9(9):1681-8.
78. Sell DR, Lapolla A, Odetti P, Fogarty J, Monnier VM. Pentosidine formation in skin correlates with severity of complications in individuals with long-standing IDDM. *Diabetes*. 1992 Oct;41(10):1286-92.
79. Hanssen NM, Engelen L, Ferreira I, Scheijen JL, Huijberts MS, van Greevenbroek MM, van der Kallen CJ, Dekker JM, Nijpels G, Stehouwer CD, Schalkwijk CG. Plasma levels of advanced glycation endproducts N $\epsilon$ -(carboxymethyl)lysine, N $\epsilon$ -(carboxyethyl)lysine, and pentosidine are not independently associated with cardiovascular disease in individuals with or without type 2 diabetes: the Hoorn and CODAM studies. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013 Aug;98(8):E1369-73. doi: 10.1210/jc.2013-1068. Epub 2013 Jun 18

80. Shinohara M, Thornalley PJ, Giardino I, Beisswenger P, Thorpe SR, Onorato J, Brownlee M. Overexpression of glyoxalase-I in bovine endothelial cells inhibits intracellular advanced glycation endproduct formation and prevents hyperglycemia-induced increases in macromolecular endocytosis. *J Clin Invest.* 1998 Mar 1;101(5):1142-7.
81. Wautier JL, Schmidt AM. Protein glycation: a firm link to endothelial cell dysfunction. *Circ Res.* 2004 Aug 6;95(3):233-8.
82. Dorrian CA, Cathcart S, Clausen J, Shapiro D, Dominiczak MH. Factors in human serum interfere with the measurement of advanced glycation endproducts. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand).* 1998 Nov;44(7):1069-79.
83. <http://www.novalab.fr/-AGE-Reader>
84. Meerwaldt R, Links T, Graaff R, Thorpe SR, Baynes JW, Hartog J, Gans R, Smit A. Simple noninvasive measurement of skin autofluorescence. *Ann N Y Acad Sci.* 2005 Jun;1043:290-8.
85. Mulder DJ, Water TV, Lutgers HL, Graaff R, Gans RO, Zijlstra F, Smit AJ. Skin autofluorescence, a novel marker for glycemic and oxidative stress-derived advanced glycation endproducts: an overview of current clinical studies, evidence, and limitations. *Diabetes Technol Ther.* 2006 Oct;8(5):523-35.
86. Koetsier M, Lutgers HL, de Jonge C, Links TP, Smit AJ, Graaff R. Reference values of skin autofluorescence. *Diabetes Technol Ther.* 2010 May;12(5):399-403.
87. Genevieve M, Vivot A, Gonzalez C, Raffaitin C, Barberger-Gateau P, Gin H, Rigalleau V. Skin autofluorescence is associated with past glycaemic control and complications in type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Metab.* 2013 Sep;39(4):349-5
88. Mast C, J Boyard, J Hotto, B Gatta-Cherifi, H Gin, V Rigalleau  
Autofluorescence cutanée après un repas riche en produits de glycation avancée  
*Nutrition clinique et métabolisme* Vol 24 - N° S1P. 79-80 - décembre 2010
89. Stirban A, Nandreaan S, Negrean M, Koschinsky T, Tschoepe D. Skin autofluorescence increases postprandially in human subjects. *Diabetes Technol Ther.* 2008 Jun;10(3):200-5.
90. E. Maury, D. Danglade, V. de Ledinghen, C. Raffaitin, H. Gin, M.C. Beauvieux, V. Rigalleau.  
Autofluorescence cutanée chez les patients cirrhotiques.  
*Diabetes et Métabolisme* Volume 36, n° S1 page 65 (mars 2010)
91. P. Barat, B. Cammas, A. Lacoste, J. Harambat, V. Vautier.  
Augmentation des AGE mesurés par autofluorescence cutanée chez les enfants diabétiques de type 1  
*Diabete et Métabolisme* Volume 37, n° 1S1 page A79 (mars 2011)
92. Gerrits EG, Lutgers HL, Kleefstra N, Groenier KH, Smit AJ, Gans RO, Bilo HJ. Skin advanced glycation end product accumulation is poorly reflected by glycemic control in type 2 diabetic patients (ZODIAC-9). *J Diabetes Sci Technol.* 2008 Jul;2(4):572-7

93. Cleary PA1, Braffett BH, Orchard T, Lyons TJ, Maynard J, Cowie C, Gubitosi-Klug RA, Way J, Anderson K, Barnie A, Villavicencio S;DCCT/EDIC Research Group.  
Clinical and technical factors associated with skin intrinsic fluorescence in subjects with type 1 diabetes from the Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study.  
Diabetes Technol Ther. 2013 Jun;15(6):466-74.
94. Bos DC1, de Ranitz-Greven WL, de Valk HW  
Advanced glycation end products, measured as skin autofluorescence and diabetes complications: a systematic review.  
Diabetes Technol Ther. 2011 Jul;13(7):773-9. doi: 10.1089/dia.2011.0034. Epub 2011 Apr 21.
95. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, Feldman HI, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Greene T, Coresh J;CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration).  
A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate  
Ann Intern Med. 2009 May 5;150(9):604-12.
96. Bouhassira D, Attal N, Alchaar H, Boureau F, Brochet B, Bruxelle J, Cunin G, Fermanian J, Ginies P, Grun-Overdyking A, Jafari-Schluep H, Lantéri-Minet M, Laurent B, Mick G, Serrie A, Valade D, Vicaut E.  
Comparison of pain syndromes associated with nervous or somatic lesions and development of a new neuropathic pain diagnostic questionnaire (DN4).  
Pain. 2005 Mar;114(1-2):29-36. Epub 2005 Jan 26.
97. H. Gin ,V. Rigalleau  
Dépistage de la neuropathie périphérique : quels outils ?  
Doi : DM-06-2002-28-3-1262-3636-101019-ART13
98. Momma H, Niu K, Kobayashi Y, Guan L, Sato M, Guo H, Chujo M, Otomo A, Yufei C, Tadaura H, Saito T, Mori T, Miyata T, Nagatomi R.  
Skin advanced glycation end product accumulation and muscle strength among adult men.  
Eur J Appl Physiol. 2011 Jul;111(7):1545-52. doi: 10.1007/s00421-010-1779-x. Epub 2010 Dec 25.
99. Gin H, Baudoin R, Raffaitin CH, Rigalleau V, Gonzalez C.  
Non-invasive and quantitative assessment of sudomotor function for peripheral diabetic neuropathy evaluation.  
Diabetes Metab. 2011 Dec;37(6):527-32. doi: 10.1016/j.diabet.2011.05.003. Epub 2011 Jun 28.
100. Yasuda M, Shimura M, Kunikata H, Kanazawa H, Yasuda K, Tanaka Y, Konno H, Takahashi M, Kokubun T, Maruyama K, Sato N,Kakizaki M, Sato M, Tsuji I, Miyata T, Nakazawa T.  
Relationship of Skin Autofluorescence to Severity of Retinopathy in Type 2 Diabetes.  
Curr Eye Res. 2014 May 28:1-8.
101. Hirano T, Iesato Y, Toriyama Y, Imai A, Chiba D, Murata T.  
Correlation between diabetic retinopathy severity and elevated skin autofluorescence as a marker of advanced glycation end-product accumulation in type 2 diabetic patients.  
J Diabetes Complications. 2014 Mar 10.
102. Rigalleau V, Cougnard-Gregoire A, Nov S, Gonzalez C, Maury E, Lorrain S, Gin H, Barberger-Gateau P.  
Association of advanced glycation end products and chronic kidney disease with macroangiopathy in type 2 diabetes.  
J Diabetes Complications. 2014 Oct 30.

103. Noordzij MJ, Mulder DJ, Oomen PH, Brouwer T, Jager J, Castro Cabezas M, Lefrandt JD, Smit AJ  
Skin autofluorescence and risk of micro- and macrovascular complications in patients with Type 2 diabetes mellitus-a multi-centre study.  
Diabet Med. 2012 Dec;29(12):1556-61. doi: 10.1111/dme.12005.
104. Meerwaldt R1, Links TP, Graaff R, Hoogenberg K, Lefrandt JD, Baynes JW, Gans RO, Smit AJ  
Increased accumulation of skin advanced glycation end-products precedes and correlates with clinical manifestation of diabetic neuropathy.  
Diabetologia. 2005 Aug;48(8):1637-44. Epub 2005 Jul 14.
105. Chabroux S1, Canoui-Poitrine F, Reffet S, Mills-Joncour G, Morelon E, Colin C, Thivolet C.  
Advanced glycation end products assessed by skin autofluorescence in type 1 diabetics are associated with nephropathy, but not retinopathy.  
Diabetes Metab. 2010 Apr;36(2):152-7. doi: 10.1016/j.diabet.2009.11.003. Epub 2010 Feb 6.
106. Araszkievicz A, Naskret D, Niedzwiecki P, Samborski P, Wierusz-Wysocka B, Zozulinska-Ziolkiewicz D.  
Increased accumulation of skin advanced glycation end products is associated with microvascular complications in type 1 diabetes.  
Diabetes Technol Ther. 2011 Aug;13(8):837-42. doi: 10.1089/dia.2011.0043. Epub 2011 May 13.
107. Araszkievicz A, Naskret D, Zozulinska-Ziolkiewicz D, Pilacinski S, Uruska A, Grzelka A, Wegner M, Wierusz-Wysocka B.  
Skin autofluorescence is associated with carotid intima-media thickness, diabetic microangiopathy, and long-lasting metabolic control in type 1 diabetic patients. Results from Poznan Prospective Study.  
Microvasc Res. 2015 Jan 9. pii: S0026-2862(15)00003-5. doi: 10.1016/j.mvr.2015.01.002
108. Wood H.  
Diabetes: Methylglyoxal mediates hyperalgesia in patients with painful diabetic neuropathy.  
Nat Rev Neurol. 2012 Jun 12;8(7):354. doi: 10.1038/nrneuro.2012.103.
109. Bierhaus A, Fleming T, Stoyanov S, Leffler A, Babes A, Neacsu C, Sauer SK, Eberhardt M, Schnölzer M, Lasitschka F, Neuhuber WL, Kichko TI, Konrade I, Elvert R, Mier W, Pirags V, Lukic IK, Morcos M, Dehmer T, Rabbani N, Thornalley PJ, Edelstein D, Nau C, Forbes J, Humpert PM, Schwaninger M, Ziegler D, Stern DM, Cooper ME, Haberkorn U, Brownlee M, Reeh PW, Nawroth PP.  
Methylglyoxal modification of Nav1.8 facilitates nociceptive neuron firing and causes hyperalgesia in diabetic neuropathy.  
Nat Med. 2012 Jun;18(6):926-33. doi: 10.1038/nm.2750.
110. Tanaka K, Nakayama M1, Kanno M1, Kimura H1, Watanabe K1, Tani Y1, Kusano Y1, Suzuki H1, Hayashi Y1, Asahi K2, Sato K3, Miyata T4, Watanabe T  
Skin autofluorescence is associated with the progression of chronic kidney disease: a prospective observational study.  
PLoS One. 2013 Dec 12;8(12):e83799. doi: 10.1371/journal.pone.0083799. eCollection 2013.
111. Meerwaldt R, Hartog JW, Graaff R, Huisman RJ, Links TP, den Hollander NC, Thorpe SR, Baynes JW, Navis G, Gans RO, Smit AJ.  
Skin autofluorescence, a measure of cumulative metabolic stress and advanced glycation end products, predicts mortality in hemodialysis patients.  
J Am Soc Nephrol. 2005 Dec;16(12):3687-93. Epub 2005 Nov 9.

112. de Vos LC, Mulder DJ, Smit AJ, Dullaart RP, Kleefstra N, Lijfering WM, Kamphuisen PW, Zeebregts CJ, Lefrandt JD.  
Skin autofluorescence is associated with 5-year mortality and cardiovascular events in patients with peripheral artery disease.  
Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2014 Apr;34(4):933-8. doi: 10.1161/ATVBAHA.113.302731. Epub 2014 Feb 13.
113. Fraser SD, Roderick PJ2, McIntyre NJ3, Harris S2, McIntyre CW4, Fluck RJ3, Taal MW3.  
Skin Autofluorescence and All-Cause Mortality in Stage 3 CKD.  
Clin J Am Soc Nephrol. 2014 May 29. pii: CJN.09510913.