REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Dr YAHIA FARES DE MEDEA

Faculté des Sciences

Département de science de la nature et de la vie

Mémoire fin d'étude pour l'obtention du diplôme de Master en biologie

Option : Biologie et Pathologie Cellulaire

THEME :

L'étiologie de la carence en Vitamine B12 chez les Diabétiques

Dirigé par :

Madame : Ziouani Lydia

présenté par :

Zouaoui Madina Khadidja

Examiné par :

Mr : Benafri Nadir

Mme : Salem Sabiha

ANNEE UNIVERSITAIRE 2019/2020

Remerciement

*Nous voulons adresser nos sincères remerciements à ceux qui ONT contribué à l'élaboration de notre mémoire. En premier lieu, On remercie **DIEU** tout puissant de nous avoir permis de mener à bien ce modeste travail.*

*Nous tenons tout particulièrement à remercier notre promotrice Madame **Ziouani Lydia**, qui nous a encadrés, guidés, conseillés, et avec qui nous avons établi une relation de confiance.*

Nos remercions les membres d'examinateurs Mr Benafri Nadir, et Mme Salem Sabiha qui nous feront l'honneur d'examiner ce travail.

Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants durant les années des études pour votre don naturel à transmettre vos connaissances et la simplicité avec laquelle vous le faites nous a marqué.

*Au Docteur, **Mr Zitouni**, Propriétaire du Laboratoire d'analyses médicales , nous tiens à vous remercier pour votre accueil et les conditions de travail que vous aviez offert au sein de votre entité , ainsi qu'au Docteur hématologue **Mr Belouenesse** qui nous a accueillir et aidé .*

Enfin, Nos remerciements vont aussi à nos familles amis et tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Avant tout, nous remercions DIEU pour nous avoir donné la force et

La Patience pour mener à terme ce travail.

Je dédie ce lapidaire travail :

***A** mes très chers parents qui m'ont guidé durant les moments les plus pénibles de ce long chemin, ma mère qui a été à mes côtés et ma soutenu durant toute ma vie, et mon père qui a sacrifié toute sa vie afin de me voir devenir ce que je suis, merci mes parents.*

***A** ma chère sœur*

***A** mes chers frères*

***A** ma famille*

***A** ma belle famille*

***A** tous ceux qui me connaissent.*

A** toute la promotion **2019.

SOMMAIRE :

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Résumé

Introduction……..**1-2**

Première partie : Synthèse bibliographique

I. La vitamine B12 ……3

I.1. Définition de la vitamine B12…….3

I .2. Origine de la vitamine B12 ……3-4

I.3. Références nutritionnelles (apports nutritionnels conseillés) …….4-5

I.4. Le métabolisme de la vitamine B12 dans l'organisme ……..5-6

I.5. Fonction intracellulaire de la vitamine B12……7

I.5.A. Voie de la méthionine synthase……..7-8

I.5.B. Voie de la mutase méthylmalonyl-CoA ……8

I.6. Le rôle physiologique de la vitamine B12 ……...9-11

I.7. La mesure de la vitamine B12 plasmatique……..11

II. La carence en vitamine B12……12

II.1. Physiopathologie……...12

II.2. Les causes de la carence en vitamine B12……11

II.2.A. Age …….....12

II.2.A.a Personnes âgées……12-13

II.2.A.b enfance…….....13

II.2.B. Grossesse et allaitement……..13-14

II.2.C. Apport et biodisponibilité insuffisants…….14

II.2. D. Malabsorptions de la vitamine B12……15

II.2.E. Syndrome de non-dissociation de la vitamine B12 de ses protéines porteuses……15

II.2.F. Anémie pernicieuse……15

II.2.G. Maladie de Biermer…….16

II.2.H. Maladies inflammatoires de l'intestin, infection et médicaments……16

II.3 Complications d'une carence en B12……17

II.3.A. Conséquences cellulaires et moléculaire……...17

II.3.B. Manifestations neurologiques …… 17-18

II.3.C. Manifestations hématologiques ……...18-19

II.3.D. Manifestations stomatologiques …….19

II.4. Diagnostic d'une carence en vitamine B12……20

II.5. Le traitement ……20-22

III. L'hypervitaminémie B12…….22

III.1. Physiopathologie…….22-23

III.2. Conséquences pathologiques de l'hypervitaminémie B12 ……...23

IV. La vitamine B12 et le diabète…….24

IV.1. La vitamine B12 chez les diabétiques de type 2……24

IV.2. Effets à long terme de la metformine sur le statut en vitamine B12……24-25

IV.3. Supplémentation en vitamine B 12 chez les patients DM sous metformine..26

Deuxième partie : Patients et méthode……27

1. Type d'étude ……..28

2. Patients ……..28

3. Objectifs……...28

4. Méthodologie……28

4.1. Anamnèse et exploration ……...28-29

4.2. Le contexte biologique ……29

4.2.A. Dosage de la vitamine B12 circulante ……...29-31

5. Analyses statistiques ……..31-32

Troisième partie : Résultats et discussion……...33

1.Description générale de la population étudiée…….34

2.Répartition des patients selon le statut vitaminique B12…….34-35

3.Répartition des patients en carence de vitamine B12 selon le sexe……..35-36

4. Répartition des patients en carence de vitamine B12 selon l'âge ……...36-38

5. Répartition des patients en carence de vitamine B12 selon les antécédents médicaux…….....38-40

6. Vitamine B12 et le tabagisme ……..41

7. Vitamine B12 et statut anthropométrique……..41-43

8.Statut de la vitamine B12 chez Les diabétiques de type 2……...43

8.A. Statut de la vitamine B12 et âge du diabète ……44-45

8.B. Vitamine B12 et dose de la metformine……..45-46

9. La corrélation entre la vitamine B12 et le régime alimentaire ……47-48

Quatrième partie : conclusion……49-50

Annexes……..51-54

Références bibliographiques…….55-62

LISTE DES ABREVIATIONS :

- **AC** : Anti corps
- **Cbl** : Cobalamine
- **DT2** : Diabète de type 2
- **DNID :** Diabétiques non insulino-dépendante
- **HCYS** : Homocystéine
- **HTA** : Hyper tension artériel
- **IF** : Facteur intrinsèque
- **IMC** : Indice de masse corporelle
- **MCM** : méthylmalonyl-CoA mutase
- **MS** : méthionine synthase
- **MMA** : méthylmalonique
- **MCH** : méthylmalonyl-CoA hydrolase
- **SAM** : s-adénosylméthionine
- **TC** ou **TCB** : transcobalamine
- **5MeTHF** : 5-méthyl-tétrahydrofolate

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Les sources alimentaires de la vitamine B12 …….....4

Tableau 2 : Les apports journalières conseillés en vitamine B12 ……5

Tableau 3 : L'interprétation de l'IMC selon l'Organisation mondiale de la Santé…29

Tableau 4 : Répartition des patients selon le statut de la vitamine B12 ……...34

Tableau 5: La moyenne de concentration de la vitamine B12 chez les 2 sexes en hypovitaminose B12……35

Tableau 6: La moyenne de la vitamine B12 selon les tranches d'âge chez les sujets en hypovitaminose ……36

Tableau 7: la moyenne de la vitamine B12 des patients en hypovitaminose B12 regroupés selon les pathologies ……39

Tableau 8: La moyenne de la vitamine B12 chez les fumeurs et non-fumeurs …….41

Tableau 9: Les paramètres anthropométriques chez les patients ayant une hypovitaminose B12……41

Tableau 10 : Répartition des patients diabétiques selon l'âge du diabète……44

Tableau 11 : Répartition des patients diabétiques selon la dose journalière de la metformine……45

Tableau 12 : La moyenne de vitamine B12 selon les habitudes alimentaires ……47

LISTE DES FIGURES

Figure 1: La structure chimique de la vitamine B12 ……...3

Figure 2 : Absorption et voie entérohépatique de la vitamine B12…….6

Figure 3 : Le métabolisme intracellulaire de la vitamine B12. ……..8

Figure 4 : La vitamine B12 dans le métabolisme énergétique …….…….10

Figure 5: Les changements morphologiques du sang et de la moelle osseuse lors d'une carence en vitamine B12…….....19

Figure 6 : Métabolisme de la vitamine B12 et corrélations physiopathologiques avec l'hypervitaminemie B12 ……...……...23

Figure 7 : Le Mécanisme d'inhibition de l'absorption de la vitamine B12 par la metformine……25

Figure 8: Schéma explicatif du principe de dosage de la vitamine B12...……...30

Figure 9 : Automate L'ARCHITECT C4000i ……...…….31

Figure 10 : Répartition des patients selon le statut vitaminique B12……..34

Figure 11 : La répartition des patients ayant une hypovitaminose B12 selon les tranches d'âge……...……37

Figure 12: corrélation entre la vitamine B12 et l'âge……37

Figure 13 : La répartition des patients en hypovitaminose B12 selon les pathologies associées ...……39

Figure 14 : Répartition des patients selon leurs IMC……42

Figure 15 : La corrélation entre la vitamine B12 et l'âge de diabète.....44

Figure 16 : La corrélation entre la vitamine B12 et la dose de metformine / jour……45

Figure 17 : Répartition des patients selon les apports alimentaires en protéines d'origine animale ……47

RESUME :

La carence en vitamine B12 est une situation fréquente, Ses étiologies sont multiples et se diffèrent selon plusieurs facteurs induisant des complications sur la santé publique comprenant les syndromes neurologiques et hématologiques.

Les sujets diabétiques ont la possibilité de développer une hypovitaminose B12 plus que les sujets non diabétiques à cause du traitement par la metformine, qui influe l'absorption de cette vitamine.

Afin de déterminer la prévalence de la carence en vitamine B12 et l'impact de la metformine sur cette dernière. Nous avons réalisé une étude transversale descriptive et observationnelle au laboratoire des analyses médicales du Dr Zitouni, à Medea ainsi qu'au cabinet médical du Dr Bellouenes Karim spécialiste en hématologie. L'étude a concernée 50 patients; les données des patients recrutés ont été établies par le biais d'un questionnaire, et le dosage de la vitamine B12 a été réalisé sur l'automate ARCHITECT C4000i par la technique d'électrochimiluminescence, Une carence sérique en vitamine B12 est survenue chez 28% des patients dont 35,5% sont des diabétiques.

Les résultats de notre étude ont montré que l'âge, le régime alimentaire ; le tabagisme ; jouent un rôle crucial dans l'hypovitaminose B12. D'autre part, la dose et la durée du traitement par la metformine représentent un principal facteur de risque de la carence en vitamine B12 chez les sujets diabétiques de type 2.

Une surveillance médicale du statut de la vitamine B12. Ainsi qu'une prise en charge en cas de besoin ; notamment des patients diabétiques de type 2, pourrait prévenir les complications neurologiques et hématologique liées à l'hypovitaminose B12 ; et amélioré ainsi leur état de santé générale.

ABSTRACT:

Vitamin B12 deficiency is a frequent situation. Its aetiologies are multiple and differ according to several factors inducing complications in public health including neurological and hematological syndromes.

People with diabetes have the possibility of developing hypovitaminosis B12 more than people without diabetes because of treatment with metformin, which affects the absorption of this vitamin.

To determine the prevalence of vitamin B12 deficiency and the impact of metformin on it. We carried out a descriptive and observational cross-sectional study in the medical analysis laboratory of Dr. Zitouni, in Medea as well as in the medical office of Dr. Bellouenes Karim, a specialist in hematology. The study involved 50 patients; the data of the patients recruited were established by means of a questionnaire, and the determination of vitamin B12 was carried out on the ARCHITECT C4000i Automaton by the technique of electrochemiluminescence, Serum vitamin B12 deficiency occurred in 28% of patients, 35.5% of whom are diabetics.

The results of our study showed that age, diet; smoking; play a crucial role in hypovitaminosis B12. On the other hand, the dose and duration of treatment with metformin is a major risk factor for vitamin B12 deficiency in people with type 2 diabetes.

Medical monitoring of vitamin B12 status. As well as support when needed; especially in type 2 diabetic patients, could prevent neurological and haematological complications associated with hypovitaminosis B12; and thus improved their general health.

ملخص:

يعتبر نقص فيتامين ب 12 حالة شائعة ، وتتعدد مسبباته وتختلف وفقًا لعدة عوامل تؤدي إلى حدوث مضاعفات في الصحة العامة بما في ذلك المتلازمات العصبية والدموية.

الأشخاص المصابون بداء السكري لديهم إمكانية الإصابة بنقص فيتامين ب 12 أكثر من الأشخاص غير المصابين بالسكري بسبب العلاج بالميتفورمين الذي يؤثر على امتصاص هذا الفيتامين.

لتحديد مدى انتشار نقص فيتامين ب 12 وتأثير الميتفورمين عليه. أجرينا دراسة وصفية وقائمة مقطعية في معمل التحليل الطبي للدكتور زيتوني ، في المدية وكذلك في المكتب الطبي للدكتور بلوينس كريم ، أخصائي أمراض الدم. شملت الدراسة 50 مريضا. تم إنشاء بيانات المرضى المعينين عن طريق استبيان ، وتم تحديد فيتامين ب 12 على ARCHITECT C4000i Automat في المصل حدث في 28٪ من المرضى ، B12 عن طريق تقنية اللمعان الكهربائي ، ونقص فيتامين 35.5٪ منهم مصابون بمرض السكر.

من ناحية أخرى، فإن B12. أظهرت نتائج دراستنا أن العمر والنظام الغذائي؛ التدخين؛ تلعب دورًا مهمًا في نقص فيتامين جرعة ومدة العلاج بالميتفورمين هي عامل خطر رئيسي لنقص فيتامين ب 12 لدى الأشخاص المصابين بداء السكري من النوع 2.

المراقبة الطبية لحالة فيتامين ب 12. وكذلك الدعم عند الحاجة؛ خاصة في مرضى السكري من النوع 2، يمكن أن يمنع المضاعفات العصبية والدموية المرتبطة بنقص فيتامين ب 12؛ وبالتالي تحسين صحتهم العامة

INTRODUCTION

La vitamine B12, également connue sous le nom de cobalamine, est une vitamine soluble dans l'eau produite dans la nature par des micro-organismes. Les humains ne peuvent pas synthétiser la vitamine B12 et dépendent totalement des sources alimentaires **(Chitambar CR, Antony AC. 2006).**

Les aliments dérivés d'animaux sont les principales sources de la vitamine B12 **(Antony. 2003).**

La vitamine B12 fonctionne comme une coenzyme, ce qui signifie que sa présence est requise pour les réactions catalysées par les enzymes **(Institute of Medicine 1998).**

Elle a le rôle d'un moteur qui aide à fabriquer l'ADN et les cellules sanguines, et il est essentiel de maintenir un cerveau et un système nerveux en bonne santé **(Green et al., 2017).**

La carence en vitamine B12 (ou cobalamine) est un désordre fréquent et potentiellement grave du fait de ses complications multiples, notamment neuropsychiatriques et hématologiques. **(Khalid et al., 2009).** C'est un véritable problème de sante´ publique, surtout dans la population âgée polymédiquée puisqu'elle affecterait plus de 20 % de ce groupe **(Andrés et al., 2005).**

Parmi les multiples causes qui influence la carence en vitamine B12, la metformine est considérée comme le principal facteur associé à une carence en vitamine B12 chez les patients atteints de DT2 **(Reinstatler et al., 2012).**

Des études évaluant des patients diabétiques de type 2 sous metformine ont rapporté que la prévalence de la carence en vitamine B12 allait de 5,8% à 33% (**Qureshi et al., 2011).**

Donc, La découverte d'une carence en vitamine B12 chez le patient diabétique serait un facteur de risque aggravant de sa maladie et imposerait un renforcement des mesures diététiques et thérapeutiques.

Le traitement de la carence en vitamine B12 ne diffère pas quelle que soit l'étiologie. Tous les patients déficients en vitamine B12 devraient recevoir une thérapie de remplacement par la vitamine B12 orale ou parentérale **(Andres E, Serraj K. 2012).**

Le but de notre travail consiste principalement à mettre en relation l'effet de la metformine sur le taux de la vitamine B12 chez les patients diabétiques de type2, ainsi que l'aspect nutritionnel par l'étude des habitudes alimentaires notamment les apports en protéines d'origine animale.

Synthèse bibliographique

I. La vitamine B12

1. Définition de la vitamine B12 :

La vitamine B12 également connue sous le nom de cobalamine, est une vitamine hydrosoluble contenant du cobalt qui sert de cofacteur d'enzymes métaboliquement importantes.

La vitamine B12 est un terme général pour toutes les formes de cobalamines actives chez l'homme, y compris la cyanocobalamine, l'hydroxocobalamine, la méthylcobalamine et la 5-désoxyadénosyl cobalamine **(Gherasim el al., 2013).**

C'est un composé chimique aux propriétés vitaminiques. Il se compose de cobalt comme atome central et d'un anneau corin qui renferme l'atome de métal **(Fedosov. 2012).**

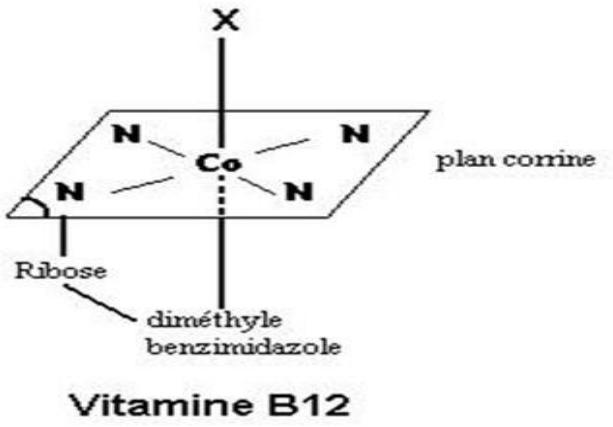


Figure 1 : La structure chimique de la vitamine B12 **(Watine et al., 2002).**

2. Origine de la vitamine B12 :

Les micro-organismes (c'est-à-dire les bactéries et les archées) sont la source ultime de B12 dans la nature et, dans les régimes conventionnels, B12 est exclusivement disponible à partir des sources d'aliments animales, tels que la viande, le foie, le poisson, les œufs et les produits laitiers **(Allen. 2008).**

Bien que la flore intestinale humaine soit capable de synthétiser la vitamine B12, les humains ne sont pas en mesure de l'absorber car l'emplacement de la synthèse (le côlon) est trop distal de l'endroit de l'absorption (l'intestin grêle). Par conséquent, la vitamine B12 doit être consommée par aliments **(Nohr et al., 2011).**

Tableau 1 *:* Les sources alimentaires de la vitamine B12 **(Daine, 2017).**

Sources alimentaires	**Teneur en vitamine B12 en microgrammes (µg) pour 100 g d'aliment**
Foie d'agneau, de veau ou de génisse cuit	42,5 à 74
huître crue	24 à 39,5
Sardine en boîte	14
Crevette cuite	5
Thon en boîte	4
saumon cuit	2 à 3
Steak de bœuf grillé	2,7
Emmental, mozzarelle, gouda, camembert	1 à 2,5
Œuf cuit dur	1,1
Poulet	0,5
Lait de vache	0,4
Yaourt nature	0,2
Lait de chèvre	0,1

3. Références nutritionnelles (apports nutritionnels conseillés) :

La quantité de vitamine B12 dont nous avons besoin dépend de notre age et de l'étape de notre vie est montré dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2 : Les apports journalières conseillés en vitamine B12 **(Daine, 2017).**

Catégories	Référence nutritionnelle en vitamine B12 en microgrammes (µg) par jour (1)
Enfants de 1 à 3 ans	0,8
Enfants de 4 à 6 ans	1,1
Enfants de 7 à 9 ans	1,4
Enfants de 10 à 12 ans	1,9
Adolescents de 13 à 15 ans	2,3
Adolescents de plus de 16 ans et adultes	4
Femmes enceintes	2,6
Femmes allaitantes	2,8

4. Le métabolisme de la vitamine B12 dans l'organisme :

La principale source de vitamine B12 est les protéines animales.

L'étape préliminaire du métabolisme de la vitamine B12 implique sa libération à partir de sources animales, un processus médié par l'action de la pepsine et de l'acide gastrique. Après la libération, la vitamine B12 alimentaire se lie à la protéine R sécrétée par les glandes salivaires. Dans le duodénum, en présence d'un milieu alcalin et de protéases pancréatiques,

La protéine R est hydrolysée pour libérer la vitamine B12 qui se lie plus tard avec le facteur intrinsèque (IF) sécrété par les cellules pariétales gastriques **(Oh R, Brown D. 2003).**

Le complexe vitamine B12 –IF est très résistant aux dégradation protéolytique. Le complexe se fixe à ses récepteurs spécifiques sur la muqueuse de l'iléon terminal, un site où se passe son absorption. Cette étape d'absorption de la vitamine B12 est calcium dépendante.

La vitamine B12 intracellulaire est libérée après la dégradation de l'IF. Cette vitamine B12 libre se fixe à une autre transcobalamine –II (TC-II) et est ensuite libérée dans la circulation. Ce

complexe de vitamine B12 - TC-II, également appelé holo TC-II, est alors activement absorbé par le foie, la moelle osseuse et d'autres cellules vitales du corps. Le foie sert de principal lieu de stockage à 90% de la vitamine B12 totale du corps **(Andrès et al., 2004).**

La vitamine B12 est connue pour subir une circulation entérohépatique impliquant son excrétion dans la bile et sa réabsorption dans l'iléon distal. On estime que 4 mcg de vitamine B12 sont sécrétés quotidiennement dans la bile sous une forme liée au récepteur R. La circulation entérohépatique peut entraîner la réabsorption de plus de la moitié de la vitamine B12 biliaire **(Schjønsby. 1989).**

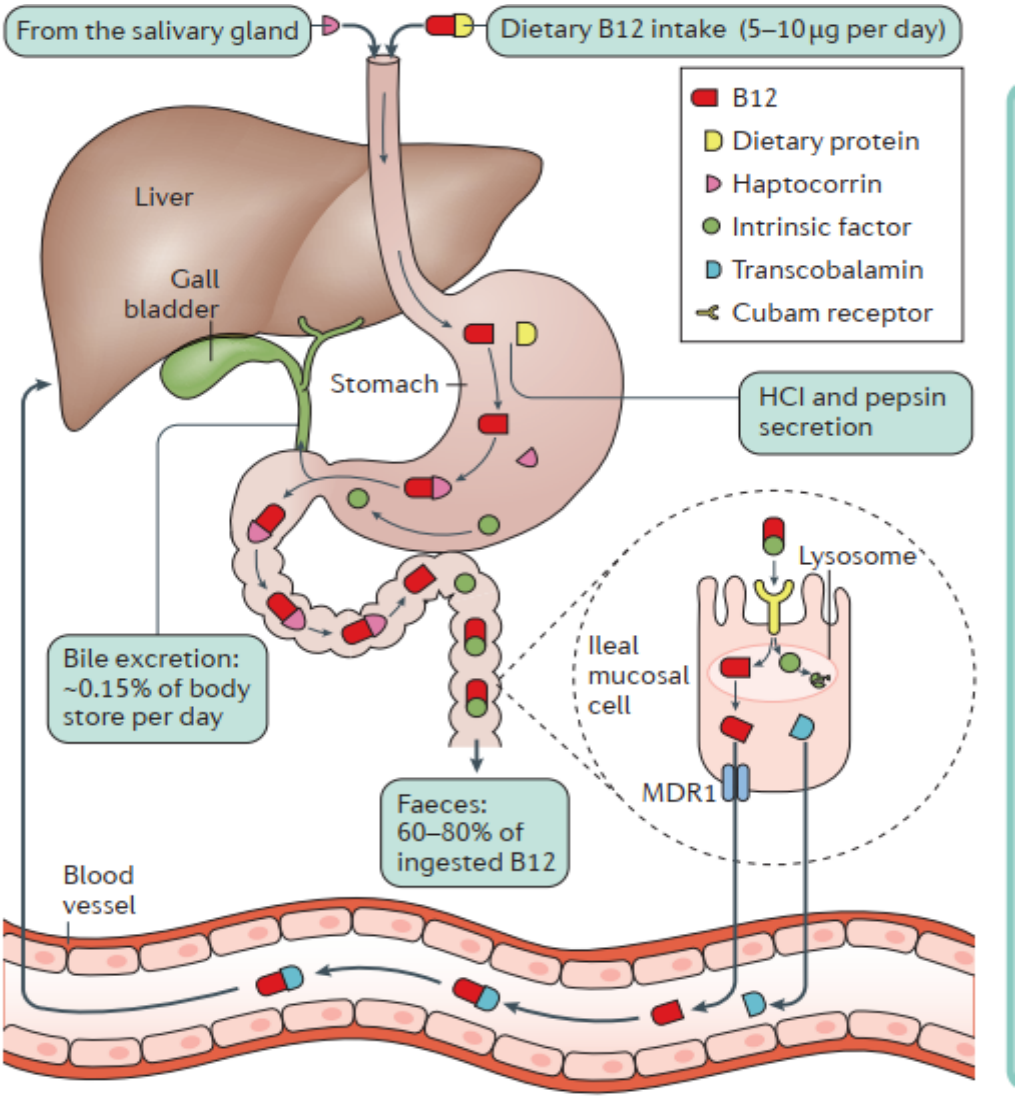


Figure 2 : Absorption et voie entérohépatique de la vitamine B12 **(Green et al., 2017).**

5. Fonction intracellulaire de la vitamine B12 :

Différentes formes de vitamine B12 sont converties en cation divalent amine cobal (II) dans les cellules cibles par des processus qui impliquent des mécanismes de clivage hétérolytiques et homolytiques, L'amine cobal (II) est ensuite convertie en adénosyl-Cbl ou méthylcobalamine, qui pénètrent respectivement dans les voies méthylmalonyl-CoA mutase (MCM) et méthionine synthase (MS). **(Gherasim et al., 2013).**

A. Voie de la méthionine synthase :

L'homocystéine accepte un groupe méthyle à partir de méthylcobalamine, entraînant la formation de méthionine et d'amine cobal (I), un intermédiaire supernucléophile monovalent **(Gherasim et al., 2013).**

L'amine cobal (I) élimine ensuite un groupe méthyle du méthyltétrahydrofolate, donnant le tétrahydrofolate et reformant la méthylcobalamine. **(Chen et al., 1997).**

La réaction est catalysée par l'enzyme MS codée chez l'homme par le locus CblG. **(Lec et al., 1996).**

Dans l'ensemble, MS catalyse le transfert d'un groupe méthyle du méthyl-tétrahydrofolate à l'homocystéine pour former le tétrahydrofolate et la méthionine, en utilisant la méthylcobalamine comme cofacteur.

Une carence en vitamine B12 peut empêcher l'ultime transfert de méthyle du méthyl-tétrahydrofolate pour former du tétrahydrofolate. Le folate est donc « piégé » sous sa forme métaboliquement inactive, le méthyltétrahydrofolate. La conversion cytoplasmique de l'homocystéine en méthionine est également supprimée et les taux plasmatiques d'homocystéine sont élevés sous carence en vitamine B12. L'homocystéine plasmatique est utilisée pour diagnostiquer une carence cellulaire en vitamine B12. En tant que méthyl-tétrahydrofolate est le donneur du groupe méthyle dans la méthylation de l'homocystéine en méthionine, une carence en folate peut également entraîner une élévation des taux plasmatiques d'homocystéine.

La voie de la MS peut expliquer la pathogenèse d'une partie des manifestations cliniques de la carence en vitamine B12. Synthèse réduite de le tétrahydrofolate entraîne une altération de la synthèse de l'ADN qui peut provoquer une anémie mégaloblastique et d'autres signes hématologiques de carence en vitamine B12.

La faible disponibilité intracellulaire de la méthionine réduit également la formation de s-adénosylméthionine (SAM), qui est un donneur de groupe méthyle essentiel dans les réactions de synthèse d'ADN **(Obeid. 2013).**

B. Voie de la mutase méthylmalonyl-CoA :

L'adénosyl-Cbl est synthétisé dans les mitochondries sous la catalyse de l'enzyme cobalamine adénosyl transférase dépendante de l'ATP. L'adénosyl-Cbl sert de cofacteur dans la réaction d'isomérisation catalysée par l'enzyme MCM et implique la conversion du méthylmalonyl-CoA en succinyl-CoA intermédiaire du cycle de Krebs. Le mécanisme par lequel l'adénosyl-Cbl agit est basé sur les radicaux et implique la formation d'un radical libre et la migration d'un atome d'hydrogène pour synthétiser le succinyl-CoA, Une carence en vitamine B12 bloque la conversion du méthylmalonyl-CoA en succinyl-CoA. La méthylmalonyl-CoA accumulée est hydrolysée en acide méthylmalonique (MMA) dans une réaction catalysée par l'enzyme méthylmalonyl-CoA hydrolase (MCH). Une carence en vitamine B12 entraîne des taux plasmatiques élevés de MMA. Le MMA est ainsi utilisé comme test de diagnostic pour évaluer l'état cellulaire de la vitamine B12. **(Gherasim et al., 2013).**

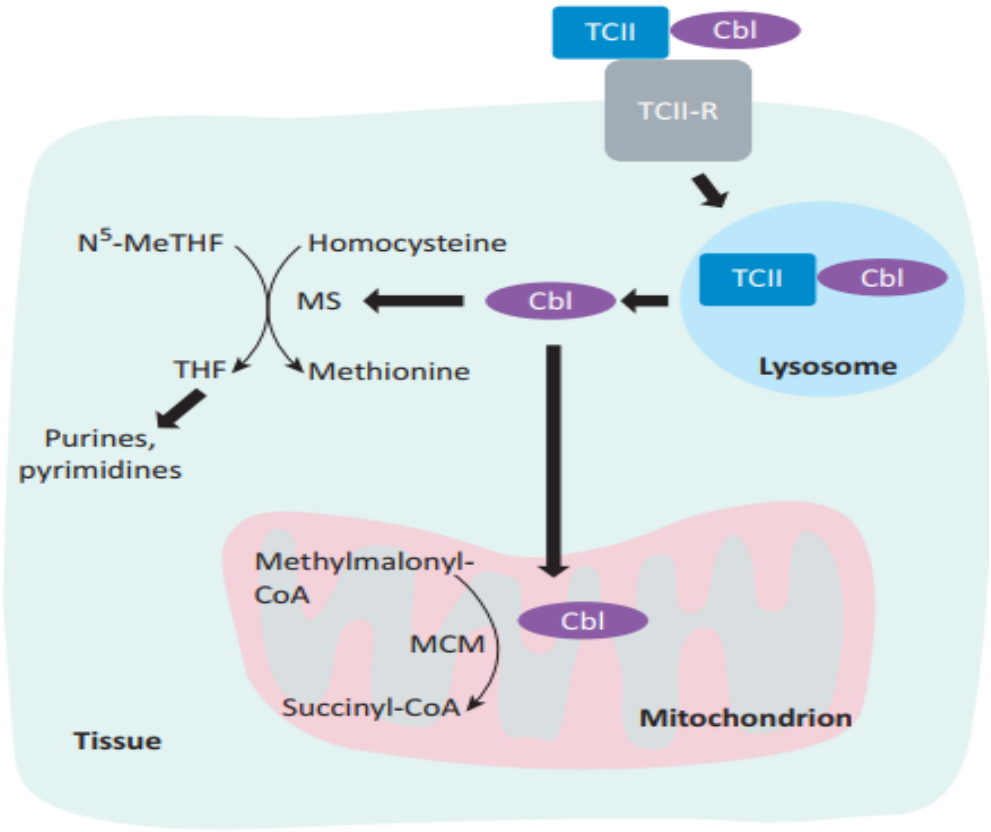


Figure 3 : Le métabolisme intracellulaire de la vitamine B12 **(Michael J, Thachil J. 2015).**

6. Le rôle physiologique de la vitamine B12 :

La vitamine B12 en tant que cofacteur facilite la méthylation de l'homocystéine en méthionine qui est ensuite activée en S-adénosyl-méthionine qui donne son groupe méthyle à des accepteurs méthyle tels que la myéline, les neurotransmetteurs et les phospholipides membranaires.

Dans une autre voie enzymatique essentielle, la vitamine B12 en tant que cofacteur médié la conversion de la méthylmalonyl coenzyme A (CoA) ensuccinyl-CoA.

En présence d'une carence en vitamine B12, cette voie de conversion est diminuée et une augmentation de l'acide méthylmalonique sérique (MMA) s'ensuit. Elle est suivie par une synthèse défectueuse des acides gras des membranes neuronales **(Malouf R, Areosa S. 2003).**

La vitamine B12 est également essentielle dans la synthèse de monoamines ou de neurotransmetteurs comme la sérotonine et la dopamine. Cette synthèse est altérée par une carence en vitamine B12 **(Bottiglieri et al., 2000).**

Pour la synthèse des protéines, la vitamine B12 liée à MeCbl facilite l'élimination d'un groupe méthyle du méthylfolate pour former l'homocystéine (HCYS), qui est convertie en méthionine. Cela permet le recyclage du 5-méthyl-tétrahydrofolate 5MeTHF) en N – 510, le méthylène tétrahydrofolate, qui est nécessaire pour la synthèse de novo de l'acide thymidylique, un précurseur de la synthèse de l'ADN**. (Manzanares W, Hardy, G. 2010).**

La vitamine B12 est également requise pour l'isomérisation de la d-leucine en leucine qui se trouve dans certaines protéines régulatrices comme les facteurs de transcription NF-κB (facteur nucléaire kappa-activateur de chaîne légère des cellules B activées), Myc et Fos. La vitamine B12 peut donc avoir un rôle oncogène secondaire **(Wheatley. 2006).**

-La vitamine B12 est également essentielle à la respiration cellulaire et à l'énergie en agissant sur le cycle de Krebs à un stade critique. Le cycle de Krebs produit de l'énergie cellulaire sous forme d'adénosine triphosphate (ATP). La vitamine B12 liée au MMCM assure l'isomérisation du méthylmalonyl CoA en succinyl CoA. Le succinyl CoA est un point critique du cycle de Krebs où de nombreux métabolismes intermédiaires entrent et sortent **(Manzanares W, Hardy, G. 2010).**

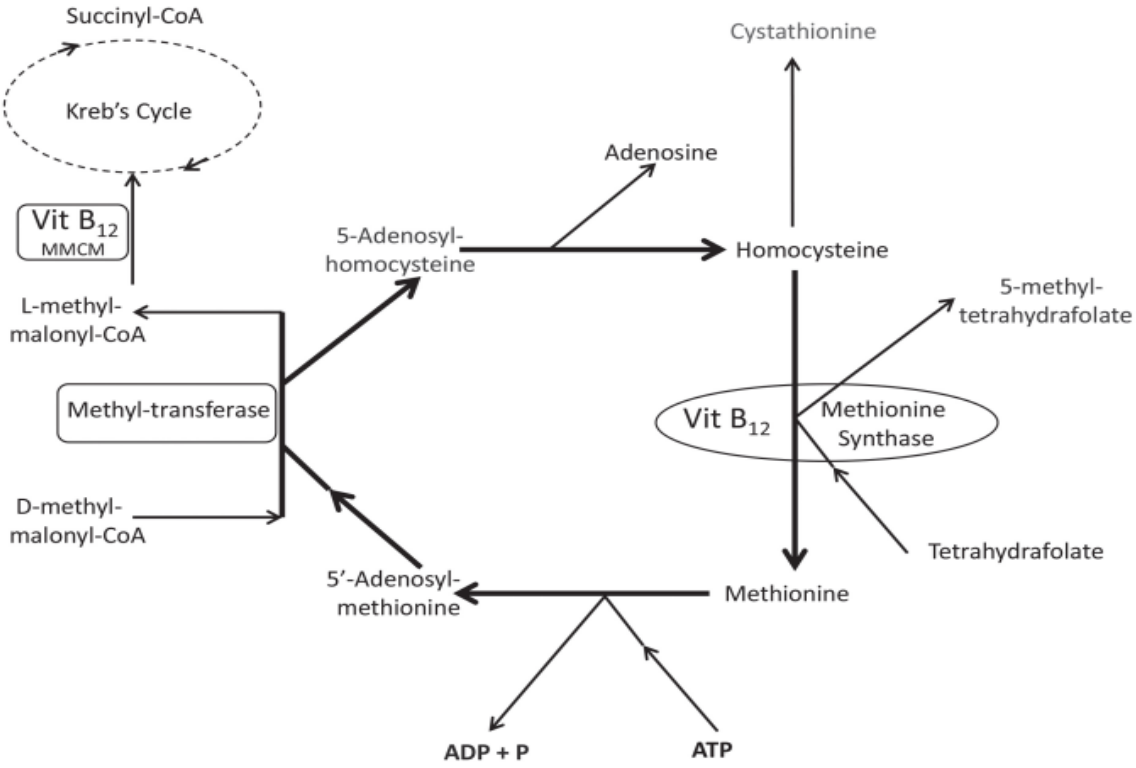


Figure 4 : La vitamine B12 dans le métabolisme énergétique **(Hathout L, El-Saden S. 2011).**

La B12 est une coenzyme dans deux réactions biochimiques chez l'homme. L'une de ces réactions est le transfert d'un groupe méthyle du 5-méthyl-THF à l'homocystéine via la méthylcobalamine, régénérant ainsi la méthionine. Cette réaction représente le lien entre le folate et les coenzymes de la vitamine B12 et semble expliquer les besoins des deux vitamines dans l'érythropoïèse normale (**Shane B, Stokstad ELR. 1985).**

La forme méthylcobalamine de la vitamine B12 est le coenzyme impliquée dans le transfert du groupe méthyle du 5-méthyl THF à l'homocystéine, régénérant ainsi la méthionine et le THF

Avec une carence en vitamine B12, non seulement l'inhibition de la régénération de la méthionine entraîne une diminution de la S-adénosylméthionine et une augmentation de l'homocystéine et de la S- adénosylhomocystéine, mais le 5-méthyl-THF s'accumule intracellulairement, tandis que les autres formes de THF, en particulier le 10-formyl-THF requis pour la synthèse des purines et le 5,10 méthylèneTHF requis pour la synthèse des thymidylates, diminuent En cas de carence en folate ou en vitamine B12, la synthèse de novo des désoxynucléotides est diminuée, entraînant une altération de la synthèse et de la réparation de l'ADN et, finalement, une mort cellulaire. L'érythropoïèse dans ces conditions de carence est

qualifiée d'inefficace car les cellules érythroïdes sont présents dans le tissu hématopoïétique, mais la plupart d'entre eux ne parviennent pas à la maturité jusqu'aux stades avancés de différenciation avant de subir une apoptose. La diminution du nombre de cellules érythroïdes survivant jusqu'au stade terminal (postmitotique) de l'érythropoïèse inefficace mène à l'anémie. **(Shane B, Stokstad ELR. 1985)**

7. La mesure de la vitamine B12 plasmatique :

Il n'existe actuellement aucun étalon-or pour la mesure de la vitamine B12. Comme décrit ci-dessus, la vitamine B12 est transportée par deux protéines principales, TC I (haptocorrine) et TC II (holoTC).

HoloTC ne lie qu'une petite fraction (20% à 30%) de la vitamine B12 plasmatique totale, mais est le principal transporteur de la vitamine B12 vers les cellules et est donc la fraction fonctionnellement importante.

L'haptocorrine lie la majorité de la vitamine B12. Ce complexe est inerte, car l'haptocorrine ne fournit pas de vitamine B12 aux cellules. L'haptocorrine peut refléter l'état sous-jacent général des réserves de vitamine B12**. (Green. 2011).**

Chez un patient présentant des signes cliniques et biologiques compatibles avec une carence en vitamine B12, la mesure des taux plasmatiques totaux de vitamine B12 par chimioluminescence est le test de première ligne habituel. Ce test est meilleur pour évaluer une carence à long terme plutôt qu'à court terme, car les concentrations ne diminuent que tardivement dans l'épuisement**. (Oberley MJ, Yang DT. 2013).**

Une carence en vitamine B12 franche (moins de 148pmol/l) sera détectée avec une sensibilité de 90% à 95% et une spécificité d'environ 80%. Pour la carence subclinique (moins de 220pmol/l), la sensibilité varie entre 40% et 80% **(Carmel. 2011).**

Écarts entre les résultats des taux de vitamine B12 déterminés par différentes méthodes ne sont pas rares. Il faut donc utiliser les valeurs de référence du laboratoire qui a effectué la mesure

L'infection à VIH, la carence en folates et la grossesse peuvent entraîner des valeurs faussement basses **(Karmi et al., 2011).**

II. La carence en vitamine B12 :

1. Physiopathologie

Dans les pays développés, l'apport de B12 est normalement suffisant. Néanmoins, La carence en vitamine B12 est la carence en vitamines la plus courante nécessitant un traitement clinique **(Nohr et al., 2011).**

-La déplétion en vitamine B12 a été décrite en quatre étapes, allant d'une légère déplétion à une carence clinique.

Le stade 1 est une déplétion précoce en vitamine B12 caractérisée par une diminution de la concentration en holoTC.

Le stade 2 est une déplétion cellulaire caractérisée par une nouvelle diminution de l'holoTC.

La B12 totale sérique met plus de temps à répondre aux changements de statut et peut rester dans la plage normale aux stades 1 et 2.

Le stade 3 est caractérisé par des signes métaboliques de carence, avec des concentrations élevées d'homocystéine plasmatique et MMA sérique, faible holoTC et concentrations sériques totales de B12 normales ou inférieures à la normale.

Le stade 4 est une carence clinique où le B12 total sérique et l'holoTC sont faibles, les indicateurs métaboliques sont élevés et il existe des signes cliniques de carence, notamment des manifestations hématologiques et neurologiques. **(Catherine et al., 2013).**

-Une carence en vitamine B12 métaboliquement significative entraînera donc une perturbation du processus de méthylation et une accumulation d'homocystéine intracellulaire et sérique. **(Malouf R, Areosa S. 2003).**

2. Les causes de la carence en vitamine B12:

A. Age :

a) Personnes âgées :

Comme indiqué, la carence en B12 est plus fréquente chez les personnes âgées, augmentant généralement au-delà de 60 ans. (**Carmel et al., 1999).**

Les causes sous-jacentes de la carence sont diverses et s'étendent bien au-delà de la prévalence de 2 à 3% d'anémie pernicieuse **(Stabler et al., 1997).**

Chez les personnes âgées, 10 à 15% ont une carence subclinique en B12, qui peut souvent, mais pas toujours, être normalisé avec la Thérapie en B12 **(Bailey et al., 2011).**

La prévalence est encore plus élevée dans les « personnes les plus âgées », avec 23 à 35% de personnes de plus de 80 ans présentant un déficit en B12. **(Johnson et al., 2010).**

Une sensibilité variable selon la population et les groupes raciaux a également été signalée (**Carmel et al., 1999).**

b) Enfance :

La petite enfance, l'enfance et l'adolescence sont des périodes de croissance rapide, au cours desquelles la demande de B12 est élevée et le statut de B12 subit des changements marqués **(Monsen *et al.*, 2003).**

Un faible statut maternel en B12, un allaitement prolongé et une faible consommation d'aliments pour animaux après le sevrage sont les principaux facteurs de risque de carence en B12. Au cours des premiers mois de la vie, les niveaux de B12 diminuent, tandis que les niveaux d'homocystéine et de MMA augmentent, les concentrations de B12 les plus faibles et les niveaux d'homocystéine et de MMA les plus élevés observés entre 4 et 6 mois chez les nourrissons allaités exclusivement **(Greibe *et al., 2013).***

De 6 mois, les taux sériques de B12 augmentent et atteignent un pic entre 3 et 7 ans, puis diminuent tout au long de l'adolescence. Les taux plasmatiques d'homocystéine diminuent et restent faibles (<6 μmol par litre) jusqu'à 7 ans, puis commencent à augmenter; les niveaux médians de MMA plasmatique diminuent après 6 mois et restent bas tout au long de l'enfance (<0,26 μmol par litre) **(Monsen et *al.*, 2003).**

B. Grossesse et allaitement :

La grossesse et l'allaitement modifient l'état maternel de B12 d'une manière qui facilite le transfert de B12 au fœtus et au nourrisson.

Des changements physiologiques et anatomiques profonds se produisent dans pratiquement tous les systèmes d'organes pendant la grossesse avec des conséquences considérables sur les marqueurs biochimiques, compliquant ainsi la évaluation du statut en micronutriments et

limitation de l'utilisation de gammes de référence établies déterminées chez les femmes non enceintes Les niveaux totaux de B12 chez la mère diminuent progressivement pendant la grossesse , tandis que les niveaux circulants d'holotranscobalamine diminuent ou restent relativement stables . Les niveaux d'homocystéine et de MMA augmentent pendant la dernière partie de la grossesse par rapport au premier trimestre, ce qui peut indiquer un degré de déplétion métabolique intracellulaire de la B12 chez les femmes enceintes, En effet, cette augmentation dépend du statut maternel en B12 **(Murphy *et al., 2007).***

Et elle est plus faible chez les femmes prenant des suppléments B12 Cela indique un besoin de plages de référence spécifiques basées sur les femmes enceintes et allaitantes en B12 (complétées à des niveaux normaux). En raison de ces changements, la véritable prévalence de la carence en vitamine B12 pendant la grossesse est difficile à quantifier **(Bea *et al., 2015).***

C. Apport et biodisponibilité insuffisants :

Les micro-organismes (c'est-à-dire les bactéries et les archées) sont la source ultime de B12 dans la nature et, dans les régimes conventionnels, B12 est exclusivement disponible à partir de sources d'aliments pour animaux, tels que la viande, le foie, le poisson, les œufs et les produits laitiers. Les besoins quotidiens en B12 de 2 à 3 μg sont facilement satisfaits

Chez ceux qui consomment de grandes quantités de produits d'origine animale ou qui prennent des suppléments, mais pas chez les végétaliens qui n'obtiennent que 0–0,25 μg par jour18. Une faible consommation d'aliments d'origine animale peut être involontaire en raison de l'accessibilité limitée dans l'approvisionnement alimentaire, ou volontaire en raison de restrictions culturelles, religieuses ou personnelles. En outre, les demandes et **(Allen. 2008).** Les besoins varient selon l'âge et l'état physiologique, comme la grossesse. Bien que les apports nutritionnels recommandés pour la vitamine B12 aient été définis pour les enfants et les adolescents (par âge), pour les adultes, les femmes enceintes et allaitantes et les personnes âgées des chiffres agrégés individuels et diverses sources ont été utilisés **(Tucker *et al., 2000).***

D. Malabsorptions de la vitamine B12 :

Chez l'adulte, les gastrectomies ainsi que les résections chirurgicales de la grêle terminal sont des étiologies classiques mais finalement rares (inférieure à 5 %) de malabsorption de la B12. **(Carmel. 2000).**

Parmi les autres causes de malabsorption (± sélective) des cobalamines, plus rarement rencontrées citons : la maladie de Crohn, les lymphomes, la tuberculose, l'amylose, la sclérodermie, la maladie de Whipple... voire la maladie cœliaque **(Andrès et al., 2004).**

Actuellement, l'étiologie la plus fréquente est représentée probablement par les déficits de la fonction exocrine du pancréas suite à une pancréatite chronique (habituellement alcoolique) ou à une pancréatectomie **(Dharmarajan et al., 2003).**

E. Syndrome de non-dissociation de la vitamine B12 de ses protéines porteuses :

La digestion des protéines dérivées des aliments et de l'haptocorrine dérivée de la salive et de la bile (anciennement connue sous le nom de liant R) est essentielle pour le transfert de B12 au facteur intrinsèque dans le duodénum. L'haptocorrine est une protéine de liaison B12 présente dans de nombreux fluides corporels. Il protège la B12 lors de son passage dans l'environnement acide de l'estomac.

Réduction de la sécrétion d'acide dans l'estomac associée à une gastrite chronique ou à un traitement à long terme avec des inhibiteurs de la pompe à protons altère la libération de B12 alimentaire à partir des protéines alimentaires et peut produire une carence, malgré une sécrétion de facteur intrinsèque suffisante **(Lam *et al., 2013).***

F. Anémie pernicieuse :

L'absence pratiquement complète de facteur intrinsèque chez les patients souffrant d'anémie pernicieuse provoque une carence en B12 par malabsorption de B12 biliaire alimentaire et recyclé, entraînant un épuisement progressif des réserves de B12 dans le corps. L'anémie pernicieuse survient à la suite d'une gastrite auto-immune, qui est une maladie inflammatoire chronique du fond d'œil et du corps de l'estomac, épargnant l'antre. Initialement asymptomatique et souvent associé à des anticorps de cellules pariétales circulantes dirigés contre la pompe de proton gastrique (gastrique H + / K + ATPase), la gastrite évolue sur plusieurs années vers une gastrite atrophique chronique de type A. **(Toh et al., 1997).**

G. Maladie de Biermer :

La maladie de Biermer représente 20 à 50 % des étiologies des carences en B12 chez l'adulte Il s'agit d'une maladie auto-immune caractérisée par :

la destruction de la muqueuse gastrique, surtout fundique (classique gastrite atrophique auto-immune de type A), par un processus d'auto-immunité à médiation principalement cellulaire et la présence de divers anticorps (AC), notamment au niveau plasmatique et des sécrétions gastriques : AC anti facteur intrinsèque (FI) et AC anti cellules pariétales gastriques spécifiquement dirigés contre la pompe à protons ATPase H+/K+ **(Toh et al., 1997).**

. Cette maladie se caractérise en outre par la présence d'une malabsorption de la B12 corrigée par l'adjonction de FI lors du test de Schilling (spécificité : > 99 %)

L'une des particularités de la maladie de Biermer est d'être associée à de nombreux désordres auto-immuns : vitiligo, dysthyroïdies, maladie d'Addison, syndrome de Sjögren...

(Lee GR, Herbert V. 1999).

H. Maladies inflammatoires de l'intestin, infection et médicaments :

La maladie cœliaque ou la maladie de Crohn affectant l'iléon entraîne une malabsorption de la B12 par atrophie villositaire et lésions muqueuses.

Deux infestations parasitaires produites par un ténia du poisson, Diphyllobothrium latum, et le protozoaire Giardia lamblia peuvent entraîner une malabsorption par piégeage de la B12 par le parasite. La sprue tropicale entraîne une malabsorption par atrophie villositaire intestinale.

La malabsorption de la B12 peut également être due à des interventions médicales. La cholestyramine (une résine d'acide biliaire utilisée pour traiter l'hypercholestérolémie) peut chélater le facteur intrinsèque, tandis que la colchicine (utilisée pour la goutte aiguë) et plusieurs antibiotiques (y compris le médicament antituberculeux l'acide para-amino-salicylique) peuvent agir comme inhibiteurs de l'endocytose intrinsèque du facteur B12. La durée ou la fréquence d'utilisation de ces médicaments est généralement insuffisante pour entraîner une carence clinique en B12, contrairement à l'utilisation à long terme des médicaments tels que les inhibiteurs de la pompe à protons, les antagonistes des récepteurs H2 de l'histamine et la metformine. **(Green. 2017).**

3.Complications d'une carence en B12

A. Conséquences cellulaires et moléculaires :

La conséquence courante d'une carence en B12 et de troubles génétiques affectant le métabolisme de la B12 est un déficit cellulaire dans l'une ou les deux formes coenzymatiques de la B12 (c'est-à-dire l'adénosylB12 et la méthylB12). Au niveau moléculaire, une carence en B12 entraîne une altération de la méthylation et une altération du métabolisme du Méthylmalonate, qui dérive du catabolisme de certains acides aminés et acides gras. Une carence en méthylB12 entraîne une accumulation d'homocystéine et une synthèse réduite de méthionine et de s-adénosylméthionine. L'accumulation d'homocystéine peut induire un stress cellulaire, une apoptose et une homocystéinylation des protéines fonctionnelles dans le sang et les tissus (la formation d'adduits covalents avec le groupe ε-amino de leurs résidus lysine) **(Sharma et al., 2014).** La sadénosylméthionine est le donneur de méthyle requis pour les réactions épigénétiques, y compris la méthylation de l'ADN, des histones et d'autres régulateurs de l'expression des gènes. **(Scalabrino. 2009).** La carence en adénosylB12 conduit à une accumulation de MMA, dont les conséquences ne sont pas claires,

La carence en B12 induit une expression accrue des protéines phosphatase 2A, facteur de croissance nerveuse et facteur de nécrose tumorale, et diminution de l'expression du facteur de croissance épidermique dans les modèles cellulaires et animaux. Ces changements sont cohérents avec une influence du déficit en B12 sur l'homéostasie de la myéline et sur les voies amyloïde et tau des troubles neurodégénératifs. **(Battaglia-Hsu *et al.*, 2009).**

B. Manifestations neurologiques :

La carence en B12 affecte le système nerveux, entraînant une démyélinisation des neurones périphériques et centraux (**Green, R. & Miller, J. W. 2014).** Qui est généralement considérée comme être le mécanisme qui sous-tend la myéloneuropathie classique de la carence en B12. Les longues étendues de matière blanche dans les colonnes postérieure et latérale de la moelle épinière contenant des neurones sensoriels qui sont responsables de la conduction des vibrations et de la position sont particulièrement sensibles à la démyélinisation, mais la myélinisation des motoneurones peut également être affectée. Les manifestations neurologiques d'une carence en B12 peuvent précéder l'apparition des modifications hématologiques et peut même survenir en absence des complications hématologiques **(Lindenbaum et al., 1988).**

Un statut B12 adéquat est crucial pour le développement neurologique normal. **(Rosenblatt, D. S. & Whitehead, V. M. 1999).**

Les premiers mois postnatals sont la période de développement cérébral la plus dynamique et la plus vulnérable. Les signes et symptômes d'une carence en vitamine B12 dans l'enfance dépendent de l'âge de l'enfant et de la gravité et de la durée du déficit **(Dror, D. K. & Allen, L.H. 2008).**

Bien que le traitement à la B12 chez les nourrissons et les tout-petits déficients entraîne généralement des progrès rapides dans le développement moteur et une amélioration des symptômes cliniques **(Torsvik *et al.*, 2013).**

Une carence prolongée peut entraîner des troubles du développement permanent, même après un traitement optimal. **(Demir *et al.*, 2013).**

C. Manifestations hématologiques :

L'effet hématologique d'une carence en B12 est une anémie mégaloblastique, qui résulte d'une perturbation de la synthèse de l'ADN **(Stabler. 2013).**

Lorsque B12 est déficient, la synthèse de H4folate est altérée, ce qui limite l'apport de la forme requise de folate pour la synthèse de thymidylate et d'ADN. Cela provoque une mauvaise incorporation du dUTP à la place du triphosphate de thymidine pendant la synthèse de l'ADN **(Green. 2017).**

La synthèse d'ADN dans les tissus subissant un renouvellement cellulaire rapide, comme le système hématopoïétique, est particulièrement affectée. Une croissance déséquilibrée des cellules de moelle osseuse en division produit des cellules anormalement grandes avec une chromatine nucléaire fine et immature. Cela affecte principalement les précurseurs érythroïdes, provoquant une anémie avec des globules rouges anormalement gros (macrocytes).

D'autres cellules hématopoïétiques sont également affectées, entraînant de gigantesques précurseurs de granulocytes dans la moelle et des neutrophiles avec plus que le nombre normal de lobes nucléaires (neutrophiles hypersegmentés) dans le sang. En plus de l'anémie, il peut également y avoir une diminution du nombre de toutes les cellules sanguines (pancytopénie) **(Green et al., 2017).**

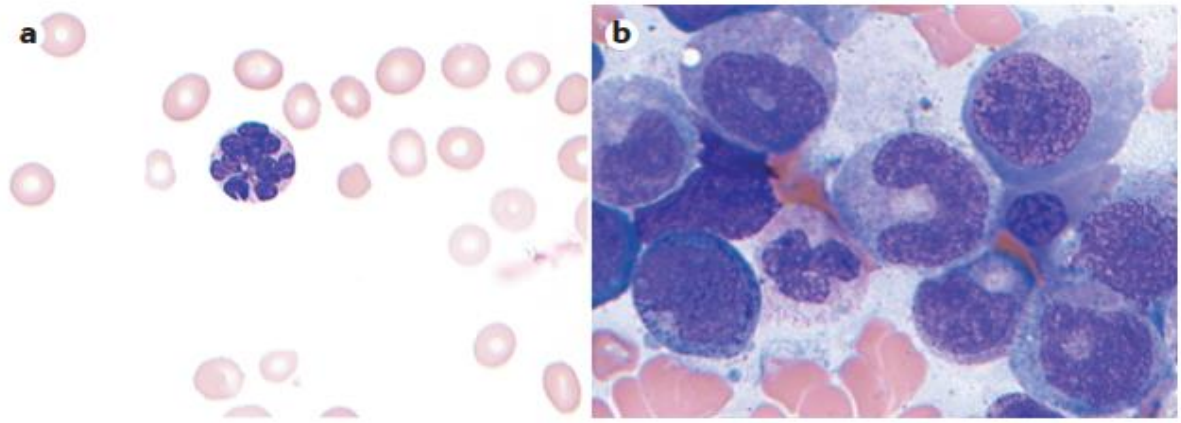


Figure 5 : Les changements morphologiques du sang et de la moelle osseuse lors une carence en vitamine B12 **(Green et al., 2017).**

D. Manifestations stomatologiques :

Dans les traités de Médecine, les manifestations stomatologiques de la carence en vitamine B12 se résument le plus souvent à la glossite de Hunter.

Elle constitue le signe classique et fréquent de la carence en vitamine B12 **(Pétavy-Catala et al., 2003).** Elle a été décrite en 1851 par Julius Otto Ludwig Möller. Elle peut se présenter sous deux aspects cliniques. La forme initiale, inflammatoire ou pré-atrophique, est caractérisée par la perte de l'aspect velouté du dos de la langue et l'apparition de zones vernissées et de plaques érythémateuses brillantes et sèches, intéressant la pointe et les bords de la langue. Ces plaques, souvent œdématiées et papuleuses, peuvent s'ulcérer. Histologiquement, on observe une atrophie modérée de l'épithélium, un infiltrat lymphoplasmocytaire sous-épithélial et un œdème. La phase atrophique fait suite à la phase précédente ou survient d'emblée. Les papilles filiformes disparaissent, la langue devient lisse et prend un aspect vernissé, avec une couleur variable, allant du rose pâle au rouge carminé. A la protraction, elle apparait parfois amincie et pointue. A ce stade, l'examen histopathologique montre une atrophie importante de l'épithélium et un infiltrat lymphoplasmocytaire dans le chorion (**Reygagne et al., 1988).** Maintenant, la glossite de Hunter est rarement observée car elle correspond à un stade évolutif avancé. Elle constituait jadis un signe caractéristique de l'anémie de Biermer et les signes précoces étaient méconnus.

3. Diagnostic d'une carence en vitamine B12 :

Le diagnostic de carence en vitamine B12 a toujours été controversé. Les tests de diagnostic dépendent de la mesure directe de la vitamine circulante ou de la mesure des niveaux d'autres biomarqueurs qui s'accumulent à la suite d'une carence cellulaire. **(Carmel R. 2011).**

La plupart des dosages de vitamine B12 sont effectués aujourd'hui en utilisant un équipement automatisé. Ces tests sont principalement basés sur la compétition pour l'IF entre la vitamine B12 radioactive et la cyanocobalamine dans l'échantillon de sérum **(Karmi et al., 2011).**

Malheureusement, ni symptômes cliniques spécifiques ni des taux sériques précis de vitamine B12 permettent le diagnostic simple d'un cas de carence.

L'absence d'association clair entre le taux sérique de vitamine B12 et la carence en vitamine a conduit à l'introduction de la mesure des métabolites comme indicateurs de déficience fonctionnelle.

L'acide méthylmalonique et l'homocystéine sont utilisés.

Une carence fonctionnelle en vitamine B12 entraine une augmentation des niveaux d'acide méthylmalonique parce que la vitamine joue un rôle dans la conversion du méthylmalonyl coenzyme A en succinyl coenzyme A par l'enzyme méthylmalonyl coenzyme A mutase.

Les niveau d'homocystéine sont élevés parce que la méthionine synthase nécessite de la méthylcobalamine pour la conversion de l'homocystéine **(Carmel R., 2000).**

Aujourd'hui, ces métabolites jouent encore un rôle crucial dans le diagnostic de carence bien que même l'utilisation de ces indicateurs métaboliques de la carence en vitamine B12 ne prédit ni n'empêche avec une certitude absolue la présence de vitamine B12-hématologique sensible ou des troubles neurologiques **(Solomon. 2005).**

4. Le traitement :

Dans les groupes cibles qui présentent un risque plus élevé d'insuffisance en B12, les objectifs sont de prévenir la carence en B12 en premier lieu et de traiter cette carence par réplétion lorsqu'elle se produit. La carence en B12 est principalement causée par un apport insuffisant. Une fois la B12 répliquée chez ces patients, les réserves de B12 sont généralement bien conservées en raison d'un mécanisme d'absorption dépendant du facteur intrinsèque intact et de la circulation entérohépatique de B12. Ce n'est pas le cas des individus qui ont

Une certaine forme de malabsorption causée par l'échec de la conservation dépendante du facteur intrinsèque de B12 biliaire.

Cette différence fondamentale dans la capacité de conserver ou non la B12 biliaire, est un déterminant important à la fois de la rapidité d'apparition de l'épuisement des réserves de B12 du corps et de la gravité de la carence en B12 qui survient lorsqu'elle n'est pas traitée.

Les anomalies cliniques graves doivent être traitées de manière intensive avec B12, cyanoB12 ou hydroxyB12.

Après une injection intramusculaire de 1000 µg de cyanoB12, environ 150 µg sont finalement retenus dans l'organisme, principalement par le stockage dans le foie, bien que la variabilité de la rétention soit importante dans les différentes études originales dont ce chiffre est dérivé. (**Carmel. 2008).**

L'hydroxyB12 est couramment utilisé en Europe, souvent à des intervalles de 2 à 3 mois, car il semble avoir une meilleure rétention que le cyanoB12. Il n'y a aucun avantage à utiliser les formes sensibles à la lumière de la cobalamine, telles que le méthylB12 ou l'adénosylB12, au lieu des formes cyano ou hydroxy stables, qui sont facilement converties dans le corps en formes coenzymatiques, méthylB12 et adénosylB12. **(Obeid et al., 2015).**

La supplémentation orale à haute dose est une alternative efficace au traitement parentéral. La B12 radioactive a été utilisée pour montrer que 0,5 à 4% d'une dose orale a été absorbés; ainsi, des comprimés à haute dose de 1 000 µg délivreront en moyenne 5 à 40 µg de B12 **(Berlin et al., 1968).** Des études randomisées de doses orales quotidiennes élevées de 1 000 à 2 000 µg ont montré l'équivalence ou la supériorité de la B12 injectée **(Kim et al., 2011).** Des doses orales de> 500 µg par jour ont été nécessaires pour corriger les niveaux de MMA chez les personnes âgées, Les patients atteints d'une véritable anémie pernicieuse, dépourvue de facteur intrinsèque, sont incapables de réabsorber la B12 perdue dans la bile, qui varie de 3 à 9 µg par jour. **(Stabler. 2013).** Pour maintenir les réserves de tissus, entre 100 et 300 µg de B12 doivent donc être conservés mensuellement. L'exigence quotidienne pour les individus sans malabsorption a été fixée à 2,4 µg, bien qu'un apport de 4 à 7 µg ait entraîné une baisse des valeurs sériques de MMA **(Bor et al., 2010).**

Les personnes qui sont déficientes en B12 en raison d'un faible apport alimentaire auront besoin de charger avec une dose élevée de B12 pour établir ou restaurer les niveaux tissulaires, après quoi des suppléments plus petits suffiront car la conservation de la B12 biliaire est possible grâce au recyclage entérohépatique et à la réabsorption normalement très efficace de la B12 biliaire **(Green et al., 1982).** La détection de la malabsorption de la B12 à l'aide du test

CobaSorb peut aider à déterminer si les patients répondront aux suppléments de B12 à faible dose ou s'ils auront besoin d'un traitement avec des doses pharmacologiques de la vitamine, soit par voie orale soit par injection intramusculaire **(Hvas et al., 2011).** L'établissement ou la restauration de réserve B12 adéquats est particulièrement important chez les femmes enceintes et allaitantes.

Les anomalies neurologiques graves doivent être traitées de manière agressive avec des injections quotidiennes pendant une semaine puis un traitement hebdomadaire jusqu'à stabilisation. Certains patients demandent des injections plus fréquentes, affirmant une amélioration subjective des symptômes et de l'humeur. La base de ceci n'est pas comprise, mais comme la B12 est considérée comme inoffensive sans niveau d'apport supérieur tolérable défini. **(Tucker et al., 2000).** Donc, il n'y a pas de mal dans une approche « personnalisée » pour répondre aux besoins de chaque patient.

III. L'hypervitaminémie B12 :

1.Physiopathologie :

L'hypervitaminémie B12 est une anomalie biologique fréquente et largement sous-estimée car méconnu**.** Cliniquement, elle peut parfois s'accompagner paradoxalement de signes de carence traduisant en fait un déficit fonctionnel en rapport avec des anomalies qualitatives relatives à des défauts de captation et d'action tissulaires de la vitamine B12 **(Andrés et al., 2013).**

Les hypervitaminémies B12 font intervenir schématiquement trois mécanismes physiopathologiques essentiels auxquels répond la quasi-totalité des causes à rechercher

Ces mécanismes sont les suivants : **(Chiche et al., 2008, Ermens et al., 2003).**

Une augmentation directe exogène ou endogène de la vitamine B12 plasmatique

Une augmentation des TCB par excès de production ou défaut de clairance

Un déficit quantitatif ou un défaut d'affinité des TCB pour la vitamine B12.

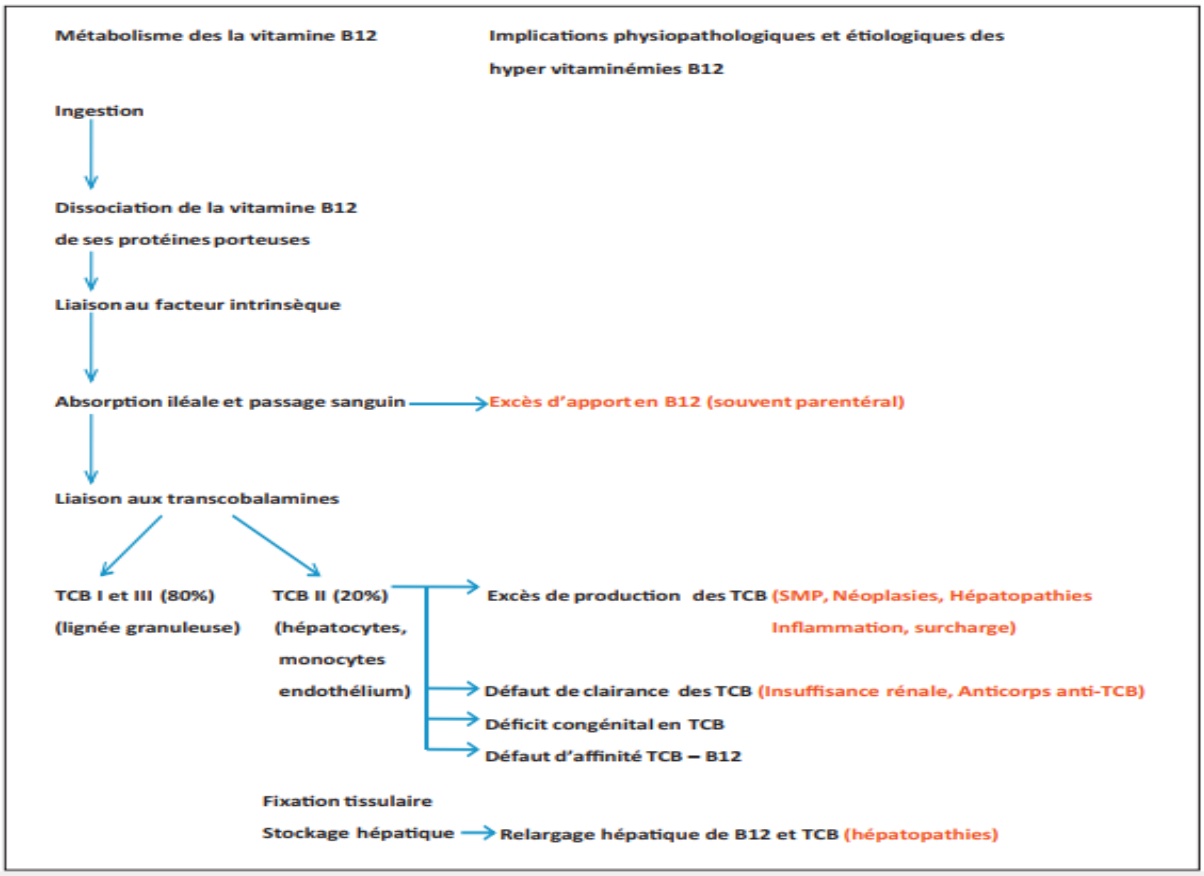


Figure 6 : Métabolisme de la vitamine B12 et corrélations physiopathologiques avec l'hypervitaminemie B12 **(Serraj et al., 2011).**

2. Conséquences pathologiques de l'hypervitaminémie B12

Contrairement au déficit en vitamine B12, la physiopathologie et les conséquences cliniques de l'hypervitaminémie B12 ont été jusque-là très peu étudiées. Il est cependant actuellement envisagé qu'une augmentation du taux de vitamine B12 plasmatique comporte le risque de provoquer un déficit fonctionnel avec des conséquences cliniques qui ressemblent paradoxalement à celles du déficit en vitamine B12. Une augmentation de la liaison de la vitamine B12 aux HC, secondaire à l'élévation de leur taux plasmatiques (notamment pour la TC I et III qui sont largement majoritaires), entraîne en effet potentiellement une baisse de sa fixation à la TCB II et donc une altération de sa délivrance aux cellules. Ainsi, un déficit fonctionnel en vitamine B12 avec une augmentation des taux d'homocystéine et/ou d'acide méthylmalonique peuvent apparaître, même si l'anomalie initiale est ici un excès et non pas un déficit en vitamine B12 **(Kanazawa S, Herbert V. 1985, Baker et al., 1998).**

IV. LA VITAMINE B12 ET LE DIABETE :

1. La vitamine B12 chez les diabétiques de type 2 :

La metformine est considérée comme la pierre angulaire du traitement du diabète et constitue le traitement de première intention le plus fréquemment prescrit pour les personnes atteintes de diabète de type 2. De plus, c'est l'un des rares agents antihyperglycémiques associés à l'amélioration de la morbidité cardiovasculaire et la mortalité, qui est une cause majeure de décès chez les patients atteints de diabète de type 2. La metformine induit cependant une malabsorption de la vitamine B12, ce qui peut augmenter le risque de développer une carence en vitamine B12, une condition cliniquement importante et traitable. De plus, le traitement par la metformine a été rapporté comme étant associé à une diminution de la concentration en folate, bien que le mécanisme de cet effet n'ait pas été élucidé. Enfin, une diminution des concentrations de folate et de vitamine B12 pourrait, à son tour, entraîner une augmentation de la concentration d'homocystéine, un facteur de risque indépendant de maladie cardiovasculaire, en particulier chez les personnes atteintes de diabète de type 2. **(Jolien et al., 2010).**

L'Association American de Diabètes suggère d'utiliser la metformine comme traitement médical de première intention pour le diabète de type 2. Lorsqu'elle est utilisée seule, la metformine provoque rarement une hypoglycémie chez les personnes âgées.

Il augmente la sensibilité à l'insuline et améliore la perte de poids et le profil lipidique. Ses effets secondaires incluent l'acidose lactique chez les patients souffrant d'insuffisance cardiaque, d'insuffisance rénale et chez les patients alcooliques, ainsi qu'une carence en vitamine B12 **(Liu et al., 2011).**

2. Effets à long terme de la metformine sur le statut en vitamine B12

Le risque de développer une carence en vitamine B12 associée à la metformine est fortement influencé par l'augmentation de l'âge, de la dose de metformine et de la durée d'utilisation (**De-Jager et al., 2010).**

La diminution de l'absorption et des niveaux de vitamine B12 après l'utilisation de la metformine commence généralement dès le 4ème mois. Les mécanismes proposés pour expliquer la carence en vitamine B12 induite par la metformine chez les patients atteints de DT2 sont les suivants: altérations de la motilité de l'intestin grêle qui stimule la prolifération

bactérienne et la carence en vitamine B12 consécutive, inhibition compétitive ou inactivation de l'absorption de vitamine B12, altérations des niveaux de facteur intrinsèque (IF) et interaction avec le récepteur endocytaire cubuline. Il a également été démontré que la metformine inhibe l'absorption dépendante du calcium du complexe de vitamine B12-IF au niveau de l'iléon terminal. **(Davis et al., 2013).**

La queue hydrophobe des biguanides, comme la metformine, se prolonge dans le noyau hydrocarboné des membranes. Le groupe biguanide protoné donne une charge positive à la surface de la membrane, qui déplace les cations divalents. Ainsi, les biguanides modifient les potentiels membranaires et affectent leurs fonctions calcium-dépendantes.

La metformine a également un effet sur la cubiline, qui peut affecter l'absorption du complexe B12- facteur intrinsèque et entraîner la carence **(Liu et al., 2011).**

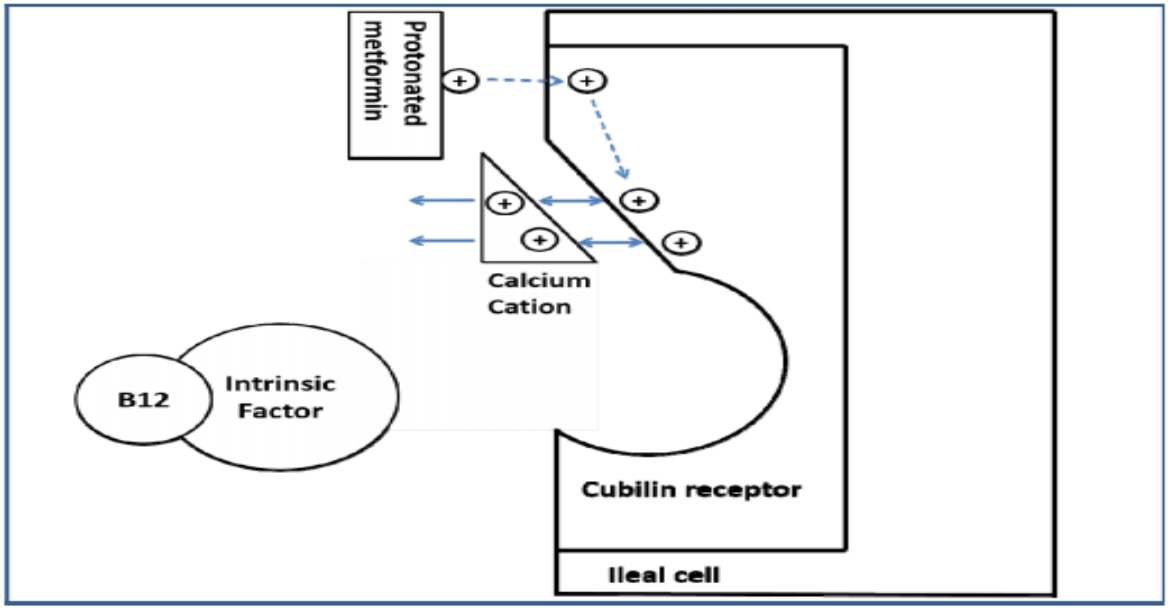


Figure 7 : Le Mécanisme d'inhibition de l'absorption de la vitamine B12 par la metformine **(Ahmed. 2016).**

5. Supplémentation en vitamine B 12 chez les patients DM sous metformine

Actuellement, il n'y a pas de lignes directrices pour la supplémentation et la dose appropriée de vitamine B12 pour les patients atteints de DM sous metformine.

Il ne faut pas oublier que la neuropathie induite par une carence en Cbl précède l'apparition d'une anémie mégaloblastique et, bien que l'anémie par carence en Cbl soit réversible,

La progression de la neuropathie est seulement arrêtée et non inversée avec l'initiation de la thérapie avec Cbl de la neuropathie diabétique qui ressemble être la neuropathie induite par la metformine. Donc, une alternative et une méthode plus pratique et plus rentable pour éviter une carence en Cbl, non encore évaluée, serait une injection annuelle de 1000 μg de Cbl qui fournirait plus que le besoin annuel en Cbl pour chaque patient sous traitement à long terme par la metformine. **(Elias et al., 2012).**

Il semble prudent de surveiller périodiquement les niveaux de vitamine B 12 chez les patients sous metformine. **(Robert et al., 2011).**

Patients et méthodes

1. Type d'étude :

Il s'agit d'une étude transversal descriptif et observationnelle ; que nous avons réalisé au niveau du laboratoire des analyses médicales du Dr. Zitouni ainsi qu'au cabinet médical du Dr Bellouenes Karim spécialiste en hématologie. Au total, nous avons pu recruter 5O patients durant la période de 25 Février au 19 Mars. Hélas, nous étions obligés d'interrompre le stage à cause de la pandémie Covid-19.

2. Patients :

La population étudier a concerné les deux sexes (14homme et 36femme) dont l'âge est compris entre 23 ans et 88 ans

3. Objectifs:

Les objectifs de notre étude étaient de (i) déterminer la prévalence de l'hypovitaminose B12 chez le patient Algérien. (ii) Mettre en relation l'impact de la metformine sur l'hypovitaminose B12 chez les patients diabétiques de types 2(iii) et enfin l'aspect nutritionnel, en mettant en relation les habitudes alimentaires des patients notamment les protéines d'origine animale avec le statut de la vitamine B12.

4. Méthodologie :

4.1. Anamnèse et exploration :

nous avons recueilli les informations concernant les patients au laboratoire ; le jour du prélèvement à l'aide d'une fiche patient ; ce qui nous a permis de noter les données suivantes : le sexe ; l'âge ; le tabagisme ;la grossesse et l' allaitement ; les habitudes alimentaires (les apports en viande par semaine) ; la présence et l'ancienneté de (diabète ;HTA ;arythmie ; dysthyroïdie) ;plus le traitement pris ;présence des troubles gastro-intestinales ;d'une insuffisance rénale ; ou autres maladies .(voir l'annexe) .

Les mesures anthropométriques ont concerné la mesure du poids corporel sur un pèse-personne, le tour de taille à l'aide d'un ruban-mètre couturière et la taille sur toise. Le

calcul de l'Indice de Masse Corporelle (IMC) est calculé selon la formule de QUETELET :

IMC = Poids (kg)/Taille (m^2).

L'interprétation de l'IMC se fait selon les critères définis par l'Organisation mondiale de la Santé

Tableau 03: L'interprétation de l'IMC selon l'Organisation mondiale de la Santé.

IMC (kg.m-2)	Interprétation (d'après l'OMS)
moins de 16,5	Dénutrition
16,5 à 18,5	Maigreur
18,5 à 25	Corpulence normale
25 à 30	Surpoids
30 à 35	Obésité modérée
35 à 40	Obésité sévère
plus de 40	Obésité morbide ou massive

4.2.Le contexte biologique :

Nous avons évalué le statut de la vitamine B12

4.2.A. Dosage de la vitamine B12 circulante : (la Technique froide d'électro chimiluminescence)

Principe de la méthode : (méthode par compétition sur automate ARCHITECT i System).

Utilise du FI marqué au ruthénium : la vitamine B12 de l'échantillon entre en compétition avec de la B12 biotinylée sur le FI marqué **(Watine et al., 2011).**

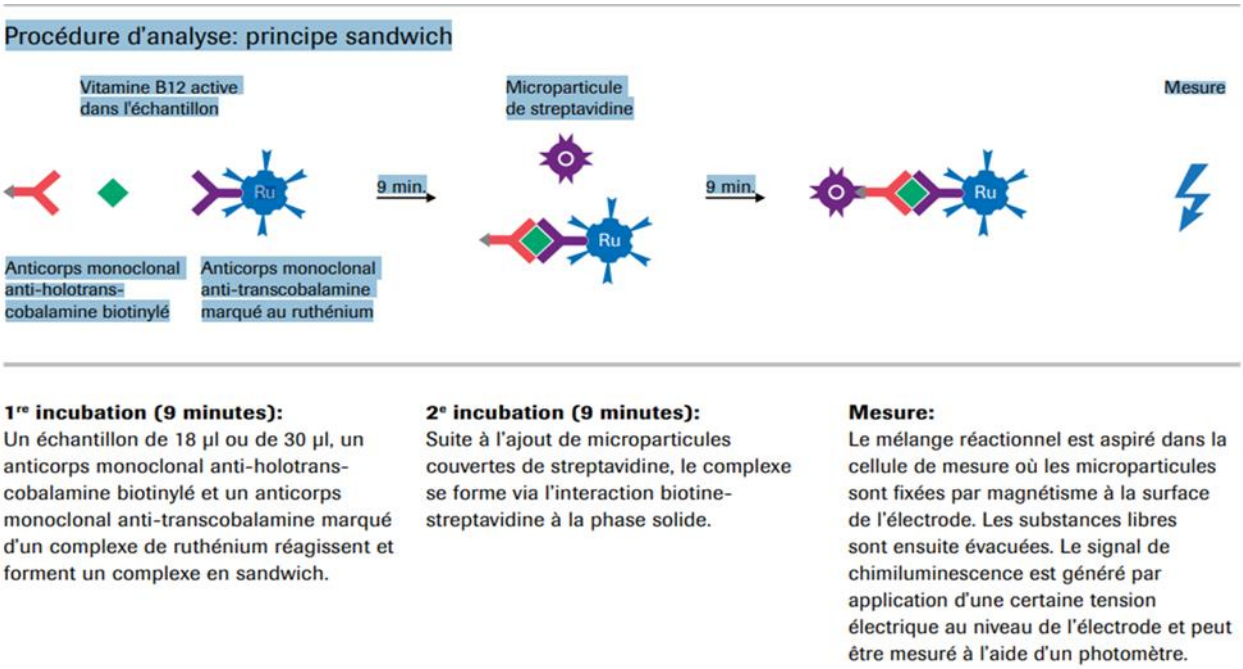


Figure 8 : Schéma explicatif du principe de dosage de la vitamine B12 **(Guillerme. 2019).**

Le Protocol sur automate :

ARCHITECT B12 est un dosage microparticulaire (microparticules recouvertes de facteur intrinsèque) par chimiluminescence pour la détermination quantitative de la vitamine B12 dans le sérum et le plasma humains sur l'ARCHITECT i System.

LA METHODE ARCHITECT B12 est un dosage en deux étapes avec prétraitement automatisé des échantillons, pour la détermination du taux de B12 dans le sérum et le plasma humains, utilisant la technologie de dosage immunologique microparticulaire par chimiluminescence à protocoles de dosage flexibles, appelée Chemiflex. L'échantillon et les réactifs 1, 2 et 3 de prétraitement sont mis en présence. Une partie aliquote de l'échantillon prétraité est aspirée et transférée dans une nouvelle cupule réactionnelle. L'échantillon prétraité, le diluant de dosage et les microparticules paramagnétiques recouvertes de facteur intrinsèque sont mis en présence. La B12 présente dans l'échantillon se lie aux microparticules recouvertes de facteur intrinsèque. Après lavage, le conjugué B12 marqué à l'acridinium est ajouté dans un deuxième temps. Les solutions de préactivation et d'activation sont ensuite ajoutées au mélange réactionnel et la chimiluminescence résultante est mesurée en unités relatives de lumière (URL). Il existe une

relation inverse entre la quantité de B12 présente dans l'échantillon et les URL détectées par le système optique ARCHITECT i. **(Abbott Laboratories. 2010).**



Figure 9 : Automate L'ARCHITECT C4000i. **(Abbott Laboratories. 2010).**

Lors de cette évaluation, les échantillons de sérum analysés avec le dosage ARCHITECT B12 ont donné des résultats compris entre 113 et 2 769 pg/ml (83 à 2 043 pmol/l) et entre 93,5 et 2 655,8 pg/ml (69,1 à 1 959,5 pmol/l) avec le dosage comparatif.

* Données indicatives, les résultats obtenus peuvent varier d'un laboratoire à l'autre. **(Abbott Laboratories. 2010).**

5. Analyses statistiques:

Le traitement de nos donnés a été réalisé sur Microsoft Excel2016 et representés en tableaux et graphes, Les résultats des variables qualitative sont présentés en pourcentage, et par moyennes +/- écart types pour les variables quantitatives. L'étude statistique pour la comparaison entre les différentes catégories a été réalisée à l'aide du test de student en cas de 2 catégories servi

par le logiciel Excel2016, ainsi que le test one-way anova multiples comparaisons dans les cas de plusieurs catégories servi par le logiciel Graphpad Prism.

Afin d'obtenir une règle de décision qui permette de choisir entre le rejet et le non rejet de de l'hypothèse nulle, il faut fixer une valeur de la probabilité, qu'on appelle niveau de signification du test et qu'on désigne par symbole α.

- Si $p \leq \alpha$: on rejette l'hypothèse nulle au niveau de signification α.
- Si $p > \alpha$: on ne rejette pas l'hypothèse nulle au niveau de signification α.

La valeur généralement adoptée pour α est 0,05.

Fréquemment aussi on conssidère trois niveaux : 0,05, 0,01 et 0,001 .

Alors en fonction de p, on a les situations suivantes :

- Si $p > 0,05$: la différence est non significative.
- Si $0,05 \geq p > 0,01$: la différence est significative.
- Si $0,01 \geq p > 0,001$: la différence est hautement significative.
- Si $p \leq 0,001$: la difference est très hautement significative.

RESULTATS ET DISCUSSION

1.Description générale de la population étudiée :

Nous rappelons que notre investigation a porté sur 50 patients.14 Hommes et 36 Femmes dont l'âge moyen est de 58 ,44±19,24. Notre principal objectif est de mettre en relation le statut de la vitamine B12 et le diabète de type II. Pour cela, nous avons analysé les données épidémiologiques, clinques et biologiques. Nous avons aussi abordé l'aspect nutritionnel, en mettant en relation les habitudes alimentaires des patients notamment les protéines d'origine animale avec le statut de la vitamine B12.

2.Répartition des patients selon le statut vitaminique B12 :

Tableau 4: Répartition des patients selon le statut de la vitamine B12.

[B12] pg/ml	**Normale (187-883)**pg/ml	**Carence <187pg/ml**	**Intoxication >883pg/ml**
%	68	28	4

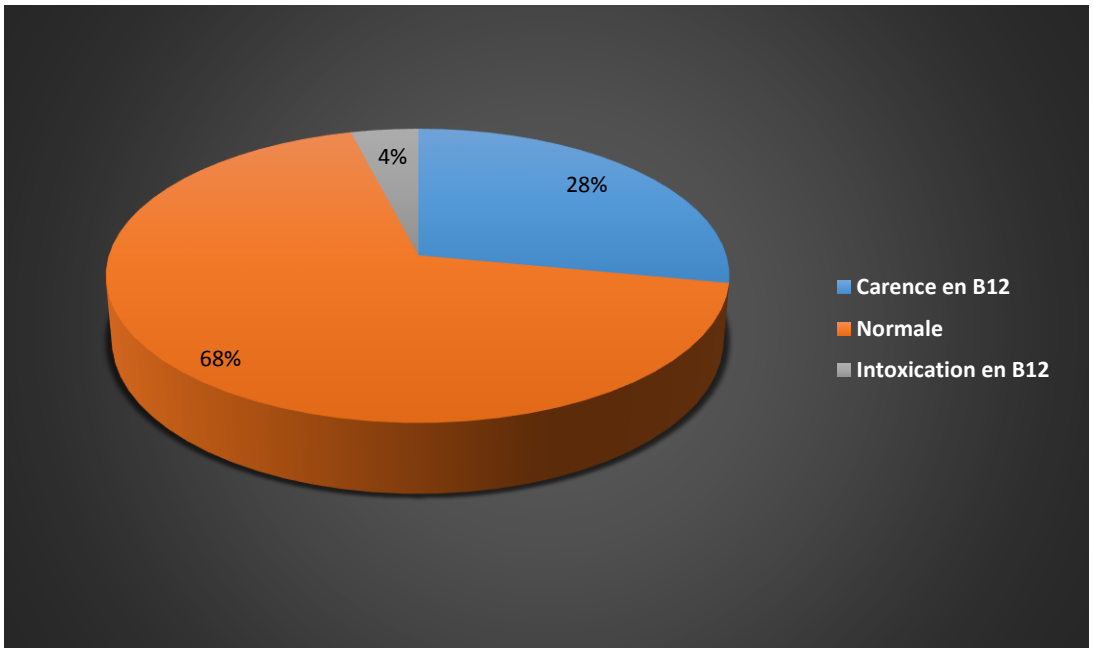


Figure 10: Répartition des patients selon le statut vitaminique B12

Nos résultats montrent une prévalence assez importante de l'hypovitaminose B12, 28% de nos patients sont concernés. 68% de la population d'étude ont présenté un statut normal en vitamine B12 et enfin, 4% ont présenté une intoxication de cette vitamine (Tableau 04, figure 10).

Nos résultats concordent avec ceux de Urbanski et son équipe. En effet, la prévalence de l'hypovitaminose B12 était de 22,4%. L'étude a été porté sur des patients hospitalisés au niveau du service de médecine interne et maladies vasculaires **(Urbanski et al., 2015).**

En revanche, Arendt, et son groupe ont trouvé 13% des patients hospitalisés à l'hôpital universitaire Arthus en Danemark avec une hypercobalaminemie **(Arendt JFB, Nexo E. 2012).**

Ainsi que carmel et leurs équipes ont trouvés une prévalence plus élevée de l'hypercobalaminemie égale à 14% dans leurs études sur les patients hospitalisés dans l'hôpital universitaire à New York **(Carmel et al., 2001).**
Ces proportions diffèrent d'une zone à autre selon les facteurs sociologiques et individuels (tels que le statut socio-économique, la religion, pratiques culturelles, et politiques de santé publique).

3. Répartition des patients en carence de vitamine B12 selon le sexe :

Tableau 05: La moyenne de concentration de la vitamine B12 chez les 2 sexes en hypovitaminose B12

Catégorie	Homme	Femme	Pvalue
%	39	61	0,4
[B12]pg/ml	88,75±41	92,68±42,2	

61% des femmes présentaient une carence en vitamine B12 versus 39% chez les hommes ; avec des moyennes respectives de 92,68±42,27 pg/ml et 88,75±41 pg/ml. (Tableau 05)

Nous n'avons remarqué aucune différence statiquement significative entre les deux sexes (Pvalue>0,05).

Cela peut être dû au faible effectif de la population étudier. Cependant, des études récentes Ont montré la prédominance féminine de l'hypovitaminose B12.

En effet, Bailey et son équipe ont trouvé que la prévalence de la carence en vitamine B12 est généralement plus élevée chez les femmes que chez les hommes (prévalence de 3,3% versus 2,4% respectivement) **(Bailey *et al., 2011)*.**

En revanche, une autre étude récente portée sur une population saine ; réalisée par Ili et son équipe a montré une prévalence de l'hypovitaminose B12 plus élevé chez les hommes (25,5%) que chez les femmes (18,9%) avec une différence significative **(Ili et al., 2018).**

Le mécanisme causal de ce phénomène reste à être déterminé, bien que les variations génétiques, y compris les expressions génétiques liées au sexe sont susceptibles de jouer un rôle important **(Ili et al., 2018).**

4. Répartition des patients en carence de vitamine B12 selon l'âge :

L'âge des patients de notre échantillon présentant une hypovitaminose B12 varie entre 23 ans et 87 ans, avec une moyenne d'âge de 61,87 ±17 ,2 ans, ainsi qu'un coefficient de variation égale à 0,33 cela signifie que la population étudiée est hétérogène.

Tableau 06 : La moyenne de la vitamine B12 selon les tranches d'âge chez les sujets en Hypovitaminose B12

Tranches d'âge	%	[B12]pg/ml	Pvalue
[20-35]	9,7	149,97±18,94	0,45
[35-50]	9,7	82,27±41,07	
[50-65]	22,6	84,83±30,71	
[65-80]	51,5	85,86±42,72	
>80	6,5	53±35,36	

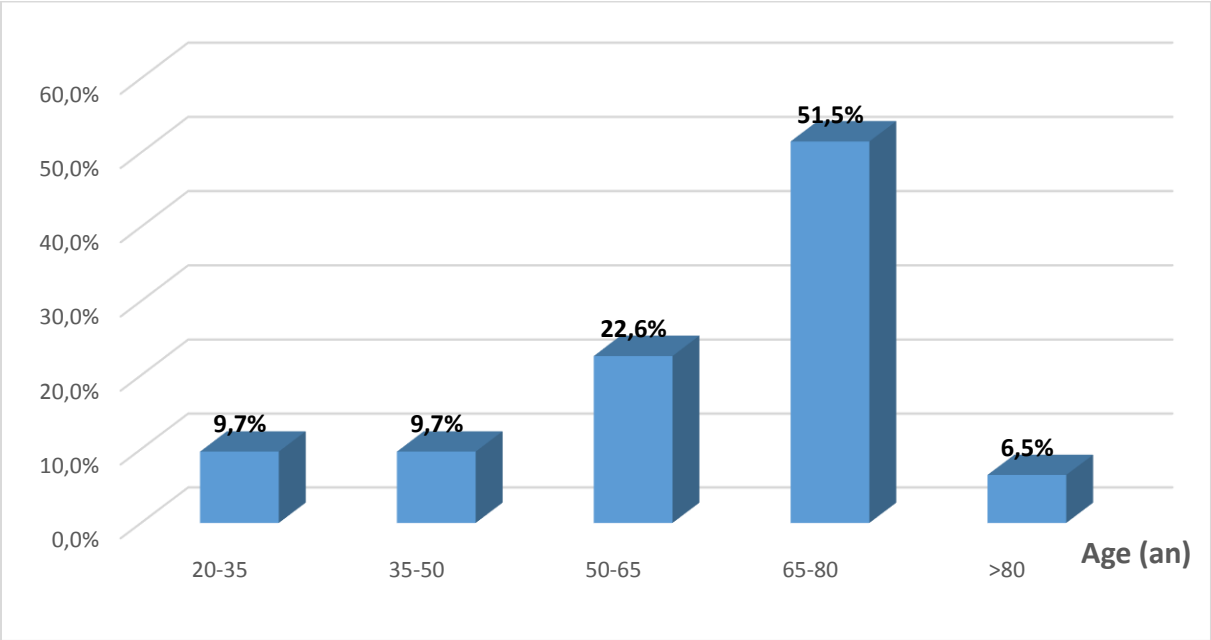


Figure 11 : La répartition des patients ayant une hypovitaminose B12 selon les tranches d'âge

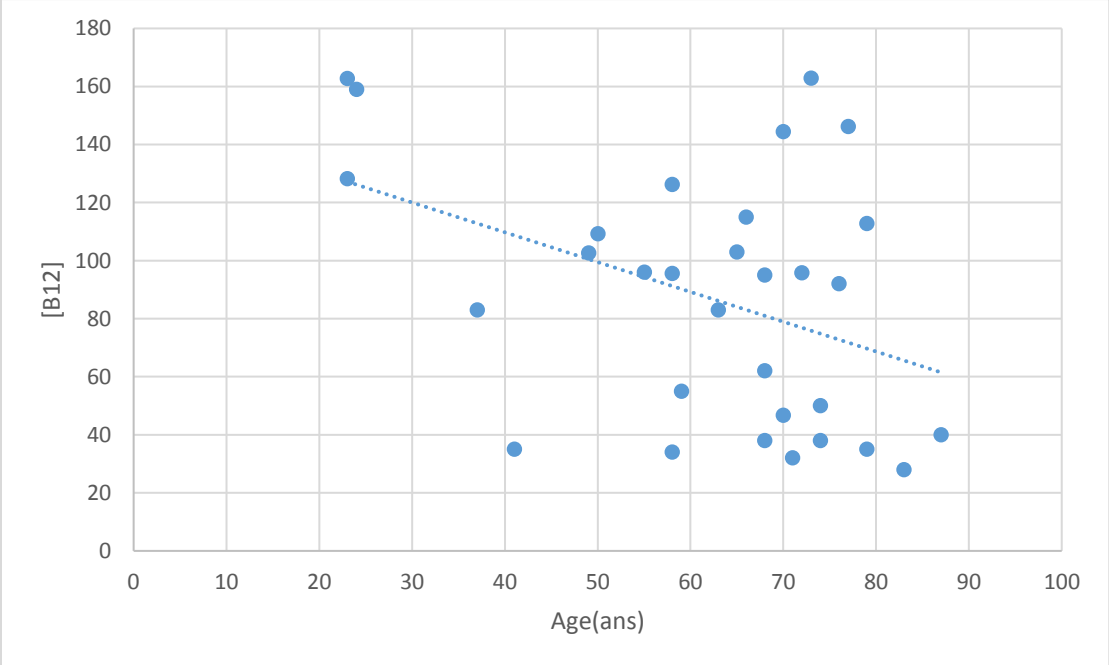


Figure12 : corrélation entre la vitamine B12 et l'âge.

Nos résultats sont consignés dans le tableau 6 et la figure 11

Les tranches d'âge 20-35 ans et 35-50 ans ont présenté la même prévalence de l'hypovitaminose B12 avec une proportion de 9,7%, et des moyennes respectives de 149,97±18,94 pg/ml et 82,27±41,07 pg/ml.
Concernant la tranche d'âge 50-65 ans. La prévalence de l'hypovitaminose B12 a augmenté avec une proportion de 22,6% et une moyenne de 84,83±30,71pg/ml.

La tranche d'âge 65-80 ans ; a présenté une prévalence en hypovitaminose B12 remarquable, avec une proportion de 51,5% et une moyenne égale à 85,86±42,72 pg/ml.

En revanche, 6.5% des patients de plus de 80 ans ont présenté une hypovitaminose B12 avec une moyenne de 53±35,36 pg/ml.

Nos résultats montrent que la carence en vitamine B12 est plus fréquente chez les personnes âgées que chez les personnes jeunes. Néanmoins, les résultats obtenus ne montrent pas de différence significative entre les différentes tranches d'âge P value>0,05. Cela peut être dû au faible effectif. Une corrélation inverse a été décelée entre la vitamine B12 et l'âge, soit
r = (-0,40) (figure12).
Nos résultats concordent avec ceux de la littérature. En effet, selon Pennypacker et son équipe la carence en vitamine B12 est plus fréquente chez les personnes âgées, augmentant généralement au-delà de 60ans **(Pennypacker *et al.*, 1992).**
Cette carence peut être due à une mal absorbation retrouvée chez la personne âgée **(Carmel. 1995).**

6. Répartition des patients en carence de vitamine B12 selon les antécédents médicaux :

La répartition des patients en carence de vitamine B12 selon les antécédents donne les résultats suivants :

Tableau 7 : la moyenne de la vitamine B12 des patients en hypovitaminose B12 regroupés selon les pathologies.

Pathologie	%	[B12] pg/ml
Diabète Type2	35,5	94,57±41,81
HTA	45,2	89,62±35,28
Hypothyroïdie	19,35	60,73±37,44
Arythmie	9,7	104,27±9,80
Troubles gastro-intestinales	9,7	128,33±33,45

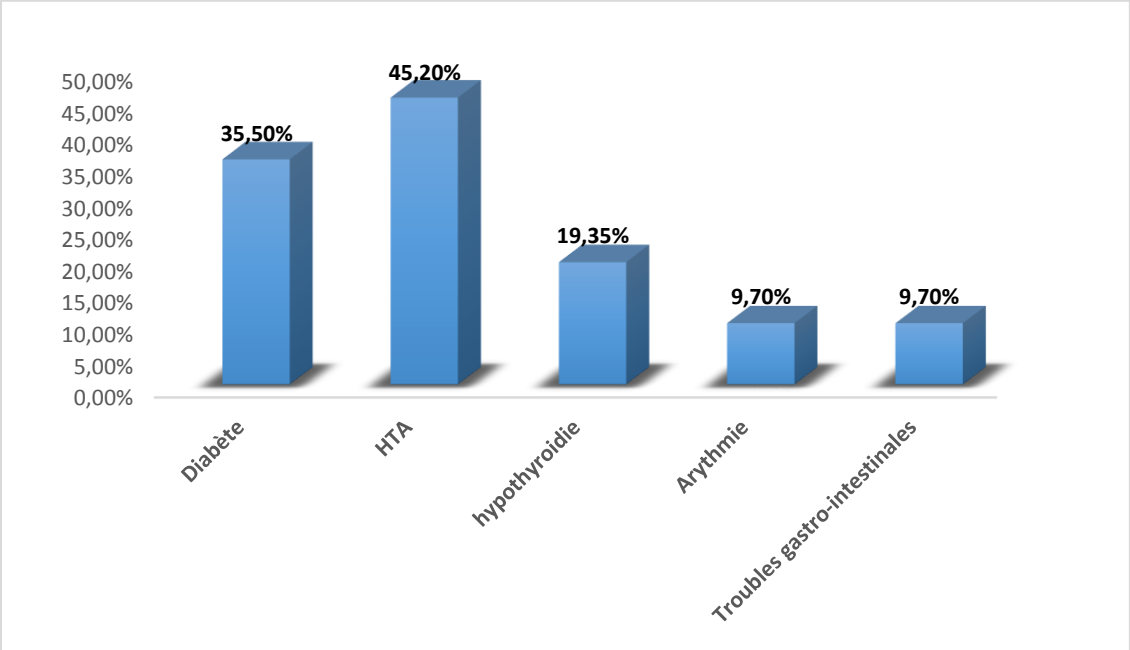


Figure 13 : La répartition des patients en hypovitaminose B12 selon les pathologies associées.

Dans notre étude la majorité des patients ayant une carence en vitamine B12 présente une maladie chronique. Les antécédents ont été regroupés en 5 catégories ; prenant en considération leur prévalence et la moyenne en vitamine B12 pour chaque catégorie (Figure 13, tableau07).

D'après les résultats obtenus :

On remarque que le diabète de type 2 et HTA représente les maladies les plus associées à la carence en vitamine B12. Nos résultats sont comparables à ceux de Khan et son équipe. Ils ont trouvé que 29,66% des patients diabétiques de type 2 souffraient d'une carence en vitamine

B12 **(Khan et al., 2017).** Cela peut être dû aux traitements prescrits (metformine, β bloquant) que nous allons détailler plus loin.

L'hypothyroïdie a concerné 19,35% des patients présentant une hypovitaminose B12,

Il existe une relation entre l'hypothyroïdisme d'origine auto immune et la vitamine B12.

En effet, dans une étude récente de Hanif et son équipe en 2019. Ils ont décelé une association entre l'hypothyroïdisme auto-immun et la carence en vitamine B12, ainsi l'existence d'une corrélation négative entre le niveau de vitamine B12 et l'AC anti-TPO **(Aktaş. 2019).**

Il est possible que cela soit dû à une anémie pernicieuse ou à une gastrite atrophique accompagnant l'hypothyroïdie auto-immune, souvent accompagnée d'autres maladies auto-immunes. **(Aktaş. 2019).**

Cette association est causée par une gastrite atrophique et / ou une anémie pernicieuse associée à des maladies thyroïdiennes auto-immunes perturbant l'absorption de la vit-B12 **(Aktaş. 2019).**

9,7 % de nos patients avec hypovitaminose B12 présentaient une arythmie. Cela peut être dû aux traitements via les bêta- bloquants, qui diminuent l'absorption de la vitamine B12.

L'hypovitaminose B12 peut elle-même provoquer une arythmie car elle peut être la cause d'une hyperhomocysteinémie. En effet, Une étude réalisée par Mahalle et son équipe sur un groupe de patients indiens a mis en évidence la relation entre la carence en vitamine B12 et l'hyperhomocystéinémie avec les facteurs de risques cardiovasculaires. **(Mahalle et al., 2013).**

Les troubles gastro-intestinaux tels que (l'ulcère, maladie cœliaque, maladie de Biermer, …) représentent un facteur majeur dans la malabsorption de la vitamine B12 par l'effet du traitement des inhibiteurs de la pompe à proton, mais sa prévalence a diminué ces dernières années. Cela est dû à une meilleure compréhension de ses maladies auto immune et donc à une meilleure prise en charge.

Dans notre étude les troubles gastro-intestinaux représentent 9,7% des patients présentant une carence de vitamine B12 ce qui est comparable à l'étude de de Wong et son équipe. En effet, la prévalence des troubles gastro-intestinaux était de 5,2% des sujets présentant hypovitaminose B12 **(Wong et al., 2015).**

7. Vitamine B12 et le tabagisme :

Tableau 8 : La moyenne de la vitamine B12 chez les fumeurs et non-fumeurs.

Catégories	Fumeurs	Non-fumeurs	Pvalue
%	67%	33%	0,053
[B12]**pg/ml**	70,6	281,83	

Nos résultats montrent que la prévalence de l'hypovitaminose B12 a été significativement plus importante chez les sujets fumeurs que chez les non-fumeurs (67% des fumeurs contre 33% non-fumeurs) avec une moyenne de vitamine B12 égale à 70,6 et 281,83 respectivement.

Selon la littérature, une étude menée par Adnan et al en 2017 sur 209 sujets, a montré que la carence en vitamine B12 était significativement plus élevée chez les patients fumeurs que chez les patients non-fumeurs **(Khan et al., 2017).** Le tabagisme est parmi les facteurs qui influent l'absorption de la vitamine B12.

8. Vitamine B12 et statut anthropométrique :

Tableau 09: Les paramètres anthropométriques chez les patients ayant une hypovitaminose B12

Catégories	HOMME	FEMME
IMC	26,89±2,87	27,67±3,21
TOUR DE TAILLE	98,67±6	99,32±10,90

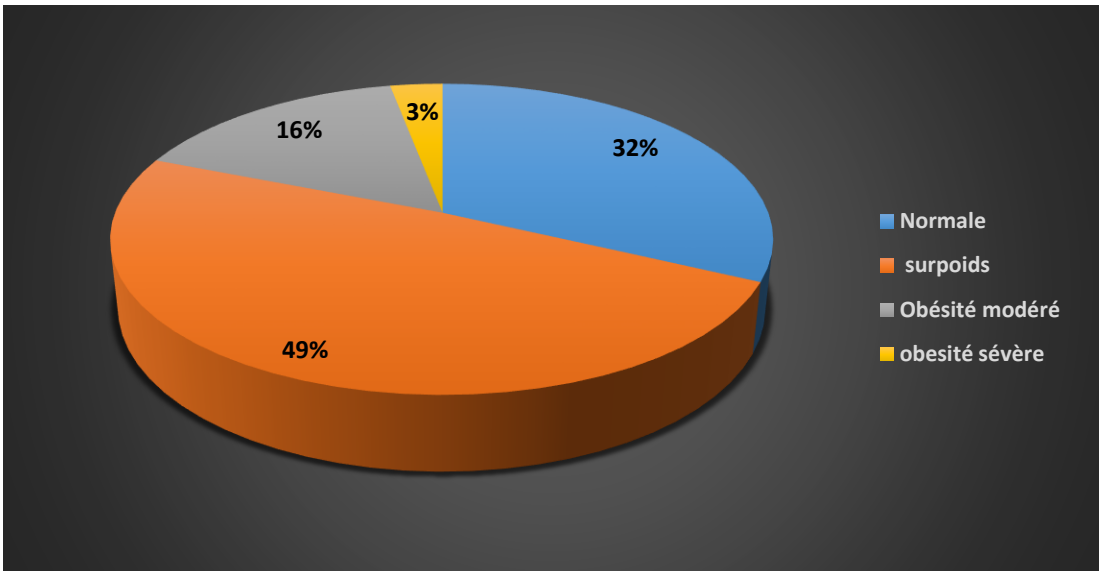


Figure 14 : Répartition des patients selon leurs IMC.

Nos résultats sont consignés dans le tableau 09 et figure 14 :

32% de la population d'étude ont un IMC entre 18,5 et 24,9 kg/m^2 ce qui signifie une corpulence normale.

Par contre 49% de la population d'étude présentent un surpoids avec un IMC supérieur à 25 kg/cm^2

16% de la population d'étude souffrent d'obésité modérée avec un IMC supérieur à 30kg/m^2

Il y a uniquement 3% de nos patients qui ont présenté une obésité sévère d'un IMC >35kg/m^2

Nous avons constaté que la plupart de nos patients sont en surpoids ou obésité avec une prédominance féminine. La moyenne de l'IMC est de 27,67±3,21 kg/m^2 avec 98,67±6 cm de tour de taille chez les femmes. En revanche, les hommes présentent une moyenne de l'IMC égale à 26,89±2,87 kg/m^2 avec un tour de taille de 98,67±6 cm.

Il est important de préciser que lorsque le tour de taille dépasse 94cm chez l'homme et 80 cm chez la femme ; ils expriment une adiposité abdominale.

D'après les résultats obtenus on remarque la présence d'une obésité viscérale chez la majorité des patients ce qui augmente le risque d'atteindre le diabète de type2 mené par l'insulino-résistance.

En effet plusieurs études ont établi l'association entre le DT2 et l'obésité.

Shai, I. et al. Dans une étude prospective ont démontré la forte association d'obésité (BMI) avec le diabète de type2 **(Shai et al., 2006).**

L'existence d'une obésité est un facteur de risque important de développer un DNID chez un sujet génétiquement prédisposé (80% des diabétiques de type 2 sont obèses ou en surpoids, particulièrement lorsqu'il s'agit d'une obésité abdominale liée à l'augmentation du tissu gras viscéral) (Lahreche I et al., 2016).

Un excès de graisses au niveau du tissu adipeux viscéral libère une grande quantité d'acides gras libres dans la circulation sanguine. Ceux-ci sont responsables d'une synthèse hépatique accrue de triglycérides et favorise la néoglucogenèse hépatique **(Herbourg. 2013).**

Au niveau musculaire, une compétition entre ces acides gras libres et le glucose se met en place. Les acides gras libres sont plus facilement oxydés et sont donc dégradés en priorité **(Herbourg. 2013).**

Conduisant à une hausse de la glycémie. Le pancréas va sécréter de l'insuline de manière excessive pour essayer de réduire la glycémie se trouvant en quantité trop importante, entrainant un essoufflement de ce dernier, n'arrivant plus à produire assez d'insuline. Ainsi la glycémie n'est plus régulée par l'insuline. L'hyperglycémie s'installe et le développement du diabète aussi. Chez les personnes obèses, le diabète est donc bien la conséquence d'un excès de poids. La production excessive d'acides gras par le tissu adipeux chez les sujets qui ont un surpoids et l'élévation de la glycémie à laquelle conduit inévitablement l'insulino-résistance contribuent d'ailleurs à la faillite de sécrétion d'insuline par le pancréas **(Lahreche et al., 2016).**

9. Statut de la vitamine B12 chez Les diabétiques de type 2 :

Les patients concernés dans cette partie de notre étude sont des diabétiques type 2 sous metformine avec ou sans hypovitaminose B12.

A. Statut de la vitamine B12 et l'âge du diabète :

Tableau 10 : Répartition des patients diabétiques selon l'âge du diabète.

Catégorie	%	[B12]pg/ml	Pvalue
<5ans	16	424,8±309,71	0,19
>5-10ans≤	42	126,4±43,94	
>10ans	42	80,96± 24,98	

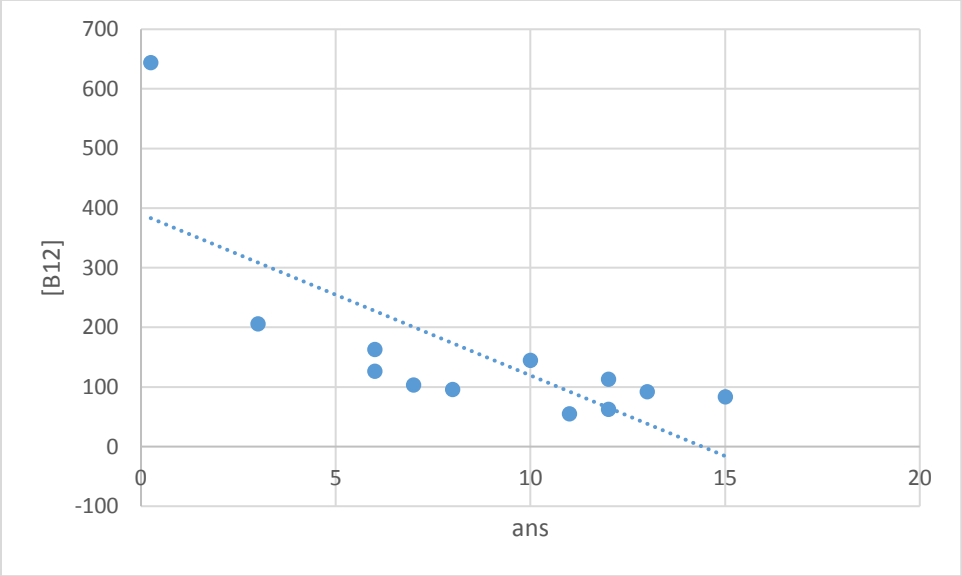


Figure 15 : La corrélation entre la vitamine B12 et l'âge de diabète.

En prenant en considération l'âge du diabète. Nous avons réparti nos patients en 3groupes comme il est montré dans le tableau 10 :

16% de nos patients ayant un âge de diabète inférieur à 5ans, présentent une moyenne de vitamine B12 égale à 424,8±309,71 pg/ml. Une diminution de cette dernière a été observée chez 42% de nos patients. Cela a concerné les patients ayant un âge de diabète compris entre 5 et 10 ans avec une moyenne de 126,8 ±43,94pg/ml ; et ceux avec un âge de diabète supérieur à 10

ans, avec une moyenne de vitamine B12 égale à 80,96± 24,98 pg/ml Cependant, nous n'avons pas remarqué de différence significative entre les différents groupes (Pvalue >0,05).

En revanche, une corrélation inverse a été décelée entre l'âge de diabète et le taux de vitamine B12, avec un facteur de corrélation (r=-0,74). (Figure 15).

L'âge du diabète est directement lié à la durée de l'utilisation de la metformine que nous allons discuter d'ici peu

B. Vitamine B12 et dose de la metformine :

Tableau 11 : Répartition des patients diabétiques selon la dose journalière de la metformine.

Dose journalière	%	[B12]pg/ml	Pvalue
≤ 1000 mg	23	336,53±267,08	0,13
>1000 mg	77	91,16±41,66	

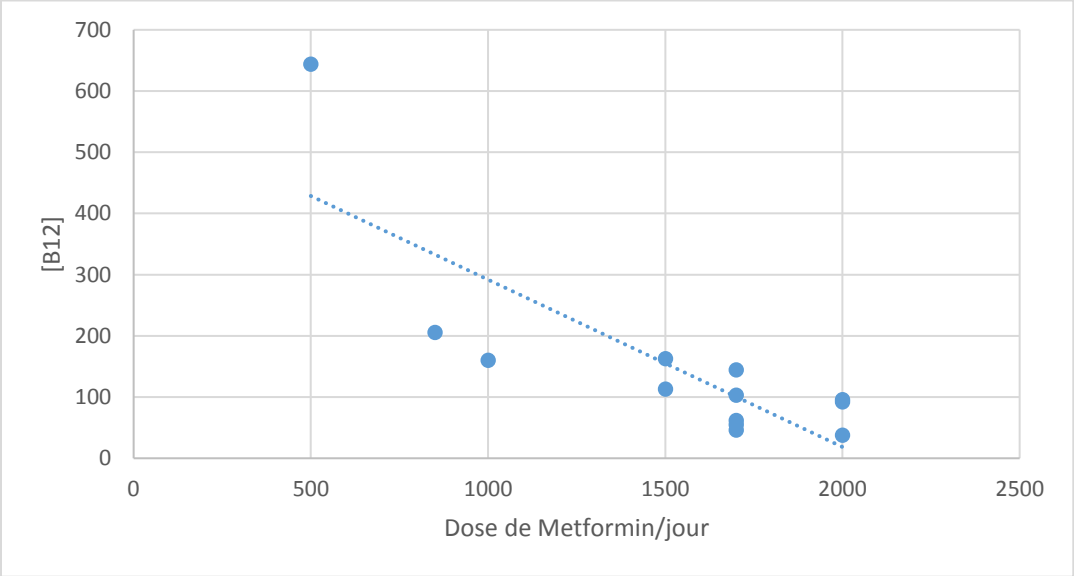


Figure 16 : La corrélation entre la vitamine B12 et la dose de metformine / jour

Dans notre étude nous avons réparti les patients diabétiques en 2 groupes selon la dose journalière de la metformine.

23% de nos patients diabétiques ayant une dose de metformine inférieur ou égale à 1000mg, avaient une moyenne correcte de vitamine B12, égale à 336,53±267,08pg/ml. En revanche, les 77% restant présentent une forte carence en vitamine B12, avec une moyenne égale à 91,16±41,66 pg/ml. Sachant que la dose journalière de metformine prise par ces patients était supérieure à 1000mg (tableau11).

Une corrélation inverse a été retrouvée entre la dose journalière de la metformine (anti diabétique) et le taux plasmatique de la vitamine B12 soit (r=-0,81) (figure 16).

Nos résultats montrent que plus la dose journalière de la metformine augmente, la concentration sérique de la vitamine B12 diminue. Mais cette différence reste non significative (Pvalue >0,05) à cause de faible effectif.

Cela concorde avec la littérature. En effet, dans une revue systématique de Liu et al en 2014. Ils ont trouvé que la concentration de la vitamine B12 était plus basse chez le groupe de patients ayant une dose journalière élevée de metformine par rapport au groupe de patients à faible dose. Indiquant que la carence en vitamine B12 était associée à la dose de la metformine **(Liu et al., 2014).** Une autre étude réalisée par Ko S-H et al en 2014 a montré que le niveau de la vitamine B12 est corrélée négativement avec la durée de l'utilisation de la metformine et sa dose journalière**.** En effet, leurs résultats ont révélé une concentration plus basse de vitamine B12 chez les patients sous metformine durant plus de 10 ans par rapport à ceux qui sont sous metformine durant 4 à 10 ans et moins de 4ans. Ils ont aussi mis en évidence l'existence d'une corrélation négative entre la dose journalière de la metformine et le taux de la vitamine B12 **(Ko et al., 2014).**

Sur le plan pathogénique, le principal mécanisme impliqué dans la genèse des déficits et carences en vitamine B12 liés à la metformine est une mal digestion des cobalamines alimentaires **(Andrès el al., 2002).**

La metformine pourrait provoquer un déficit en vitamine B12 par le biais d'une pullulation microbienne intra- luminale intestinale, et également interagir avec les membranes cellulaires digestives, directement au niveau du récepteur du complexe facteur intrinsèque - vitamine B12 (cubiline), lors du mécanisme d'endocytose (calcium dépendant) **(Bauman et al., 2000)**

10. La corrélation entre la vitamine B12 et le régime alimentaire :

Tableau 12 : La moyenne de vitamine B12 selon les habitudes alimentaires.

Apport en produits animales/semaine	Nombre	[B12] pg/ml	Pvalue
Rarement	20%	194,91±213,04	0,058
1fois	38%	118,11±82,78	
2fois	26%	136,63±46,50	
3fois	10%	234,56±67,68	
>3 fois	6%	315,5±95,49	

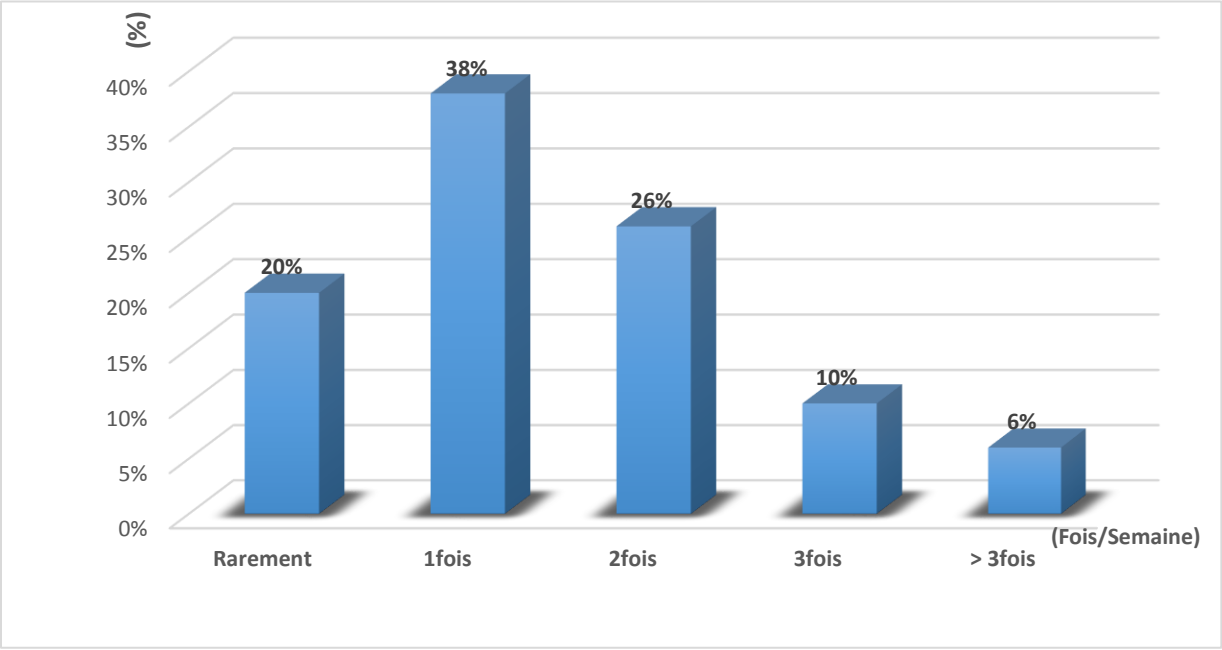


Figure 17 : Répartition des patients selon les apports alimentaires en protéines d'origine animales.

Nous avons pris en considération les apports en protéines d'origine animales (la viande, les abats, le poulet, les poissons …etc) de nos patients; car ils sont les principales sources de vitamine B12. Puis, nous les avons subdivisés en 5 groupes (tableau 12, figure 17).

20% de nos patients ont un apport rare en protéines d'origine animale, avec une moyenne en vitamine B12 égale à 194,91±213,04 pg/ml.

Une prévalence plus élevée de patients qui consomment, 1fois par semaine les protéines animales (38%), avec une moyenne de vitamine B12 égale à 118,11±82,78 pg/ml.

26% de nos patients consomment 2fois par semaine les protéines animales avec une moyenne de vitamine B12 égale à 136,63±46,50 pg/ml. En revanche, 10% uniquement de nos patients qui en consomment 3fois par semaine et 6% plus de 3 fois par semaines avec des moyennes respectives de vitamine B12 égale à 234,56±67,68 pg/ml et 315,5± 95,4 pg/ml.

D'après nos résultats, on remarque une amélioration de la concentration plasmatique de la vitamine B12 en augmentant les apports des protéines d'origines animales, sans qu'il y ait de différence significative (P value égale 0,058). Cela, nous a permis de constater que ces protéines sont une source importante de vitamine B12.Un apport insuffisant de ses protéines semble être un principal facteur de risque de l'hypovitaminose B12 chez nos patients. En effet, une étude portée sur 138 végétariens hindous vivant au Royaume-Uni avec des preuves cliniques de carence en vitamine B12 a mis en évidence le faible statut en cobalamine et le régime végétarien **(Antony. 2003**).

Andres E et al ont montré qu'une consommation réduite de cobalamine provenant des aliments d'origine animale entraîne une grave carence lorsque les réserves tissulaires de vitamine sont épuisées **(Andres et al., 2010).**

Conclusion

La vitamine B12 est un élément crucial pour plusieurs métabolismes ainsi que pour la survie cellulaire, pour cela une carence de celle-ci causée par différents facteurs entraine des troubles et un déséquilibre sur la santé humaine.

L'âge, les habitudes alimentaires, les antécédents médicaux et pathologiques sont les principaux facteurs entrainants une carence de la vitamine B12.
Une carence importante de cette vitamine mène son lot de symptômes inquiétants affectant plusieurs parties du corps à la fois, y compris les changements morphologiques hématologiques, et les troubles neuropsychiatriques.

Le traitement hypoglycémiant à la metformine peut induire une carence en vitamine B12 chez les sujets diabétiques de type 2, la prévalence de cette manifestation est en corrélation avec la durée et la dose de posologie de cette molécule.

Donc, un dépistage systématique de la carence en vitamine B12 plus une supplémentation orale ou pondérale de cette dernière chez tous les patients atteints de diabète de type 2 traités à la metformine, pourraient éviter des lésions nerveuses irréversibles (neuropathie), ainsi que les troubles hématologiques. Cela s'applique pour tous les sujets susceptibles à cette hypovitaminose quel que soit l'étiologies.

ANNEXES

FICHE DE SANTE

Patient N° :

- ***Le sexe :***

Homme ☐ Femme ☐

-Tabagisme :

Oui ☐ non ☐

- enceinte :

oui ☐ ☐

- allaitement :

Oui ☐ non ☐

- L'âge : .....ans
- la taille : ...….....m
- poids : ….....kg
- tour de taille : ….....cm

• Régime alimentaire : (apport en viande)

- Végétarien(ne) : ☐

- moyenne de consommation de viande par semaine : ☐

• traitement contre :

- DIABETE : ☐

Type Ⅰ : ☐

type Ⅱ : ☐

L'âge de diabète : ☐

- Traitement :

Glucophage ☐

insuline ☐

Dose/jr

N.B :

…….....
...

- HTA :

- l'âge :

- Traitement :

N.B :

…….....
...

- ARYTHMIE :

- l'âge :

- Traitement :

N.B :

…….....
...

- HYPOTHYROIDIE :

- l'âge :

- Traitement :

N.B :

…….....
...

• Troubles gastro-intestinale :

• oui ☐ • non ☐

- AUTRES MALDIES :

N.B :

…….....

…….....

• Taux de la vitamine B12 : ☐

AUTRES PARAMETRES A DOSE :

…….....

…….....

…….....

…….....

Références bibliographiques :

1. Abbott Laboratories Abbott Park, IL 60064 USA et ABBOTT 65205 Wiesbaden, Germany Août 2010 © 2006, 2010 Abbott Laboratories.
2. Ahmed, M. A. (2016, October 25). Metformin and Vitamin B12 Deficiency: Where Do We Stand? *University of Pretoria, South Africa*, pp. 382 - 398.
3. Allen, L. H. Causes of vitamin B12 and folate deficiency. Food Nutr. Bull. 29 (Suppl. 2), S20–S34 (2008).)
4. Allen, L. H. Causes of vitamin B12 and folate deficiency. *Food Nutr. Bull.* **29** (Suppl. 2), S20–S34(2008).
5. Andre`s E, Affenberger S, Vinzio S, Noel E, Kaltenbach G, Schlienger J. Carences en vitamine B12 chez l'adulte : e´tiologies, manifestations cliniques et traitement. Rev Med Interne 2005;26:938–46) (] Koury MJ, Ponka P. New insights into erythropoiesis: the roles of folate, vitamin B12, and iron. Annu Rev Nutr 2004;24:105–31)
6. Andres E, Fothergill H, Mecili M. Efficacy of oral cobalamin (vitamin B12) therapy. Expert Opin Pharmacother 2010 Feb;11(2):249-256.
7. Andrès E, Loukili N, Noel E, et al: Vitamin B12 (cobalamin) deficiency in elderly patients. CMAJ 2004, 171:251–9.)
8. Andrès E, Loukili NH, Noel E, Kaltenbach G, Ben Abdelgheni M,Perrin AE, et al. Vitamin B12 (cobalamin) deficiency in elderly patients. CAMJ 2004;171:251–60.
9. Andres E, Serraj K: Optimal management of pernicious anemia. Journal of Blood Medicine 2012, 3:97–103.
10. Antony AC (2003) Vegetarianism and vitamin B12 deficiency.Am J Clin Nutr 78, 3–6
11. Arendt JFB, Nexo E. Cobalamin related parameters and disease patterns in patients with increased serum cobalamin
    levels. PLoS ONE 2012; 9:e45979.
12. Bae, S. *et al.* Vitamin B-12 status differs among pregnant, lactating, and control women with equivalent
    nutrient intakes. *J. Nutr.* **145**, 1507–1514 (2015).
13. Bailey, R. L. et al. Monitoring of vitamin B-12 nutritional status in the United States by using plasma methylmalonic acid and serum vitamin B-12.Am. J. Clin. Nutr. 94, 552–561 (2011).

14. Bailey, R. L. *et al.* Monitoring of vitamin B-12 nutritional status in the United States by using plasma methylmalonic acid and serum vitamin B-12. *Am. J. Clin. Nutr.* **94**, 552–561 (2011).
15. Battaglia-Hsu, S. F. *et al.* Vitamin B12 deficiency reduces proliferation and promotes differentiation of neuroblastoma cells and up-regulates PP2A,proNGF, and TACE. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **106**,21930–21935 (2009)
16. Battaglia-Hsu, S. F. *et al.* Vitamin B12 deficiency reduces proliferation and promotes differentiation of neuroblastoma cells and up-regulates PP2A,proNGF, and TACE. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **106**,21930–21935 (2009)
17. Bauman WA, Shaw S, Jayatilleke E, Spungen AM, Herbert V. Increased intake of calcium reverses vitamin B12 malabsorption induced by metformin.Diabetes Care 2000 Sep;23(9):1227-1231.
18. Berlin, H., Berlin, R. & Brante, G. Oral treatment of pernicious anemia with high doses of vitamin B12 without intrinsic factor. Acta Med. Scand. 184, 247–258 (1968).
19. Bor, M. V. et al. Daily intake of 4 to 7μg dietary vitamin B-12 is associated with steady concentrations of vitamin B-12-related biomarkers in a healthy young population. Am. J. Clin. Nutr. 91, 571–577 (2010)
20. Bottiglieri T, Laundy M, Crellin R: Homocysteine, folate, methylation, and monoamine metabolism in depression. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2000,69:228–32.)
21. Campana F, Sibaud V, Taieb A, Fricain JC. Manifestations buccales révélatrices d'un déficit en vitamine B12: à propos d'un
cas. Med Buccale Chir Buccale 2007;13:213-7.
22. Carmel R, Vasireddy H, Aurangzeb I, George K. High serum cobalamin levels in the clinical setting—clinical associations
and holo-transcobalamin changes. Clin Lab Haematol 2001; 23:365–71.
23. Carmel R. Biomarkers of cobalamin (vitamin B-12) status in the epidemiologic setting: a critical overview of context, applications, and performance characteristics of cobalamin, methylmalonic acid, and holotranscobalamin II. Am J Clin Nutr 2011; 94:348S-358S.
24. Carmel R. Biomarkers of cobalamin (vitamin B-12)status in the epidemiologic setting: a critical overview of context, applications, and performance characteristics of cobalamin, methylmalonic acid,and holotranscobalamin II. Am J Clin Nutr 2011Jul;94(1):348S-358S. .)
25. Carmel R. Current concepts in cobalamin deficiency. Annu Rev Med 2000;51:357–75.

26. Carmel R. Malabsorption of food cobalamin.Baillieres Clin Haematol 1995 Sep;8(3) :639-655.
27. Carmel, R. et al. Serum cobalamin, homocysteine,and methylmalonic acid concentrations in a multiethnic elderly population: ethnic and sex differences in cobalamin and metabolite abnormalities. Am. J. Clin. Nutr. 70, 904–910 (1999).
28. Carmel, R. et al. Serum cobalamin, homocysteine,and methylmalonic acid concentrations in a
multiethnic elderly population: ethnic and sex differences in cobalamin and metabolite abnormalities. Am. J. Clin. Nutr. 70, 904–910 (1999)
29. Carmel, R. How I treat cobalamin (vitamin B12) deficiency. Blood 112, 2214–2221 (2008).
30. Catherine F Hughes, Mary Ward et al.Vitamin B12 and ageing: current issues and interaction with folate, Ann Clin Biochem 2013,50:315.
31. Chen LH, Liu ML, Hwang HY, Chen LS, Korenberg J, Shane B. Human methionine synthase. cDNA cloning, gene localization, and expression. J Biol Chem 1997 Feb 7;272(6):3628-3634.
32. Chitambar CR, Antony AC. Nutritional aspects of haematological diseases. In: Modern nutrition in health and disease; 10th Ed.;Shils ME, Shike M, Ross AC et al, eds. Lippincott Williams & Wilkins 2006; pp. 1436-1461.
33. Daine, F. (2017, Avril 13). *Vitamine B12 ou cobalamine*. Récupéré sur https://www.doctissimo.fr/html/nutrition/vitamines_mineraux/vitamine_b12.htm
34. Davis Kibirige and Raymond Mwebaze et.al,Vitamin B12 deficiency among patients with diabetes mellitus: is routine screening and supplementation justified?, Journal of Diabetes & Metabolic Disorders 2013,12:17.
35. De-Jager J, Kooy A, Lehert P, et al: Long term treatment with metformin in patients with type 2 diabetes and risk of vitamin B-12 deficiency:randomised placebo controlled trial. BMJ 2010, 340:c2181.
36. Demir, N. *et al.* Clinical and neurological findings of severe vitamin B12 deficiency in infancy and importance of early diagnosis and treatment. *J. Paediatr. Child Health* **49**, 820–824 (2013).
37. Dharmarajan TS, Adiga GU, Norkus EP. Vitamin B12 deficiency. Recognizing subtle symptoms in older adults. Geriatr 2003;58:30–8

38. Dror, D. K. & Allen, L. H. Effect of vitamin B12 deficiency on neurodevelopment in infants: current knowledge and possible mechanisms. Nutr. Rev. 66,250–255 (2008).
39. Fedosov SN. Physiological and molecular aspects of cobalamin transport. Subcell Biochem. 2012;56:347–367
40. Gherasim C, Lofgren M, Banerjee R. Navigating the B(12) road :assimilation,delivery,and disorders of cobalamin. J Biol Chem 2013 May 10;288(19):13186 13193.
41. Gherasim C, Lofgren M, Banerjee R. Navigating the B(12) road :assimilation,delivery , and disorders of cobalamin. J Biol Chem 2013 May 10 ;288(19) :13186-13193.
42. Gherasim C, Lofgren M, Banerjee R. Navigating the B(12) road :assimilation,delivery,and disorders of cobalamin. J Biol Chem 2013 May 10;288(19):13186 13193.
43. Green R. Indicators for assessing folate and vitamin B-12 status and for monitoring the efficacy of intervention strategies. Am J Clin Nutr 2011; 94:666S-6672S.)
44. Green R., Allen L.H., Bjorke-Monsen A.L., Brito A., Gueant J.L., Miller J.W., Molloy A.M., Nexo E., Stabler S., Toh B.H., et al. Vitamin b12 deficiency. Nat. Rev. Dis. Primers. 2017;3:17040. doi: 10.1038/nrdp.2017.40.)
45. Green, R. & Miller, J. W. in *Handbook of Vitamins* 5th edn (eds Zempleni, J. *et al.*) 447–489 (Taylor & Francis, 2014).
46. Green, R. Vitamin B12 deficiency from the perspective of a practicing hematologist. Blood 129, 2603–2611(2017).
47. Green, R. Vitamin B12 deficiency from the perspective of a practicing hematologist. Blood 129, 2603–2611 (2017).
48. Green, R. et al. Absorption of biliary cobalamin in baboons following total gastrectomy. J. Lab. Clin. Med. 100, 771–777 (1982)
49. Greibe, E. *et al.* Cobalamin and haptocorrin in human milk and cobalamin-related variables in mother and child: a 9-mo longitudinal study. *Am. J. Clin. Nutr.* **98**,389–395 (2013).
50. Hathout L, El-Saden S. Nitrous oxide-induced B12 deficiency myelopathy: Perspectives on the clinical biochemistry of vitamin B12. J Neurol Sci 2011; 301:1-8.
51. Hvas, A. M. et al. The vitamin B12 absorption test, CobaSorb, identifies patients not requiring vitamin B12 injection therapy. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 71, 432–438 (2011).
52. Ili Margalit à FAIRE

53. Institute of Medicine (1998). "Vitamin B_{12}". *Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B_6, Folate, Vitamin B_{12}, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline*. Washington, DC: The National Academies Press. pp. 306–56. ISBN 978-0-309-06554-2. Retrieved February 7, 2012.
54. Jennifer Guillerme. Intérêt et évaluation, au CHU de Rouen, du dosage de la vitamine B12 active, comparaison avec la vitamine B12 totale. Médecine humaine et pathologie. 2019. ffdumas-02317699f
55. Johnson, M. A. et al. Vitamin B12 deficiency in African American and white octogenarians and centenarians in Georgia. J. Nutr. Health Aging 14, 339–345 (2010).
56. Jolien de Jager, Coen D A Stehouwer et al.Long term treatment with metformin in patients with type 2 diabetes and risk of vitamin B-12 deficiency: randomized placebo controlled trial, BMJ 2010;340:c2181.
57. Khan A, Shafiq I, Hassan shah M (August 18, 2017) Prevalence of Vitamin B12 Deficiency in Patients with
Type II Diabetes Mellitus on Metformin: A Study from Khyber Pakhtunkhwa. Cureus 9(8): e1577. DOI
10.7759/cureus.1577
58. Kim, H. I. et al. Oral vitamin B12 replacement: an effective treatment for vitamin B12 deficiency after total gastrectomy in gastric cancer patients. Ann. Surg. Oncol. 18, 3711–3717 (2011).
59. KW Liu, DLK Dai,et al. Metformin-associated vitamin B12 deficiency in the elderly: observational, cross-sectional study,Asian J Gerontol Geriatr 2011; 6: 82–7.)
60. KW Liu, DLK Dai,et al. Metformin-associated vitamin B12 deficiency in the elderly: observational, cross-sectional study,Asian J Gerontol Geriatr 2011; 6: 82–7.)
61. LAHRECHE I ; CHIHA K., 2016 - Incidence de diabète de type 2 comportement alimentaire glucidique et lipidique. Mémoire Master recherche : Biologie Cellulaire Physio et Physiopathologie. P1-2-7-8-9-10-19-53-54.
62. LAHRECHE I ; CHIHA K., 2016 - Incidence de diabète de type 2 comportement alimentaire glucidique et lipidique. Mémoire Master recherche : Biologie Cellulaire Physio et Physiopathologie. P1-2-7-8-9-10-19-53-54.
63. Lam, J. R. *et al.* Proton pump inhibitor and histamine 2 receptor antagonist use and vitamin B12 deficiency.
JAMA **310**, 2435–2442 (2013).

64. Leclerc D, Campeau E, Goyette P, Adjalla CE,Christensen B, Ross M, et al. Human methionine synthase: cDNA cloning and identification of mutations in patients of the cblG complementation group of folate/cobalamin disorders. Hum Mol Genet 1996 Dec;5(12):1867-1874.
65. Lindenbaum, J. et al. Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the absence of anemia or macrocytosis. N. Engl. J. Med. 318,1720–1728 (1988).
66. Liu Q, Li S, Quan H, Li J (2014) Vitamin B12 Status in Metformin Treated Patients: Systematic Review. PLOS ONE 9(6): e100379. doi:10.1371/journal.pone.0100379
67. Liu Q, Li S, Quan H, Li J (2014) Vitamin B12 Status in Metformin Treated Patients: Systematic Review. PLOS ONE 9(6): e100379. doi:10.1371/journal.pone.0100379
68. Malouf R, Areosa S: Vitamin B12 for cognition. Cochrane Database of Systematic Reviews 2003.
69. Manzanares W, Hardy, G. Vitamin B12: the forgotten micronutrient for critical care. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2010; 13:662-668.)
70. Manzanares W, Hardy, G. Vitamin B12: the forgotten micronutrient for critical care. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2010; 13:662-668.)
71. Mazokopakis, Ioannis K. Starakis et.al. Recommendation for diagnosis and management of metformin induced vitamin B12 (Cbl) deficiency. Diabetic research and clinical practice 97(2012) 359-367.
72. Michael J Shipton, J. T. (2015). Vitamin B12 deficiency – A 21st century perspective. pp. 145-150.
73. Monsen, A. L. *et al.* Cobalamin status and its biochemical markers methylmalonic acid and homocysteine in different age groups from 4 days to 19 years. *Clin. Chem.* **49**, 2067–2075 (2003).
74. Murphy, M. M. *et al.* Longitudinal study of the effect of pregnancy on maternal and fetal cobalamin status
in healthy women and their offspring. *J. Nutr.* **137**,1863–1867 (2007).
75. Nohr D, Biesalski HK, Back EI. Vitamin B12. Encyclopedia of Dairy Sciences. Oxford,UK, Elsevier; 2011:675–677 .
76. Nohr D, Biesalski HK, Back EI. Vitamin B12. Encyclopedia of Dairy Sciences. Oxford,UK, Elsevier; 2011:675–677.
77. Obeid R. The metabolic burden of methyl donor deficiency with focus on the betaine homocysteine methyltransferase pathway. Nutrients 2013 Sep 9;5(9):3481-3495.

78. Obeid, R., Fedosov, S. N. & Nexo, E. Cobalamin coenzyme forms are not likely to be superior to cyanoand hydroxyl-cobalamin in prevention or treatment of cobalamin deficiency. Mol. Nutr. Food Res. 59, 1364–1372 (2015).
79. Oberley MJ, Yang DT. Laboratory testing for cobalamin deficiency in megaloblastic anemia. Am J Hematol 2013; 88:522-526.
80. Oh R, Brown D: Vitamin B12 Deficiency. Am Fam Physician 2003, 67:979–86.
81. Pennypacker, L. C. et al. High prevalence of cobalamin deficiency in elderly outpatients. J. Am. Geriatr. Soc. 40, 1197–1204 (1992).
82. Pétavy-Catala C, Fontès V, Gironet N, Huttenberger B, Lorette G,Vaillant L. Signes buccaux révélateurs d'une carence en vitamineB12 avant l'apparition d'une anémie. Ann Dermatol Venereol2003;130:191-4.
83. Qureshi S, Ainsworth A, Winocour P: Metformin therapy and assessment for vitamin B12 deficiency: is it necessary? Practical Diabetes 2011, 28:302–4.
84. Reinstatler L, Qi Y, Williamson R, Garn J, Oakley-Jr G: Association of Biochemical B12 Deficiency With Metformin Therapy and Vitamin B12 Supplements. The National Health and Nutrition Examination Survey,1999–2006. Diabetes Care 2012, 35:327–33.
85. Reygagne P, Kuffer R, Rybojad M, Dallot A, Vérola O, Brocheriou C. Maladie de Biermer révélée par des manifestations buccales et génitales. Ann Dermatol Venereol 1988;115:821-5.
86. Robert C.Langan, Kimberly J.Zamistoski et al.Update on vitamin B 12 deficiency, Am Fam Physicain 2011 june 15; 83(22):1425-1430.
87. Rosenblatt, D. S. & Whitehead, V. M. Cobalamin and folate deficiency: acquired and hereditary disorders in children. Semin. Hematol. 36, 19–34 (1999).
88. Scalabrino, G. The multi-faceted basis of vitamin B12(cobalamin) neurotrophism in adult central nervous system: lessons learned from its deficiency.*Prog. Neurobiol.* **88**, 203–220 (2009).
89. Schjønsby H. Vitamin B12 absorption and malabsorption. Gut 1989;30(12):1686-1691.
90. Shane B, Stokstad ELR. 1985. Vitamin B12-folate interrelationships. Annu. Rev. Nutr. 5:115–41)
91. Sharma, G. S., Kumar, T. & Singh, L. R.*N*-homocysteinylation induces different structural and functional consequences on acidic and basic proteins.*PLoS ONE* **9**, e116386 (2014).
92. Stabler, S. P. Clinical practice. Vitamin B12 deficiency.N. Engl. J. Med. 368, 149–160 (2013).

93. Stabler, S. P., Lindenbaum, J. & Allen, R. H.Vitamin B-12 deficiency in the elderly: current dilemmas. Am. J. Clin. Nutr. 66, 741–749 (1997)
94. Stabler, S. P. Vitamin B12 deficiency. N. Engl. J. Med. 368, 2041–2042 (2013)
95. Toh, B. H., van Driel, I. R. & Gleeson, P. A. Pernicious anemia. N. Engl. J. Med. 337, 1441–1448 (1997).
Lee GR, Herbert V. Pernicious anemia. In: Lee GR, Foerster J,Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM, editors. Wintrobe's Clinical Hematology, 10th Ed. Philadelphia, PA: Williams & Wilkins;1999. p. 941–78.
96. Torsvik, I. *et al.* Cobalamin supplementation improves motor development and regurgitations in infants: results from a randomized intervention study.*Am. J. Clin. Nutr.* **98**, 1233–1240 (2013).
97. Tucker, K. L. *et al.* Plasma vitamin B-12 concentrations relate to intake source in the Framingham Offspring
study. *Am. J. Clin. Nutr.* **71**, 514–522 (2000).
98. Tucker, K. L. et al. Plasma vitamin B-12 concentrations relate to intake source in the Framingham Offspring study. Am. J. Clin. Nutr. 71, 514–522 (2000).
99. Watine et al. ABC 2002 ;60:238-240.
100. Wheatley C. A scarlet pimpernel for the resolution of inflammation? The role of supra-therapeutic doses of cobalamin,in the treatment of systemic inflammatory response syndrome (SIRS), sepsis, severe sepsis, and septic or traumatic shock. Med Hypotheses 2006; 67:124-142.